Povezanost polimorfizama gena za serotoninske 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT2A, 5-HT2C I 5-HT6 receptore u oboljelih od shizofrenije i akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava antipsihotika haloperidola

Grubor, Mirko

Doctoral thesis / Disertacija

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:144566

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb



Sveučilište u Zagrebu

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

MIRKO GRUBOR

POVEZANOST POLIMORFIZAMA GENA ZA SEROTONINSKE 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT2A, 5-HT2C I 5-HT6 RECEPTORE U OBOLJELIH OD SHIZOFRENIJE I AKUTNIH EKSTRAPIRAMIDALNIH NUSPOJAVA ANTIPSIHOTIKA HALOPERIDOLA

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2020.



Sveučilište u Zagrebu

FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

MIRKO GRUBOR

THE ASSOCIATION BETWEEN SEROTONIN RECEPTOR 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT2A, 5-HT2C AND 5-HT6 GENE POLYMORPHISMS AND ACUTE EXTRAPYRAMIDAL SIDE EFFECTS IN HALOPERIDOL-TREATED PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

DOCTORAL DISSERTATION

Zagreb, 2020.

Sveučilište u Zagrebu

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

MIRKO GRUBOR

POVEZANOST POLIMORFIZAMA GENA ZA SEROTONINSKE 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT2A, 5-HT2C I 5-HT6 RECEPTORE U OBOLJELIH OD SHIZOFRENIJE I AKUTNIH EKSTRAPIRAMIDALNIH NUSPOJAVA ANTIPSIHOTIKA HALOPERIDOLA

DOKTORSKI RAD

Mentori:
Doc. dr. sc. Dubravka Švob Štrac, viša znanstvena suradnica
Izv. prof. dr. sc. Lidija Bach-Rojecky

Zagreb, 2020.



University of Zagreb

FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

MIRKO GRUBOR

THE ASSOCIATION BETWEEN SEROTONIN RECEPTOR 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT2A, 5-HT2C AND 5-HT6 GENE POLYMORPHISMS AND ACUTE EXTRAPYRAMIDAL SIDE EFFECTS IN HALOPERIDOL-TREATED PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor(s):
Assistant professor Dubravka Švob Štrac, PhD, Senior Research Associate
Associate professor Lidija Bach-Rojecky, PhD

Zagreb, 2020.

Rad je predan na ocjenu Fakultetskom vijeću Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja akademskog stupnja doktora znanosti iz područja biomedicine i zdravstva, polje farmacija, grana farmacija

Ovaj je doktorski rad izrađen pod voditeljstvom doc. dr. sc. Dubravke Švob Štrac i suvoditeljstvom izv. prof. dr. sc. Lidije Bach-Rojecky, u sklopu Sveučilišnoga poslijediplomskog doktorskog studija Farmaceutsko-biokemijske znanosti pri Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu

Želim izraziti veliku zahvalnost svojoj mentiorici doc. dr. sc. Dubravki Švob Štrac na usmjeravanju u znanstveno-istraživačkom radu, na podršci i poticaju, te velikom razumijevanju i strpljenju tijekom izrade ovog doktorskog rada.

Iskreno se zahvaljujem i mentorici izv. prof. dr. sc. Lidiji Bach-Rojecky, na nesebičnoj podršci, izrazito korisnim savjetima i povjerenju.

Također, iskreno se zahvaljujem dr.sc. Maji Živković na probiru i kliničkoj procjeni bolesnika, te nesebičnom dijeljenju prikupljenih podataka bez kojih ovaj rad ne bi bio moguć.

Posebno se zahvaljujem svojoj supruzi Martini na poticaju u ključnim trenucima, ogromnom strpljenju, vjeri u mene, te svesrdnoj podršci i ljubavi. Hvala!

SAŽETAK

Uvod: Shizofrenija je ozbiljan kronični psihijatrijski poremećaj koji zahtijeva cjeloživotno liječenje. Ekstrapiramidalne nuspojave (engl. *extrapyramidal side effects*, EPS) dobro su poznate i uobičajene nuspojave antipsihotičkih lijekova prvenstveno prve generacije koji se koriste u liječenju shizofrenije. Uz dopaminergički sustav, u razvoj ekstrapiramidalnih nuspojava mogu biti uključeni i serotonergički mehanizmi putem serotoninskih (5-HT) receptora. Stoga je cilj studije bio istražiti povezanost polimorfizama gena *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C* i *HTR6* s akutnim ekstrapiramidalnim nuspojavama kod 229 muških bolesnika sa shizofrenijom nakon dvotjedne monoterapije haloperidolom.

Metode: Simpson Angusova ljestvica za ekstrapiramidalne nuspojave (SAS), Barnesova ljestvica za akatiziju (BARS) i Ljestvica za ocjenu ekstrapiramidalnih simptoma (ESRS) korištene su za procjenu ozbiljnosti ekstrapiramidalnih nuspojava u bolesnika s dijagnozom shizofrenije prema kriterijima DSM-IV (engl. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th edition*). Genotipizacija je provedena primjenom lančane reakcije polimerazom (engl. *polymerase chain reaction*, PCR) u stvarnom vremenu, nakon izolacije DNA iz krvi.

Rezultati: Značajne akutne ekstrapiramidalne nuspojave pojavile su se kod 48,03 % bolesnika sa shizofrenijom. Nositelji TT genotipa *HTR1B* rs13212041 polimorfizma imali su značajno viši ukupan i pojedinačan broj bodova na BARS ocjenskoj ljestvici koja evaluira akatiziju u usporedbi s nositeljima CT genotipa i C alela. Primjenom SAS, BARS i ESRS ocjenskih ljestvica utvrđeno je da, u usporedbi s nositeljima CT genotipa i C alela, nositelji TT genotipa *HTR1B* rs13212041 polimorfizma učestalije i u težem obliku razvijaju simptome akatizije nakon terapije haloperidolom. Također su primjećene značajne razlike između nositelja CC i CT genotipova *HTR2A* rs6313 polimorfizma u broju ESRS bodova za rigidnost, te između nositelja CC i TT genotipova *HTR6* rs1805054 polimorfizma u broju SAS i ESRS bodova za tremor. U slučaju *HTR2C* gena, rs3813929-rs518147 haplotip TG bio je značajno češći u bolesnika bez akutnih EPS-ova nego u bolesnika koji su razvili akutne EPS-ove nakon terapije haloperidolom.

Zaključak: Dobiveni rezultati upućuju na genotipsku odnosno haplotipsku povezanost pojedinih polimorfizama *HTR1B, HTR2A, HTR2C* i *HTR6* gena sa akutnim EPS-ovima izazvanim primjenom antipsihotika haloperidola u oboljelih od shizofrenije.

Ključne riječi: shizofrenija; haloperidol; akutne ekstrapiramidalne nuspojave, serotoninski receptori; polimorfizmi; *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C* i *HTR6* geni

SUMMARY

Background: Schizophrenia is a serious chronic psychiatric disorder requiring lifelong treatment. Haloperidol, highly effective first-generation antipsychotic (FGA), is one of the most prescribed antipsychotics, used in treatment of schizophrenia. Due to its very strong antagonistic activity on dopamine D_2 receptors of the mesolimbic dopamine pathway, haloperidol acts as a very potent antipsychotic agent. However, like other FGAs, it is also associated with the development of both acute and long-term extrapyramidal side effects (EPS), possibly due to blockade of the D_2 receptor in the nigrostriatal pathway. EPS are well-known and common adverse drug reactions of antipsychotics. They include acute EPS such as akathisia, acute dystonia and parkinsonism, as well as late-onset EPS such as tardive dyskinesia. These serious and debilitating side effects often lead to reduction of patient compliance or even discontinuation of therapy and can present major therapeutic limitations. Predictors of EPS include type of antipsychotic drug, longer treatment durations, higher dosage, younger age, male gender, psychiatric diagnoses such as mood disorder, and previous EPS history. More recently, genetic factors have also been considered, including those related to the metabolism of antipsychotic drugs and free radical scavenging, as well as variants in genes coding for various components of the dopaminergic system. Assorted data also suggest an important role of serotonergic neurons and various serotonin receptors in the modulation of dopaminergic function, and consequently development of EPS following treatment with antipsychotic drugs. It is possible that molecular determinants of the serotonergic system contribute to the inter-individual differences in development of EPS following treatment with FGAs. Several studies have reported significant associations between serotonin receptor gene polymorphisms and the risk of developing EPS. Most of these studies have, however, focused on tardive dyskinesia, and only a few investigated development of acute EPS. Therefore, the aim of this study was to investigate potential relationship of several polymorphisms located in the *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C* and *HTR6* genes, which code for corresponding serotonin receptors, with the development of acute EPS, following haloperidol monotherapy. These genetic variants might be clinically useful as pharmacogenetic markers for prediction of the occurrence of acute EPS among patients treated with antipsychotic drugs, as well as for tailoring future genotype-based personalized drug treatments in order to help minimize EPS.

Materials and Methods: The study enrolled 229 male patients with schizophrenia recruited from the Psychiatric Hospital Popovaca Croatia. All participants were Caucasians living in Croatia. The subjects were all admitted to the hospital due to acute schizophrenia exacerbation.

The diagnosis of schizophrenia was made based on the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV) criteria. The severity of schizophrenia symptoms was evaluated by experienced psychiatrists using the Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS). All of the patients enrolled had been without previous antipsychotic medication for at least 48 hours. Most of the subjects had not taken antipsychotics for several months and some of them were drug naïve. Patients were treated with haloperidol (15 mg/day, orally or intramuscularly) for two weeks, and adjuvant diazepam therapy (40 mg daily) was introduced in the case of agitation, insomnia and anxiety. Simpson Angus Rating Scale for Extrapyramidal Side Effects (SAS), Barnes Akathisia Rating Scale (BARS) and Extrapyramidal Symptom Rating Scale (ESRS) were used to evaluate the EPS severity. The following items were excluded from the ESRS scale: from part I "Parkinsonism, Dystonia, Dyskinesia and Akathisia-Questionnaire and Behavioral Scale item 10 (Abnormal involuntary movements (dyskinesia) of extremities or trunk) and item 11 (Abnormal involuntary movements (dyskinesia) of tongue, jaw, lips or face); from part III "Dystonia: Physician´s examination": item 2 (Non-acute or chronic or tardive dystonia); all of part IV "Dyskinetic movements: Physician´s examination" and of part V "Clinical global impression of severity of Dyskinesia", because they evaluate chronic and not acute EPS. Patients were subdivided into group with significant acute EPS (SAS score > 3) and without significant acute EPS (SAS score ≤ 3) following haloperidol monotherapy. This study was approved by the ethics committee of the Psychiatric Hospital Popovaca and was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki, 1996. Only patients who provided signed informed consent were included in the study. Samples of blood (4 mL) from patients with schizophrenia were collected using a plastic syringe containing 1 mL anticoagulant (acid citrate dextrose). Genomic DNA was isolated from peripheral blood leukocytes by a standard salting out method. Genotyping was performed according to the manufacturer's protocol (Applied Biosystems), using TaqMan allele-specific polymerase chain reaction (PCR). Briefly, 20 ng of genomic DNA was amplified in a 10 μL reaction volume, using these PCR reaction conditions: 40 cycles at 92 °C for 15 seconds and 60 °C for 60 seconds. The *HTR1A* rs6295, *HTR1B* rs13212041, *HTR2A* rs6313, *HTR2C* rs3813929 and *HTR6* rs1805054 polymorphisms were analysed. Statistical analyses were performed with GraphPad Prism version 4.00 for Windows. Since normality of data failed, Mann Whitney U test or Kruskal-Wallis test with post-hoc Dunn's multiple comparison test were used. Possible deviations from HWE were tested using the goodness of fit $\chi 2$-test. Genotype and allele frequencies were evaluated by a $\chi 2$-test or Fisher exact test. The programs "Haploview version 4.2" and "PLINK 1.90 beta" were used for haplotype analysis. G*Power 3 Software was used

for conducting power analyses, i.e., to determine a priori sample size and to post hoc compute the power achieved.

Results: A mean age of enrolled patients was 36.49 ± 10.40 years old. Most of the schizophrenia patients had graduated from high school, were unemployed or retired, as well as being either single or divorced and without children. They were also mostly overweight, with a mean BMI of 26.54 ± 9.18. A relatively high proportion of patients were smokers and drank alcohol, while a significant number of patients had previously consumed one or more illegal psychoactive substances. A considerable number of the patients had also previously attempted suicide. Most of the schizophrenia patients previously received antipsychotic therapy (89.52 %), usually a combination of typical and atypical antipsychotics (69.00 %), whereas a smaller number of the subjects enrolled were drug naïve (10.48 %). A majority of the patients previously met the criteria for complete or partial disease remission, whereas 13.10 % of them were considered to be treatment-resistant. As demonstrated by their high baseline positive, negative, general psychopathology and total PANSS scores, all subjects were admitted to the hospital due to acute exacerbation of schizophrenia and subsequently treated with haloperidol. The 66.81 % of the schizophrenia patients reported some kind of EPS, and in those patients acute EPS usually developed on the 5th day of haloperidol monotherapy. Significant acute EPS appeared in 48,03 % of patients with schizophrenia. The most common acute EPSs were parkinsonism, bradykinesia, balance and posture disorders and rigidity. The frequency of akathisia, characterized by feeling of inner restlessness and inability to stay still was 23-25 %. The genotype distributions in schizophrenia patients for all of the serotonin receptor gene polymorphisms tested in the study were in Hardy–Weinberg equilibrium (HWE). No significant difference in the genotype and allele distribution was found between patients with schizophrenia who developed and did not develop significant acute EPS for any of the studied polymorphisms. When we compared SAS, BARS and ESRS total scores in schizophrenia patients carrying different genotypes or alleles of 5-HT receptor gene polymorphisms, we observed that for *HTR1B* rs13212041 polymorphism, carriers of the TT genotype had significantly higher total and individual scores on the BARS scale evaluating akathisia compared to the carriers of the CT genotype and C allele. SAS, BARS and ESRS scales revealed that, in comparison to the carriers of CT genotype and C allele, carriers of *HTR1B* TT genotype are more prone to develop akathisia and experience higher akathisia severity following haloperidol therapy. Significant differences were also observed between carriers of CC and CT genotypes of *HTR2A* rs6313 polymorphism in the number of ESRS scores for rigidity, and between carriers of CC and TT genotypes of *HTR6* rs1805054 polymorphism in the number of

SAS and ESRS scores for tremor. For *HTR1A* gene polymorphisms, as well as for *HTR2C* gene polymorphisms, a high degree of LD (Linkage Disequilibrium) was found, suggesting that these polymorphisms are likely to be inherited together in a block. Haplotype analysis revealed that *HTR2C* rs3813929-rs518147 TG haplotype was significantly more frequent in patients without acute EPS than in patients who developed acute EPS after haloperidol therapy.

Discussion: The obtained results are consistent with the literature data demonstrating an association of *HTR2A* and *HTR2C* gene polymorphisms with acute EPS induced by antipsychotics, but as far as we know, this is the first study to suggest a possible role for *HTR1B* and *HTR6* gene variants in development of EPS. These findings confirm the close link between molecular events affecting the serotonergic system of a patient and their genetic susceptibility to develop antipsychotic-induced EPS. As rs13212041 polymorphism affects microRNA regulation of *HTR1B* gene expression, these data might also suggest the role of epigenetic mechanisms in the serotonergic modulation associated with antipsychotic-induced EPS. In addition to appropriate sample size and statistical power, a significant advantage of present study is that it involved an ethnically homogenous group of middle-aged male schizophrenia patients in the acute episode of illness. However, further studies including larger number of subjects should test a wider range of antipsychotics for observed associations and compare male and female schizophrenia patients.

Conclusion: Our study suggest the genotypic and haplotypic association of selected polymorphisms in *HTR1B, HTR2A, HTR2C* and *HTR6* genes with acute EPS induced by the treatment with antipsychotic haloperidol in patients with schizophrenia. If confirmed, such pharmacogenetic predictors of EPS could be helpful in better selection of medication and reduction of EPS, resulting in better patient compliance and quality of life. For schizophrenia patients for whom haloperidol remains an important treatment option, 5-HT_{1B} receptor agonists might be useful therapeutic approach for management of akathisia.

Key words: schizophrenia; haloperidol; acute extrapyramidal side effects, serotonin receptors; polymorphisms; *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C* and *HTR6* genes

SADRŽAJ

1 UVOD 1
1.1 Definicija shizofrenije 2
1.2 Epidemiologija shizofrenije 3
1.3 Kliničke značajke shizofrenije 4
1.3.1 Simptomi shizofrenije 5
1.4 Dijagnoza shizofrenije 11
1.5 Etiologija bolesti 13
1.5.1 Genetski i epigenetski čimbenici 13
1.5.2 Trudnoća i komplikacije pri porodu 15
1.5.3 Neurorazvojni čimbenici 18
1.5.4 Neurotransmitori 20
1.6 Liječenje shizofrenije 46
1.6.1 Tipični antipsihotici (antipsihotici prve generacije) 47
1.6.2 Atipični antipsihotici (antipsihotici druge generacije) 51
1.6.3 Antipsihotici treće generacije 53
1.6.4 Nuspojave primjene antipsihotika 56
1.6.5 Farmakogenetika u psihijatrijskom liječenju 61
2 HIPOTEZA RADA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA 74
3 MATERIJALI I METODE 77
3.1 Ispitanici 78
3.2 Uzorci 79
3.3 Izolacija DNA iz krvi metodom isoljavanja 79
3.4 Određivanje genotipa metodom lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (Real-Time PCR) 81
3.5 Obrada podataka 88
4 REZULTATI 89
4.1 Sociodemografske i kliničke značajke ispitanika 90
4.2 Akutne ekstrapiramidalne nuspojave 93
4.3 Raspodjela genotipova i alela genskih polimorfizama u ukupnom uzroku bolesnika sa shizofrenijom 96

4.4 Raspodjela genotipova i alela genskih polimorfizama i razvoj značajnih akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava bolesnika 98

4.5 Raspodjela genotipova i alela genskih polimorfizama i ukupni bodovi SAS, BARS i ESRS ocjenskih ljestvica bolesnika 100

4.6 Raspodjela genotipova ili alela genskih polimorfizama i bodovi na pojedinim točkama SAS, BARS i ESRS ocjenskih ljestvica bolesnika 104

4.6.1 *HTR1A* rs6295 polimorfizam 104
4.6.2 *HTR1A* rs878567 polimorfizam 107
4.6.3 *HTR1B* rs13212041 polimorfizam 109
4.6.4 *HTR2A* rs6313 polimorfizam 113
4.6.5 *HTR2A* rs6314 polimorfizam 116
4.6.6 *HTR2C* rs3813929 polimorfizam 119
4.6.7 *HTR2C* rs518147 polimorfizam 122
4.6.8 *HTR6* rs1805054 polimorfizam 124

4.7 Raspodjela haplotipova genskih polimorfizama i razvoj značajnih akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava bolesnika 128

4.7.1 Raspodjela haplotipova *HTR1A* rs6295 i rs878567 polimorfizama 128
4.7.2 Raspodjela haplotipova *HTR2A* rs6314 i rs6313 polimorfizama 129
4.7.3 Raspodjela haplotipova *HTR2C* rs3813929 i rs518147 polimorfizama 130

5 RASPRAVA 132
6 ZAKLJUČCI 148
7 POPIS LITERATURE 152
8 POPIS KRATICA 196
9 ŽIVOTOPIS 200
10 PRILOG 204

1 UVOD

1.1 Definicija shizofrenije

Definicija shizofrenije mijenjala se kroz desetljeća, no u konačnici, shizofrenija je definirana kao kronični psihijatrijski poremećaj karakteriziran poremećajima u mišljenju, percepciji, osjećajima, govoru, motivaciji, samosvijesti i ponašanju (1). To je bolest sa širokim spektrom simptoma i vrlo kompleksnom etiologijom koja još uvijek nije u potpunosti razjašnjena. Shizofrenija ne utječe samo na mentalno zdravlje nego je također povezana s povećanim mortalitetom, i to s dvostrukim ili trostrukim povećanjem rizika od smrti u usporedbi s ostalom populacijom, s time da se u posljednjim desetljećima ta razlika povećava (2). Simptomi se uobičajeno pojavljuju u ranijoj odrasloj dobi i općenito dovode do značajne socijalne i profesionalne disfunkcije (3).

Shizofrenija je prepoznata i zabilježena već u ranoj grčkoj i hebrejskoj literaturi te su tijekom raznih povijesnih razdoblja oboljeli od shizofrenije smatrani prorocima, vidjelicama, pa čak i manifestacijama vragova ili svetaca, dok su rijetko bili smatrani oboljelima (4). Prekretnica u razumijevanju i definiciji shizofrenije dogodila se krajem 19. stoljeća kada je njemački psihijatar Emil Kraepelin uveo naziv „*dementia praecox*“ izveden iz latinskih riječi „*praecox*“ što znači rani početak bolesti, i „*dementia*“ što znači intelektualno propadanje (5). Na taj način objedinio je razne pojmove kao što su hebefrenija, katatonija i „*adolescentsko ludilo*“ naglasivši kako u podlozi bolesti nazvane „*dementia praecox*“ postoji jedinstveni osnovni poremećaj koji u konačnici rezultira raznim oblicima bolesti (6).

Eugen Bleuler značajno mijenja Kraepelinov koncept kombinirajući riječi „*schizo*“ što znači podijeliti i „*phrenos*“ što znači razum ili duša te predlaže termin „*shizofrenija*“ umjesto „*dementia praecox*“ kako bi istaknuo da su glavne značajke bolesti poremećaji različitih psihičkih funkcija kao što su mišljenje, osobnost, pamćenje i percepcija stvarnosti (5, 6). Bleuler tvrdi da shizofrenija nije jedinstvena bolest, već se sastoji od grupe bolesti i razdvaja simptome na temeljne kao što su ambivalencija, poremećaji mišljenja, asocijacija, govora i afekta te autizam i na dodatne simptome u koje spadaju halucinacije i sumanutosti. Kasnije, 1970-ih britanski psihijatar Tim Crow uvodi klasifikaciju simptoma koja se zadržala do danas podjelivši simptome na pozitivne koji obuhvaćaju halucinacije, sumanutosti te na negativne koji obuhvaćaju socijalno povlačenje, gubitak volje i motivacije, siromaštvo govora i ravnodušnost (6).

1.2 Epidemiologija shizofrenije

Shizofrenija je kronični psihijatrijski poremećaj koji pogađa otprilike 1 % svjetske populacije (7) i smatra se jednim od najtajanstvenijih, ali i najskupljih psihijatrijskih poremećaja u vidu ljudske patnje i društvenih izdataka (8). Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, više od 21 milijun osoba boluje od shizofrenije (9). Smatra se da je shizofrenija odgovorna za 1,5-3 % svih troškova zdravstvenih sustava razvijenih zemalja (6). U Europi prema podacima za 2010. godinu, 5 milijuna osoba boluje od psihičkih poremećaja, uključujući shizofreniju. Bolest se u 98 % slučajeva pojavljuje prije 40-te godine života i to nešto češće u muškaraca nego u žena (10), odnosno omjer oboljelih muškaraca spram oboljelih žena je 1,4:1 (11), s tim da muškarci oboljevaju nešto ranije (muškarci u dobi između 15. i 24. godine života, a žene od 25. do 34. godine života) (12).

Prema podacima iz 2017. godine u Hrvatskoj je registrirano otprilike 38.000 hospitalizacija zbog mentalnih poremećaja (uključujući i shizofreniju), a najveći broj tih hospitalizacija bio je u bolesnika u dobi od 20 do 59 godina (13). U dobi od 20 do 39 godina otprilike je dvostruko više hospitalizacija muškaraca, a glavni uzroci su shizofrenija, mentalni poremećaji uzrokovani alkoholom, akutni i prolazni psihotični poremećaji, nespecificirana psihoza te specifični poremećaji ličnosti (13). Stopa hospitalizacije zbog shizofrenije u Hrvatskoj je u padu od 2004. godine, te je u 2017. godini bilo 5.751 hospitalizacija, dok je prosječno trajanje liječenja trajalo 42,8 dana. Također, stopa hospitalizacije veća je u Hrvatskoj za muškarce nego za žene (13).

1.3 Kliničke značajke shizofrenije

Još od začetka koncepta shizofrenije prije više od stoljeća, heterogenost shizofrenije objašnjavana je kroz klasifikaciju u nekoliko podtipova (1, 14):

- **Paranoidna** – prevladavajuća prisutnost deluzija i halucinacija u kontekstu relativno očuvanih kognitivnih funkcija
- **Hebefrena** – prevladavajuća prisutnost nesuvislog govora i ponašanja, ravnodušnost i neprikladni odgovori na podražaje iz okoline
- **Katatona** – karakterizirana psihomotornim poremećajima koji uključuju motoričku nepokretnost kao što je katalepsija ili stupor, prekomjerna beznačajna motorička aktivnost, nijemost
- **Nediferencirana** – karakterizirana prisustvom miješanih klasičnih pozitivnih i negativnih simptoma, a kliničkom slikom ne dominira niti jedan od ostalih podtipova shizofrenije
- **Rezidualna** – karakterizirana prisustvom bar jedne epizode shizofrenije u prošlosti, no trenutna klinička slika je bez prevladavajućih pozitivnih simptoma, ali uz kontinuirano prisustvo negativnih simpotoma

No, iako se takva klasifikacija zadržala tijekom vremena, mnoga istraživanja dovela su u pitanje kontinuiranu upotrebu klasičnih podtipova (1). Pregled 24 publikacije koja opisuje 38 analiza i 28 kohorta ne podupire takvu podjelu u klasične podtipove shizofrenije (1, 15).

To je dovelo do zaključka da klasični podtipovi shizofrenije slabo opisuju heterogenost shizofrenije, imaju malu dijagnostičku svrhu, ne pružaju mogućnost ujednačene raspodjele prema podtipovima te su zbog toga uklonjeni iz najnovije verzije DSM-V (1). U suprotnosti s podjelom u podtipove, uporaba psihopatoloških dimenzija u DSM-V trebala bi značajno unaprijediti mogućnost opisa heterogenosti shizofrenije na način koji će biti od većeg kliničkog značaja (1, 16).

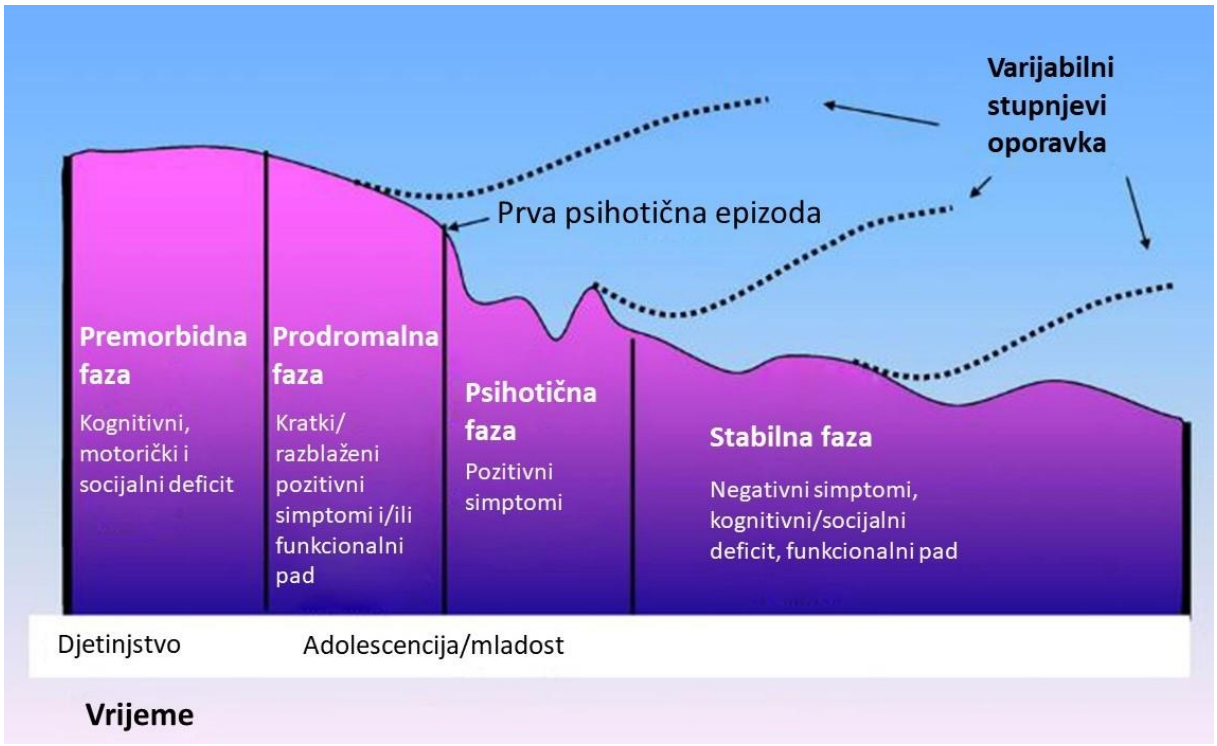
Značajan napredak u shvaćanju i liječenju shizofrenije ovisi o daljnjem otkrivanju i razumijevanju neuralnih mehanizama pojedinih elemenata bolesti kao što je psihoza. Takvo razumijevanje potrebno je za razvoj novih lijekova i otkrivanje novih terapijskih ciljeva (17).

1.3.1 Simptomi shizofrenije

Shizofreniju je u početku često teško prepoznati jer se radi o kroničnoj bolesti s izmjenama akutnih faza i faza sa slabo izraženim simptomima ili čak s odsutstvom simptoma koji se pak pojavljuju u različitim oblicima s različitim obilježjima (18). Sama pojava psihoze ne može se definirati kao početak shizofrenije, jer se biološke promjene pojavljuju i razvijaju puno prije pojave simptoma. Shizofreniju je bolje okarakterizirati kao bolest koja ima premorbidnu, prodromalnu, akutnu i kroničnu fazu. Premorbidna faza karakterizirana je periodom stabilnih socijalnih i kognitivnih deficita uz blage neuroške abnormalnosti koje se pojavljuju puno prije psihoza. Prodromalna faza definirana je pogoršanjem pozitivnih i negativnih simptoma, a akutna faza je karakterizirana ponovljenim egzacerbacijama i remisijama psihotičkih simptoma, nakon koje bolesnik ulazi u kroničnu fazu (19).

Simptomi shizofrenije su raznovrsni te podijeljeni u 5 glavnih kategorija (8, 20):

- **Pozitivni simptomi** – koji uključuju halucinacije i sumanutosti, nesuvisli govor i dezorganizirano ponašanje. Nazivaju se pozitivnim simptomima, jer su dodatak ili poremećaj normalnih funkcija.
- **Negativni simptomi** – promjene u nagonu i volji poput niske motivacije i socijalnog povlačenja, siromaštvo ili potpuni nedostatak govora, smanjeni i ograničeni raspon izražavanja osjećaja odnosno ravnodušnost. Nazivaju se negativnima, jer predstavljaju manjak ili umanjenje normalnih, zdravih funkcija.
- **Kognitivni simptomi** – spoznajne promjene karakterizirane nedostatkom koncentracije, pažnje, slabim pamćenjem i demencijom.
- **Afektivni simptomi** – poremećaji raspoloženja koji se mogu podijeliti na depresivne i manične simptome.
- **Agresivni simptomi –** pojavljuju se kod oboljelih od shizofrenije kao posljedica neugodnih halucinacija zapovjednog karaktera ili sumanutih ideja. Mogu biti povezani i manifestirati se zbog intoksikacije alkoholom ili drogama.



Slika 1. Evolucija shizofrenije s fazama bolesti. Preuzeto i prilagođeno iz rada Tandon i sur. (2009). (21)

Pozitivni simptomi

Halucinacije su definirane kao lažne percepcije koje nisu uzrokovane vanjskim stimulusom te se ne mogu razlikovati od stvarne percepcije i ne mogu se svjesno promijeniti. Halucinacije u shizofreniji mogu pogoditi bilo koje osjetilo, no najčešće se radi o auditornim halucinacijama u obliku glasova koje se javljaju u 60-70 % bolesnika sa shizofrenijom (22). Halucinacije također mogu biti i vizualne - kada bolesnik vjeruje da vidi nešto što nitko drugi ne vidi; taktilne – kada bolesnik osjeća nešto poput trnaca ili elektriciteta; olfaktorne – u kojima bolesnik osjeti mirise koje nitko drugi ne osjeti; te rijetko, gustatorne halucinacije – u kojima bolesnik osjeća okuse koje nitko drugi ne osjeća (23). Ni jedna vrsta halucinacija nije tipična samo za shizofreniju, te su trajanje i intenzitet halucinacija možda najvažniji čimbenici u postavljanju dijagnoze (22).

S druge strane, sumanutosti su čvrsta, pogrešna osobna uvjerenja unatoč svim dokazima koji upućuju na suprotno. Takva uvjerenja su van okvira bolesnikove normalne kulture ili supkulture i dominiraju njegovim stajalištima i ponašanjem (22). Sumanutosti se mogu podijeliti na (5, 22-24):

- Sumanutosti progoniteljskog tipa
  - Bolesnik vjeruje da ga netko ili nešto pokušava ozlijediti npr. "*Otrovali su me*"
- Sumanutosti erotomanskog tipa
  - Bolesnik vjeruje da je neka druga osoba zaljubljena u njega
- Sumanutosti ljubomornog tipa
  - Pogrešno vjerovanje bolesnika da je njegov partner nevjeran
- Sumanutosti grandioznog tipa
  - Bolesnik ima izrazito pretjeran osjećaj važnosti, identiteta, znanja ili utjecaja
- Sumanutosti nihilističkog tipa (Cotardov sindrom)
  - Bolesnik vjeruje da on ili svi drugi ili čak čitav svijet ne postoji ili da vanjska stvarnost ne postoji
- Sumanutosti odnosa
  - Bolesnik vjeruje da netko ili nešto odašilje posebnu poruku samo za njega, poput voditelja na TV programu
- Sumanutosti kontrole
  - Bolesnik vjeruje da su njegove misli, osjećaji ili ponašanje kontrolirani vanjskim utjecajem
- Sumanutosti somatskog tipa
  - Bolesnik vjeruje da je njegov organizam ili njegovo funkcioniranje narušeno

Nadalje, nesuvisli govor jedan je od najzagonetnijih simptoma shizofrenije (23) u kojem bolesnik može prelaziti s teme na temu (engl. *derailment ili loose associations*), odgovarati na pitanja nepovezano sa samim pitanjima (engl. *tangentiality*), ili govoriti toliko nesuvislo da je govor nerazumljiv (engl. *incoherence* ili "*word salad*") (14). Bolesnik također može izmišljati riječi, kontinuirano ponavljati istu riječ ili frazu ili pojedinim riječima davati posebno osobno značenje (22).

Katatonija je stanje ukočenosti i nepokretnosti u kojem osoba zadržava isti položaj tijela kroz duže vrijeme (sati, dani). Ponekad, bolesnici sa shizofrenijom mogu iskusiti katatonu ekscitaciju kao što su uzbuđene, besciljne i neobične motoričke aktivnosti (5).

Iako je katatonija povijesno povezana sa shizofrenijom, simptomi katatonije su nespecifični i mogu se pojaviti i u drugim psihičkim bolestima (npr. u bipolarnom ili depresivnom poremećaju) (14), neki autori katatoniju svrstavaju u pozitivne simptome shizofrenije (20), drugi u kognitivne (24), dok ju treći svrstavaju u posebnu skupinu bihevioralnih poremećaja (5, 14, 25).

Negativni simptomi

Negativni simptomi često se smatraju kao umanjenje ili nestanak normalnih obrazaca ponašanja ili izražavanja, a posebice viših mentalnih procesa koji uključuju volju, samosvjesnost, rasuđivanje, i kompleksne emocionalne interakcije (25). Ti simptomi uključuju i smanjeni i ograničeni raspon izražavanja osjećaja, siromaštvo ili nedostatak govora, manjak društveno prihvatljivih obrazaca ponašanja, i očitu apatiju i smanjenu zainteresiranost posebice za ljude ili okolinu (25). Negativnim simptomima pripisuje se dugoročni morbiditet i slabo funkcioniranje bolesnika sa shiozofrenijom (26). Negativni simptomi često su prisutni od samog početka shizofrenije te se zbog toga smatra da su usko povezani s osnovnim neurobiološkim mehanizmima (27). Često se postiže odgovor na liječenje, ali u manjoj mjeri od pozitivnih simptoma (28).

Carpenter i sur. smatraju da negativni simptomi nisu homogena cjelina i predlažu njihovu podjelu na primarne i sekundarne negativne simptome (29). Primarni i sekundarni negativni simptomi razlikuju se prema uzroku nastajanja, stabilnosti simptoma i njihovom trajanju. Primarni negativni simptomi prisutni su od početka bolesti i najčešće su dugotrajni (mogu varirati u intenzitetu) te su prisutni unatoč varijacijama u drugim aspektima bolesti (npr. između i tijekom epizoda pozitivnih simptoma, statusu liječenja), dok sekundarni negativni simptomi mogu nastati zbog pozitivnih i afektivnih simptoma shizofrenije, lijekova ili drugih metoda za liječenje shizofrenije (29, 30, 31). Tako recimo halucinacije i deluzije koje mogu dovesti do emocionalnog i društvenog povlačenja, i jasna povezanost i isprepletenost ekstrapiramidalnih nuspojava antipsihotičkih lijekova, depresije, katatonije s negativnim simptomima, dovode do toga da je pri akutnim psihotičnim epizodama gotovo nemoguće razlikovati primarne i sekundarne negativne simptome (31, 32).

Negativni simptomi nisu homogeni niti u svojoj etiologiji. Tako na primjer, smanjeni emocionalni odgovor na podražaje iz okoline, što se smatra kao jednim od glavnih karakteristika shizofrenije, može se promatrati iz dva aspekta, jedan aspekt je primanje odnosno

doživljavanje vanjskih podražaja, a drugi aspekt je sama ekspresija (33). Nekoliko istraživanja pokazalo je nepodudarnost između doživljaja i emocionalne ekspresije bolesnika sa shizofrenijom (34-37). Bolesnici sa shizofrenijom, posebice oni s blažim reakcijama, pokazuju manju ekspresiju lica od bolesnika koji nisu oboljeli od shizofrenije, no prijavljuju doživljavanje jednako intenzivnih emocija (34, 35). Taj nerazmjer između doživljenih i izraženih emocija može utjecati na društvene odnose, pogotovo ako osobe koje ulaze u interakciju sa bolesnicima sa shizofrenijom podcijene njihovo emocionalno doživljavanje (38). Smanjena emocionalna izražajnost govorom, specifična je za shizofreniju te, iako ne postoji jedinstven uzorak koji karakterizira sve bolesnike, više od polovice govori ili sa smanjenom glasnoćom, ujednačenim intonacijom ili oboje (39).

Anhedonia, smanjena mogućnost osjećanja zadovoljstva (40), simptom je koji se pojavljuje i u depresiji i shizofreniji (33). Bolesnici sa shizofrenijom kod kojih je prisutna anhedonija pokazuju ravnodušnost i prema pozitivnim i prema negativnim iskustvima (37) i taj nedostatak u pozitivnim i negativnim osjećajima klinički je značajan s obzirom na to da emocionalni doživljaji imaju važnu ulogu u motivaciji (u društveno prihvatljivom ponašanju, suradljivosti u liječenju, ostvarivanju poslovnih ili drugih ciljeva) (33).

Kognitivni simptomi

S obzirom na to da je spoznaja u društvenim međudjelovanjima temeljena na mogućnostima procesuiranja informacija kao što su pažnja, memorija i izvršne funkcije (41), nije iznenađujuće da neurokognitivni čimbenici imaju važnu ulogu u sposobnosti funkcioniranja u društvu (33, 42, 43). Poremećaji u radnoj memoriji, pažnji, brzini zaključivanja i razmišljanja, vizualnom i verbalnom učenju sa značajno slabim rasuđivanjem, planiranju, apstraktnom razmišljanju, rješavanju problema opsežno su zabilježeni u shizofreniji (44, 45). Prema nekim procjenama 98 % bolesnika sa shizofrenijom pati od takvih poremećaja (44, 46). Kognitivni simptomi odnosno profil kognitivnih deficita od umjerenih do teških, prikazan je u Tablici 1. (32).

Tablica 1. Raspon kognitivnih deficita u shizofreniji

Blagi	Umjereni	Teški
Poremećaji perceptivne sposobnosti	Ometenost	Poremećaj u izvršnom funkcioniranju
Odgođena memorija prepoznavanja	Poremećaji radne memorije	Poremećaj u verbalnoj fluidnosti
Smanjeni verbalni i ukupni IQ	Odgođeni odgovor/odaziv	Smanjena brzina motorike

Neurokognitivni simptomi uglavnom se pojavljuju pri samom razvoju bolesti, i ostaju stabilni bez značajnih poboljšanja ili pogoršanja tijekom vremena (47, 48). Često su praćeni negativnim simptomima (47, 49) i mogu posredovati u povezanosti između negativnih simptoma i društvenog funkcioniranja te pridonose općoj nesposobnosti bolesnika sa shizofrenijom (33, 44).

Afektivni simptomi

Bolesnici sa shizofrenijom mogu pokazivati neprikladne reakcije i ponašanje (npr. smijanje bez odgovarajućeg stimulusa), disforično ponašanje koje može poprimiti oblik depresije, anksioznost ili ljutnju i poremećaje spavanja, pri čemu su anksioznost i fobije česte pojave (14). Također, neprijateljsko ponašanje i agresivnost mogu biti povezani sa shizofrenijom, a agresivnost se češće pojavljuje u mlađih muškaraca i bolesnika koji u povijesti imaju zabilježenu agresivnost, nepridržavanje terapije, te uporabu ilegalnih psihoaktivnih supstanci. Bitno je napomenuti da većina bolesnika sa shizofrenijom nije agresivna te da su često upravo oni predmet zlostavljanja (14).

Iako su simptomi povezani s raspoloženjem česti u shizofreniji i mogu se pojaviti istovremeno s pozitivnim i negativnim simptomima shizofrenije, u shizofreniji takvi simptomi moraju biti prisutni samo u manjem dijelu ukupnog trajanja bolesti, a deluzije i halucinacije se moraju pojavljivati i bez prisustva simptoma povezanih s raspoloženjem (14).

1.4 Dijagnoza shizofrenije

Prema DSM-V kriterijima, karakteristični simptomi shizofrenije uključuju raspon kognitivnih, bihevioralnih i emocionalnih poremećaja, ali ni jedan pojedinačni simptom nije patognomoničan za shizofreniju. Bar dva simptoma iz Kriterija A, moraju biti prisutni značajni dio vremena u periodu od 1 mjeseca ili duže, a jedan od tih simptoma mora biti nedvojbena prisutnost sumanutosti ili halucinacija ili nesuvislog govora. Značajno dezorganizirano ili katatoničko ponašanje i negativni simptomi također mogu biti prisutni. Shizofrenija uključuje poremećaj jednog ili više glavnih područja funkcioniranja (Kriterij B) i određeni znaci poremećaja moraju kontinuirano biti prisutni bar 6 mjeseci (Kriterij C). Uz simptome navedene u dijagnostičkim kriterijima, ocjena simptoma iz domene kognicije, depresije i manije ključna je za razlikovanje između različitih poremećaja iz spektra shizofrenije i ostalih psihotičnih poremećaja (14).

Dijagnostički kriteriji (14)*:*

Kriterij A. – dva ili više simptoma od navedenih od kojih je svaki prisutan dio vremena tijekom perioda od 1 mjeseca (ili manje ako se uspješno liječi). Najmanje jedan simptom treba biti iz točaka 1., 2. ili 3.

1. Sumanutosti
2. Halucinacije
3. Disocirani govor
4. Značajno dezorganizirano ili katatonično ponašanje
5. Negativni simptomi

Kriterij B. – u značajnom dijelu vremena od začetka poremećaja, razina funkcioniranja u jednom ili više glavnih područja kao što su posao, međuljudski odnosi ili briga o sebi je značajno ispod razine postignute prije začetka bolesti.

Kriterij C – Kontinuirani znakovi poremećaja prisutni su bar 6 mjeseci. Taj period od 6 mjeseci mora uključiti bar jedan mjesec simptoma koji zadovoljavaju Kriterij A (tj. simptomi aktivne faze) i može uključivati periode s prodromalnim ili rezidualnim simptomima.

Kriterij D – Shizoafektivni poremećaj i depresivni ili bipolarni poremećaj s psihotičkim karakteristikama su isključeni.

Kriterij E – Poremećaj se ne može pripisati psihološkom učinku određene tvari (npr. zlouporaba narkotika ili lijekova) ili drugim medicinskim stanjima.

Kriterij F – ako u povijesti bolesti postoji poremećaj iz autističnog spektra ili poremećaj komunikacije koji je započeo u djetinjstvu, dodatna dijagnoza shizofrenije uspostavlja se samo ako su istaknute sumanutosti i halucinacije uz ostale simptome shizofrenije prisutni najmanje 1 mjesec.

1.5 Etiologija bolesti

Etiologija shizofrenije još uvijek nije u potpunosti razjašnjena i mnoga su istraživanja dovela u vezu povećan rizik od razvoja shizofrenije sa širokim rasponom različitih čimbenika poput genetskih, prenatalnih, neurorazvojnih i drugih. Iako su se mnoga istraživanja usmjerila na povezanost uloge gena i razvoja shizofrenije smatra se da poremećaji u genima nisu sami po sebi dovoljni za pojavu bolesti nego stvaraju cjeloživotnu predispoziciju za razvoj shizofrenije. Najzastupljenije teorije nastanka shizofrenije su modeli dvostrukog ili trostrukog udara. Ti modeli sugeriraju da je potrebno više od jednog „*udara*“ za razvoj shizofrenije te da genetski rizici i neurorazvojni poremećaji u ranom životu kao posljedica recimo hipoksije ili prenatalne infekcije predstavljaju predispoziciju odnosno „*prvi udar*“, dok kasniji rizici/događaji koji se odvijaju neposredno prije razvoja bolesti, kao što su stres, primjena droga, migracije i slično, predstavljaju okidač odnosno „*drugi udar*“. Neliječenje shizofrenije dovodi do lančanih neurokemijskih događaja koji pak vode do daljnjih neurodegerativnih poremećaja što se smatra „*trećim udarom*“ (50). U daljnjem tekstu opisani su pojedinačni čimbenici rizika za razvoj shizofrenije.

1.5.1 Genetski i epigenetski čimbenici

Genetska podloga je vrlo značajan čimbenik u podlozi razvoja shizofrenije. Shizofrenija se smatra genetski i fenotipski kompleksnom bolešću koja je potaknuta kombinacijom genetskih i okolišnih čimbenika koji u interakciji preko epigenetskih mehanizama reguliraju razinu genske ekspresije, a time i signalne putove (51). To ide u prilog činjenici da je shizofrenija poligenski poremećaj. Također, u prilog nasljednosti shizofrenije govore istraživanja koja su pokazala 10 % prevalencije među rođacima prvog stupnja i 3 % prevalencije među rođacima drugog stupnja (52, 53). U slučaju jednojajčanih blizanaca, ukoliko je jedan blizanac obolio od shizofrenije, rizik od razvoja shizofrenije u drugog blizanca je 48 %, dok neki autori spominju čak do 80 % (54). U slučaju dvojajčanih blizanaca taj rizik je oko 12-14 % (52). Također, u slučaju da su oba roditelja oboljela od shizofrenije rizik od oboljenja potomka je oko 40 % (52).

Bitno je napomenuti da ne postoji jednostavan uzorak nasljeđivanja shizofrenije te da on ne slijedi Mendelova pravila nasljeđivanja (25, 55, 56). Usprkos tome, mnoga istraživanja pružila su uvid u genetske čimbenike i biološke putove koji su u podlozi ovog poremećaja (7, 51).

Analize vezanih gena (engl. *linkage studies*) i studije povezanosti (engl. *association studies*) utvrdile su 12 kromosomskih područja s 2181 genom od kojih je 9 specifičnih gena povezano s etiologijom shizofrenije (55, 57). Naime, radi se o varijacijama/polimorfizmima u genima koji kodiraju za neuregulin (NRG1), disbindin (engl. *dystrobrevin-binding protein 1*, DTNBP 1), regulator G protein-signalizacije 4 (engl. *regulator of G protein signaling 4*, RSG4), katehol-O-metiltransferazu (COMT), prolin-dehidrogenazu (PRODH), DISC1 i DISC 2 (engl. *disrupted in schizophrenia 1 and 2*), serotoninski 2A receptor i dopaminski D3 receptor, a koji su povezani sa shizofrenijom (55). Također postoje i drugi brojni geni koji bi mogli igrati važnu ulogu u patologiji shizofrenije, kao što su geni uključeni u prijenos signala, stanični rast i migraciju, mijelinizaciju, regulaciju funkcije presinaptičkih membrana, neurotransmisiju, neuralni razvoj, unutarstanične signalne putove, itd. (55, 58-65).

Nadalje, sa shizofrenijom se povezuju i epigenetski učinci, za koje se smatra da su nasljedne promjene kojima nije uzrok promjena slijeda DNA, nego su rezultat raznih procesa kao što je DNA metilacija, acetilacija, fosforilacija, ubikvitinacija, ribozilacija aminokiselina na histonskim repovima, a koje reguliraju ekspresiju gena (56, 66). Do promjene u epigenetskim signalima koji reguliraju ekspresiju gena može doći i zbog raznih okolišnih čimbenika, pogotovo u ranom embrionalnom razvoju što može uzrokovati trajne fenotipske posljedice (67). Najčešće epigenetske promjene povezane sa shizofrenijom su (68):

- Epigenetske promjene u GABAergičkom sustavu kao što je smanjenje ekspresije gena *GAD1* i *RELN* u čemu ulogu ima DNA metil-transferaza 1
- Epigenetske promjene serotoninskog i dopaminskog sustava kao što je disregulacija ekspresije gena *HTR1A, HTR2A, DRD1, DRD2* i *COMT*
- Epigenetske promjene histona kao što je metilacija histona H3

1.5.2 Trudnoća i komplikacije pri porodu

Prenatalni rizici, kao što su majčine infekcije reproduktivnog sustava ili izloženost polio virusu, rubeoli, gripi, *Toxoplazmi gondii* (69-73), kao i neodgovarajuća prehrana, uporaba kanabisa, starija dob roditelja pri rođenju djeteta, selidbe i traume u dječjoj dobi (74), povezani su povećanim rizikom razvoja shizofrenije. Istraživanja su također pokazala da i fetalna hipoksija također može biti povezana s povišenim rizikom od shizofrenije (75).

Važno je naglasiti da je malo vjerojatno da svi navedeni rizici pojedinačno dovode do povećanog rizika razvoja shizofrenije, već je vjerojatnije da u kombinaciji s genetskom predispozicijom i mutacijama, ti čimbenici utječu na razvoj mozga u kritičnim periodima i tako mogu potaknuti razvoj psihotičnih poremećaja kao što je shizofrenija (66, 74, 76-83).

Nekoliko istraživanja povezalo je prenatalne infekcije i shizofreniju (74), te je pokazalo da postoji povećan rizik od shizofrenije u djece rođene tijekom zimskih i proljetnih mjeseci što bi moglo biti povezano posebice s respiratornim infekcijama i rođenjem u urbanim sredinama gdje se infekcije puno lakše prenose (74, 76).

Gripa

Nekoliko ranijih istraživanja utvrdilo je povezanost shizofrenije s rođenjem djeteta u vrijeme epidemije gripe, no druge studije nisu ponovile ove rezultate (74, 76). Ograničenje ovih istraživanja je da su uključivala majke koje su rodile u vrijeme epidemije gripe no bez potvrde da su zapravo bile inficirane virusom gripe (74). Stoga su kasnije studije uključile majke koje su bile izložene virusu gripe, te su pokazale da izloženost majke virusu gripe u prvoj polovici trudnoće povećava rizik od razvoja shizofrenije tri puta, a izloženost u prvom tromjesečju čak 7 puta (84), (74). Međutim, izloženost virusu gripe u drugoj polovici trudnoće izgleda da ne povećava rizik razvoja shizofrenije (74).

Rubeola

Rubeola je jedan od prvih poznatih teratogena koji može uzrokovati mentalnu retardaciju, gluhoću, katarakte i čak do 20 % pobačaja (85). Stoga je nekoliko istraživanja analiziralo povezanost izloženosti virusu rubeole i razvoja shizofrenije, koja su pokazala da je preko 20 % izložene djece kasnije razvilo shizofreniju ili jedan od poremećaja iz shizofrenog spektra (72, 74). Slično kao i kod izloženosti virusu gripe, najveća povezanost utvrđena je u djece izložene virusu rubeole tijekom prva dva mjeseca trudnoće (74).

Herplex simplex virus tipa 2

Slično kao i virus rubeole, i virus *Herpes simplex* može uzrokovati poteškoće u neurološkom razvoju (86). Utvrđena je povezanost izloženosti *Herpes simplex* virusu tijekom trudnoće i razvoja shizofrenije, pogotovo kod majki koje su se upuštale u rizične spolne odnose bez kontracepcije (69, 74, 76, 87).

Citokini i drugi biomarkeri upale

Citokini su medijatori upale i njihova povećana koncentracija može značiti izloženost infekciji odnosno upali. Istražujući povezanost povišene razine citokina u majki i razvoja shizofrenije u potomaka (88), pojedini autori utvrdili su dvostruko povećanje razine citokina tijekom drugog i ranog trećeg tromjesečja trudnoće u potomaka koji su kasnije razvili shizofreniju u usporedbi s kontrolnom skupinom (74). Međutim, kako citokini također mogu biti povezani i s drugim stanjima kao što su povećani indeks tjelesne težine i preeklampsija, koji su također povezani s shizofrenijom, citokini ne moraju nužno biti pokazatelji isključivo infekcije nego i drugih stanja kao potencijalnih čimbenika u razvoju shizofrenije (74, 89, 90-92).

Toxoplasma gondii

Toxoplasma gondii je unutarstanični parazit i u nekoliko istraživanja utvrđena je povezanost infekcije majke ovim parazitom s razvojem shizofrenije u potomaka (74, 93-95). Ova povezanost objašnjava se mogućnošću raspodjele parazita u mozgu, svojstvom neurotropizma te utjecajem na neurotransmitore dopamin, serotonin i GABA-u, kao i na metabolizam triptofana (96).

Ostali čimbenici

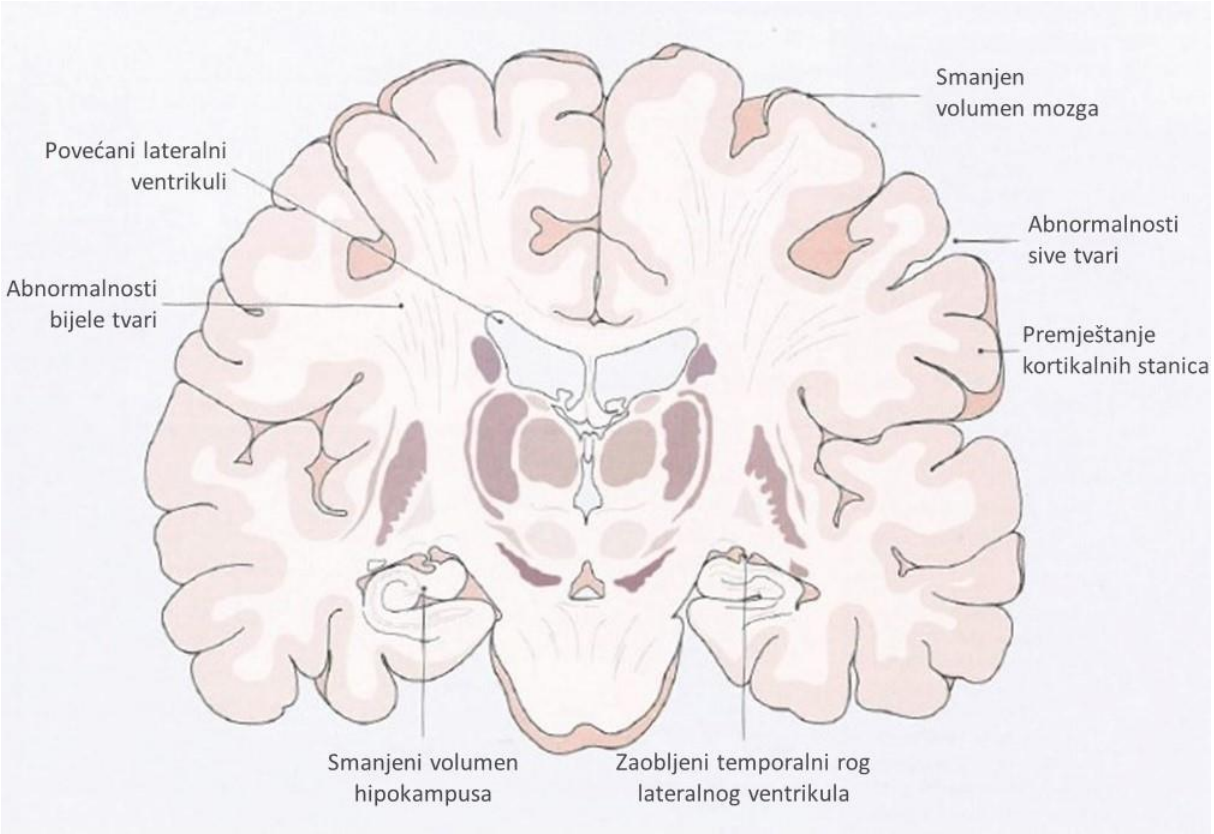
Deficitarna prehrana majke tijekom trudnoće koja posljedično može dovesti do kongenitalnih anomalija središnjeg živčanog sustava (SŽS), starija životna dob roditelja, zlouporaba kanabisa, migracije, rođenje i odrastanje u urbanim sredinama u usporedbi s ruralnim, zlostavljanje u dječjoj dobi (posebice seksualno) i razni drugi čimbenici u mnogim istraživanjima povezivani su s povećanim rizikom razvoja shizofrenije (74, 97-128).

1.5.3 Neurorazvojni čimbenici

Prema neurorazvojnoj hipotezi shizofrenije, poremećaji tijekom ranog života, do kojih može doći zbog raznih genetskih i/ili okolišnih čimbenika i/ili prenatalnih rizika koji pridonose promjeni strukture mozga, predstavljaju jedan od temelja pojave psihoza u odrasloj dobi (50, 55, 129, 130). Neurorazvojna hipoteza pružila je određen stupanj koherentnosti velikog broja različitih čimbenika koji su povezani sa shizofrenijom. Nalazi iz morfoloških i molekularnih *post mortem* istraživanja i podaci dobiveni primjenom kompjuterizirane tomografije (CT) i magnetske rezonance (MR) podupiru hipotezu prema kojoj je shizofrenija posljedica razvojnog, a ne degenerativnog procesa, a koji utječe na stanično povezivanje i plastičnost kore velikog mozga (130).

Makroskopski čimbenici

Nekoliko studija uputilo je na moguću povezanost shizofrenije s poremećajima u neurološkom razvoju koji su doveli do neuroanatomskih promjena u mozgu poput povećanja ventrikula, promjene ukupnog volumena i težine mozga (131-133) smanjenja hipokampusa (134, 135), abnormalnosti u prefrontalnom i temporalnom režnju, talamusu, promjene debljine moždane kore, kao i girifikacije i moždane asimetrije (136-140), te mijelinizacije (110), a od kojih se najčešćima smatraju povećanje ventrikula i smanjenje volumena temporalnog režnja (50) (Slika 2.). Naime, povećanje lateralnih i trećih ventrikula u oboljelih od shizofrenije procijenjeno je na 20-75 %, ukupno smanjenje temporalnog režnja na oko 8 %, a medijalnih temporalnih struktura (hipokampus, parahipokampalni girus, amigdala) na 4-12 % (141).



Slika 2. Strukturne abnormalnosti mozga u shizofreniji. Preuzeto i prilagođeno iz Stefan i sur. 2002. (142)

Histološki i molekularni čimbenici

Na staničnoj razini, postoje dokazi koji idu u prilog povezanosti shizofrenije sa suptilnim promjenama u arhitekturi stanica različitih regija u mozgu (82, 130, 141, 143), na primjer:

- određeni broj piramidalnih neurona u hipokampusu i neurokorteksu su veličinom manji te imaju manje dendritičkih trnova
- veća gustoća neurona u bijeloj tvari neposredno ispod moždane kore
- neuobičajeno razmješteni ili grupirani neuroni posebice u lamini II entorinalnog korteksa (anteriorni parahipokampalni girus) i u neurokortikalnoj bijeloj tvari
- manja gustoća nekih interneurona, posebice parvalbumin-imunoreaktivnih stanica
- manji broj neurona u talamusu, a posebno u mediodorzalnom nukleusu i pulvinaru
- smanjenje broja i funkcije oligodendrita

1.5.4 Neurotransmitori

Dok etiologija i patofiziologija shizofrenije još nije u potpunosti razjašnjena, velik broj dokaza upućuje da su promjene u raznim neurotransmitorskim sustavima uključene u procese koji mogu dovesti do razvoja simptoma ove bolesti. Uvjerenje da su abnormalnosti neurotransmitora u mozgu uključene u etiopatogenezu shizofrenije postoji i među kliničarima i istraživačima (144). Veliki raspon neurokemijskih parametara istraživan je u shizofreniji ili u *post mortem* ili u *in vivo* studijama, a posebice dopaminski, serotoninski (5-HT), glutamatni i GABA (gama-aminomaslačna kiselina) neurotransmitorski sustav (143).

1.5.4.1 Uloga prefrontalnog korteksa

Prefrontalni korteks ima glavnu ulogu u brojnim kognitivnim, limbičkim i memorijskim funkcijama te abnormalnosti u procesuiranju informacija ili neurološko oštećenje prefrontalnog korteksa može dovesti do velikog broja simptoma kao što su promijenjene osobine ličnosti, poteškoće u radnoj memoriji i psihijatrijske bolesti (145, 146). Anatomska organizacija prefrontalnog korteksa je vrlo kompleksna i sastoji se od mnoštva funkcionalnih područja čija je aktivnost pod utjecajem raznih aferentnih putova u kojima su važni spomenuti neurotransmitori (79, 145, 147, 148).

Prefrontalni korteks značajno je povezan s drugim kortikalnim i subkortikalnim regijama kao što su one koje reguliraju emocije, misli i djelovanje (79). Dorzolateralni prefrontalni korteks značajno je povezan sa senzornom i motoričkom korom, te je ključan u regulaciji pažnje, misli i djelovanja (79, 149). Ventromedijalni prefrontalni korteks značajno je povezan sa subkortikalnim strukturama kao što su amigdala, nukleus akumbens i hipotalamus, a koji su odgovorni za regulaciju emocionalnih odgovora i navika (79, 150-152). Spomenute regije prefrontalnog korteksa međusobno su povezane i reguliraju donošenje odluka višeg reda, planiranje, organizaciju i donošenje odluka te aktivnosti na temelju sjećanja, ali mehanizam tog procesa nije u potpunosti razjašnjen (79, 153). Također, prefrontalni korteks je izravno i neizravno povezan sa stanicama koje proizvode monoamine u moždanom deblu kao što su lokus ceruleus, supstancija nigra, i ventralno tegmentalno područje i time regulira potrebnu količinu kateholamina (79).

Dvije glavne limbičke strukture, amigdala i hipokampus općenito su povezane s korteksom, no ponajviše s prefrontalnim korteksom, te snažno inerviraju posteriorne dijelove

orbitofrontalnog korteksa i posteriorne dijelove medijalnog prefrontalnog korteksa nazvanog anteriorni cingularni korteks (152-154). Poremećaji tih veza mogu ostaviti duboke posljedice povezane sa širim pregledom i razumjevanjem vanjskog okoliša, kao i s emocijama i kognicijom posebice u neurološkim i psihijatrijskim bolestima (153).

Aktivnosti povezane s višim kognitivnim funkcijama u prefrontalnom korteksu regulirane su putem neurotransmitora dopamina, glutamata, serotonina, noradrenalina i GABA-e, te poremećaji ovih neurotransmitora mogu dovesti do smanjene kognitivne sposobnosti, radne memorije, kao i sposobnosti planiranja i odlučivanja (153), te su zbog toga čest predmet istraživanja psihijatrijskih poremećaja.

1.5.4.2 Glutamat

Glutamat je jedan od glavnih ekscitacijskih neurotransmitora u mozgu sisavaca i prisutan je u otprilike 40 % svih sinapsi (155). Glutamat je važan u razvoju mozga, jer stimulira rast neurona, sinaptogenezu i sazrijevanje sinapsi, te diferencijaciju stanica uključujući i oligodendrocite (odgovorne za proizvodnju mijelina) (110, 156). Ima ulogu neurotransmitora u gotovo svim kortikalnim piramidalnim stanicama uključenih u eferentne putove i putove koji povezuju koru mozga i limbički sustav (155, 157, 158). Zbog svoje uloge u prefrontalnom korteksu i ekscitacijskim krugovima koji povezuju prefrontalni korteks i strijatum, te talamus i limbički sustav, poremećaji u glutamatnom sustavu mogu dovesti do kognitivnih deficita i negativnih simptoma (153).

Učinak glutamata posredovan je ionotropnim i metobotropnim glutamatnim receptorima (155, 158), koji su prisutni u cijelom SŽS-u (145). Poremećena regulacija glutamatne neurotransmisije predstavlja ključni čimbenik u mnogim neurodegenerativnim i psihijatrijskim bolestima (145).

Istraživanja ionotropnih glutamatnih receptora dovela su do oprečnih podataka (144) iz kojih je pak izniklo nekoliko teorija o povezanosti glutamatnog sustava i razvoja shizofrenije. NMDA (N–metil–D–aspartat) receptori su najkompleksiji ionotropni receptori uključeni u procesuiranje neuralnih informacija na svim razinama središnjeg živčanog sustava te je uloga NMDA receptora u plastičnosti mozga potvrđena u nekoliko istraživanja (159-161). Sposobnost antagonista NMDA receptora da potakne simptome nalik simptomima shizofrenije govori u prilog povezanosti glutamatne disfunkcije i razvoja shizofrenije (158).

AMPA (α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolepropionska kiselina) i kainatni receptori drugi su razred ionotropnih glutamatnih receptora, ali su u bliskoj interakciji s NMDA receptorima (158). I AMPA i kainatni receptori imaju ulogu u dugoročnoj potencijaciji koja predstavlja ključni proces u mozgu za modulaciju povezanosti neurona, a time i za sposobnost učenja i pamćenja (158). Stoga su i AMPA i NMDA receptori potrebni za koordinaciju glutamatne neurotransmisije, dok disfunkcija AMPA i NMDA receptora može dovesti do fenomena tihe sinapse, koji se pojavljuje u shizofreniji (158).

Metabotropni glutamatni receptori su receptori povezani s G-proteinima (engl. *G-protein coupled receptor,* GPCR), a posreduju dugoročne neuromodularne učinke glutamata (158). Njihova glavna uloga je regulacija otpuštanja glutamata i postsinaptičke osjetljivosti te su podjeljeni u tri grupe (158):

- Grupa I - pretežno potencira presinaptičko otpuštanje glutamata i postsinaptičku NMDA neurotransmisiju
- Grupa II i III – ograničavaju otpuštanje glutamata posebice u situacijama prekomjerne količine glutamata u sinaptičkoj pukotini

Stoga agonisti Grupe I metabotropnih glutamatnih receptora potiču neurotransmisiju posredovanu ionotropnim glutamatnim receptorima dok agonisti Grupa II i III djeluju suprotno (158).

Provedene su studije u kojima se istraživala sposobnost antagonista glutamatnih receptora Grupe I da izazovu simptome nalik onima u shizofreniji, te sposobnost agonista ovih receptora da poništе učinak amfetamina, fenciklidina (PCP) i ostalih psihomimetika. Rezultati su pokazali da antagonisti potenciraju fenciklidinom inducirano povećanje lokomotorne aktivnosti te imaju anksiolitičke učinke (158, 162, 163). Agonisti, s druge strane, poništavaju učinak amfetamina i inhibiraju učinak otpuštanja dopamina induciranog PCP-om u prefrontalnom korteksu glodavaca (158, 163, 164).

Grupa II i Grupa III metabotropnih receptora negativnom spregom reguliraju otpuštanje glutamata i ograničavaju ga u slučaju kada ga ima previše. Stoga je primjena agonista glutamatnih receptora Grupe II i III u shizofreniji bazirana na hipotezi patofiziologije povećane koncentracije glutamata (158). Ispitivanja su pokazala mogućnost agonista ovih receptora da blokiraju fenciklidinom potaknuto povišenje koncentracije glutamata u prefrontalnom korteksu

kao i poteškoće u radnoj memoriji, što govori u prilog glutamatne hiperaktivnosti u pojedinim prefrontalnim disfunkcijama (158, 165-167).

Jedna od teorija koja pokušava objasniti povezanost glutamatnog sustava i shizofrenije je da se smanjena funkcija NMDA glutamatnih receptora, pogotovo u hipokampusu, prefrontalnom korteksu i cerebrospinalnoj tekućini, smatra jednim od čimbenika uključenim u patofiziologiju shizofrenije, s obzirom da antagonisti NMDA receptora kao što su ketamin i PCP uzrokuju simptome slične pozitivnim, negativnim i kognitivnim simptomima shizofrenije (143, 144, 155, 168). *Post mortem* istraživanja podupiru tezu da smanjenja ekspresija i broj glutamatnih receptora u temporalnom režnju (143, 169, 170) pridonosi razvoju bolesti. Neka istraživanja su pak pokazala povećanu razinu ponovne pohrane glutamata u frontalnom i cingularnom korteksu (144, 145, 171), te veću gustoću vertikalnih aksona u sloju II anteriornog cingularnog korteksa, što kao posljedicu ima povećanu ekscitotoksičnost (172). Čak se smatra da glutamatna hipoteza može objasniti negativne i kognitivne simptome shizofrenije bolje od dopaminske hipoteze, te da ima potencijal objasniti i samu disfunkciju dopamina (168).

Poznato je da su aktivnosti glutamatnog i dopaminskog sustava međusobno modulirane (156), te bi disfunkcija dopaminskog sustava mogla predstavljati posljedicu hipofunkcije NMDA receptora (168), pogotovo u limbičkim i prefrontalnim moždanim regijama (145). Naime, glutamatni putovi imaju ključnu ulogu u kontroli brzine i uzorka okidanja dopaminskih neurona u ventralnom tegmentalnom području (145, 173). Lokalna primjena glutamata ili stimulacija glutamatnih aferentnih putova iz prefrontalnog korteksa ili subtalamičkog nukleusa rezultira povećanim okidanjima dopaminskih neurona i povećanim otpuštanjem dopamina u nukleusu akumbensu (145, 173-175). Drugi putovi kojima glutamat posreduje uzorak okidanja neurona ventralnog tegmentalnog područja uključuju ventralni hipokampus, entorinalni korteks i amigdalu i to najvjerojatnije postsinaptičkim putovima koji uključuju projekcije prema ventralnom strijatumu (145).

Također, smatra se da je NMDA receptor pozitivni regulator otpuštanja GABA-e, te da kao posljedica disfunkcije ekscitacijskih NMDA receptora dolazi do smanjenja inhibicijske funkcije GABA-e (144, 172, 176).

1.5.4.3 GABA (gama-aminomaslačna kiselina)

Uz glutamat, gama-aminomaslačna kiselina je jedan od najvažnijih i najzastupljenijih neurotransmitora u mozgu (177, 178). GABA se može pronaći i u perifernim tkivima kao što su crijeva, pluća i mjehur (179). Za razliku od glutamata koji depolarizacijom neurona djeluje ekcitacijski, GABA, koja hiperpolarizira neurone, smatra se glavnim inhibicijskim nerotransmitorom u središnjem živčanom sustavu (179, 180). Ipak, moguća je pojava i depolarizacije uzorkovane GABA-om, pogotovo u ranom postnatalnom razvoju mozga (180, 181).

Farmakološki i molekularno razlikujemo dvije glavne vrste GABA receptora, $GABA_A$ i $GABA_B$ (178-180). $GABA_A$ su ionski receptori dok su $GABA_B$ metobotropni receptori povezani s G-proteinima (179).

Važnost GABA neurotransmisije prikazana je u više istraživanja utjecaja promjene u GABA sustavu kod neuroloških i psihijatrijskih bolesti (182) kao što su epilepsija (183-186), anksiozni poremećaji, ovisnost o alkoholu (187), Huntingtonova bolest, Angelmanov sindrom (188) i shizofrenija (178, 189-191).

Promijenjeni biokemijski i anatomski biljezi GABA neurotransmisije utvrđeni su u bolesnicima sa shizofrenijom, uključujući promjene u ekspresiji glutamat-dekarboksilaze (GAD), enzima koji sintetizira GABA-u, vezivanju agonista GABA receptora muscimola i broju interneurona (65, 158, 189-191). Regije mozga u kojima su utvrđene promjene uključuju hipokampus, anteriorni cingularni korteks, medijalni prefrontalni korteks i dorzolateralni prefrontalni korteks (178, 189). Tako je na primjer u oboljelih od shizofrenije opaženo smanjenje broja GABA neurona u limbičkim i prefrontalnim kortikalnim regijama mozga, kao i povećanje gustoće $GABA_A$ receptora (177, 179).

Radna memorija, čiji je poremećaj jedan od glavnih simptoma u shizofreniji, ovisi o koordiniranoj i postojanoj aktivnosti podskupine neurona dorzolateralnog prefrontalnog korteksa u periodu između vanjske stimulacije i kasnijeg bihevioralnog odgovora (158). Postoje dokazi da bi subpopulacija GABA neurona (engl. *„chandelier cells“*) mogla biti uključena u patofiziologiju shizofrenije (189, 192). Te stanice reguliraju podražljivost piramidalnih neurona koji imaju glavnu funkciju u radnoj memoriji (189). Također, dobar dio dendrita koji proizlaze iz spomenutih stanica povezan je s dopaminskim neuronima i talamokortikalnim projekcijama

koja čine dva aferentna sustava prema prefrontalnom korteksu, a ključni su za radnu memoriju (189).

Genetska istraživanja delecija i točkastih mutacija otkrila su važnost GABA receptora u neuralnom razvoju te su pokazala da i najmanje modifikacije u sastavu podjedinica GABA receptora imaju značajan utjecaj na fenotip u kontekstu ponašanja i odgovora na lijekove (179).

1.5.4.4 Dopamin

U istraživanjima shizofrenije, od neurotransmitorskih sustava najveću pažnju privukao je dopaminski sustav te je njegova uključenost u patofiziologiju i liječenje shizofrenije predmet brojnih studija već preko 50 godina (158). Jedna od glavnih neurokemijskih i neurotransmitorskih promjena u shizofreniji su promjene u subkortikalnoj dopaminergičkoj aktivnosti (strijatumu i nukleusu akumbensu) tijekom akutne psihotične faze bolesti, na temelju koje je i uspostavljena dopaminergička teorija shizofrenije (3). Dopaminergička teorija predlaže da su pozitivni simptomi (halucinacije, sumanutosti) povezani s prekomjernim otpuštanjem subkortikalnog dopamina i prekomjernom aktivnosti dopaminskih D_2 receptora, dok su negativni i kognitivni simptomi rezultat smanjene aktivnosti dopaminskih D_1 receptora u prefrontalnom korteksu (158, 193). Ta hipoteza temeljena je na korelaciji između kliničkih doza antipsihotičkih lijekova i njihove blokade dopaminskih D_2 receptora, kao i psihoaktivnog djelovanja lijekova koji potenciraju djelovanje dopamina (194-197). Stoga, prevladava mišljenje da u shizofreniji postoji neravnoteža između subkortikalnih i kortikalnih dopaminskih sustava, odnosno da su subkortikalne mezolimbičke dopaminske projekcije hiperaktivne (rezultirajući hiperstimulacijom D_2 receptora i pojavom pozitivnih simptoma), dok mezokortikalne dopaminske projekcije prema prefrontalnom korteksu imaju smanjenu razinu aktivnosti (rezultirajući hipostimulacijom D_1 receptora i pojavom negativnih i kognitivnih simptoma) (158).

Dopamin se sintetizira iz aminokiseline tirozin koja se unosi u završetke dompaminskih neurona preko prijenosnika te se pretvara u dihidroksifenilalanin (DOPA) pomoću enzima tirozin-hidroksilaze. DOPA se konvertira u dopamin pomoću enzima DOPA-dekarboksilaza. Nakon sinteze, dopamin se pohranjuje u sinaptičke vezikule pomoću monoaminskog prijenosnika (198). Presinaptička membrana dopaminskog neurona sadrži prijenosnik za ponovnu pohranu dopamina (DAT), specifičan za dopamin, koji prenoseći dopamin iz sinaptičke pukotine u živčani završetak prekida njegovo sinaptičko djelovanje. DAT je rijedak u aksonima dopaminskih neurona u prefrontalnom korteksu, te postoje i drugi mehanizmi

inaktivacije dopamina (198). Naime, višak dopamina unutar neurona uklanja se razgradnjom pomoću enzima monoamin-oksidaze (MAO), a višak dopamina izvan neurona uklanja se razgradnjom pomoću enzima katehol-o-metiltransferaze (COMT) (198).

1.5.4.4.1 Dopaminski sustav u mozgu

1.5.4.4.1.1 Dopaminske projekcije

Smatra se da postoje 4 glavna puta dopaminskog sustava u mozgu; nigro-strijatalni mezolimbički, mezokortikalni i tuberoinfidibularni put (Slika 3.) (199). Mezolimbički i mezokortikalni put često se nazivaju i skupnim imenom mezokortkolimbički put (200-202).

Nigro-strijatalni put

Dopaminski neuroni u nigrostrijatalnom putu započinju u substanciji nigri, prvenstveno u *pars compacta,* te projiciraju u bazalni ganglij, odnosno u dorzalni striatum (*nucleus caudatus* i putamen). U tom putu dopamin ima važnu ulogu u kontroli motoričkih funkcija i učenju novih funkcija te je njegova degeneracija prisutna u Parkinsonovoj bolesti (199, 203, 204). Smatra se da su ekstrapiramidalne nuspojave antipsihotičnih lijekova rezultat blokade upravo tih strijatalnih dopaminskih receptora (203, 204).

Mezolimbički put

Mezolimbički put započinje iz ventralnog tegmentalnog područja projekcijom dopamina do amigdale, *cortex praepyriformisa, lateral septal nuclei* i *nucleusa accumbensa*. U tom putu dopamin je odgovoran za emocije i sustav nagrađivanja. Mezolimbički sustav u mozgu posreduje osjećaj užitka otpuštajući dopamin tijekom ugodnih situacija i potiče osobu na traženje aktivnosti koje pružaju ugodu. Hrana, seks i korištenje droga također stimuliraju otpuštanje dopamina u mozgu, pogotovo u područjima kao što su *nucleus accumbens* i prefrontalni korteks. Smatra se da antipsihotički lijekovi koji smanjuju pozitivne simptome u shizofreniji blokiraju dopaminske receptore upravo u mezolimbičkom putu (199, 201-203, 205, 206).

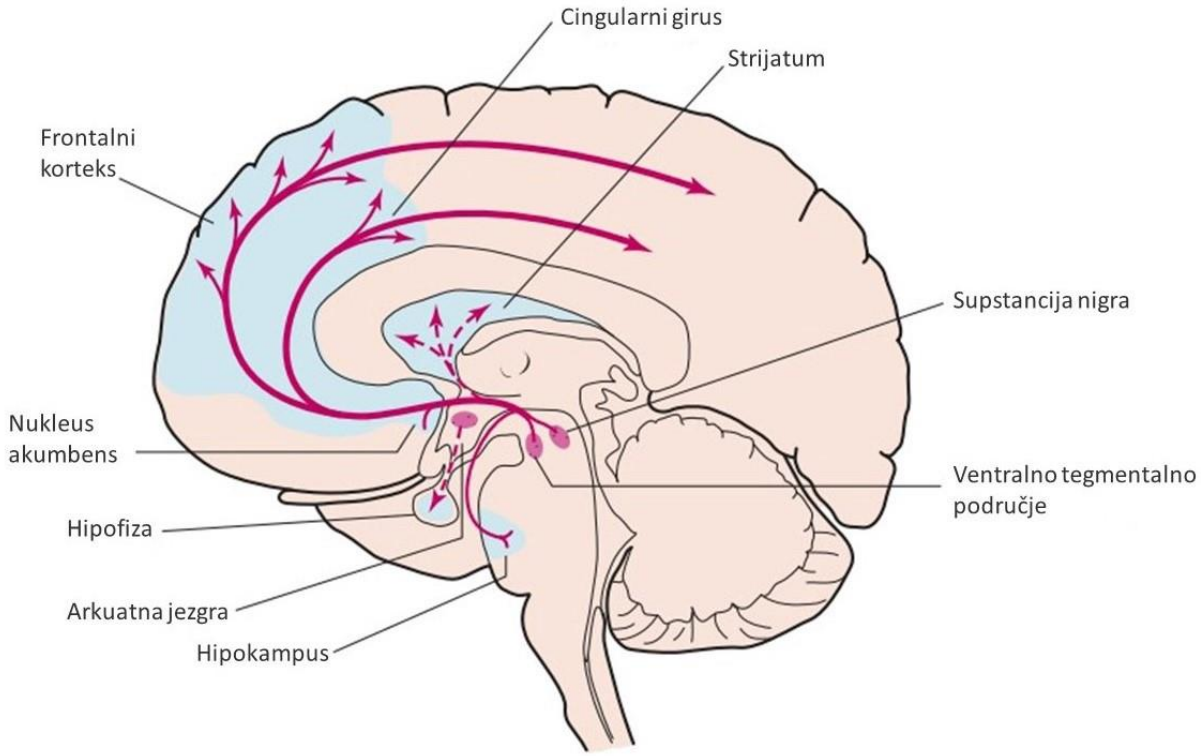
Mezokortikalni put

Kod mezokortikalnog puta, dopaminski neuroni također započinju u ventralnom tegmentalnom području no projiciraju se u frontalni korteks i septohipokampalnu regiju. Dopamin u tom putu posreduje u kognitivnom i emocionalnom ponašanju te razine dopamina, posebice u prefrontalnom korteksu pomažu u poboljšanju radne memorije i pažnje (199). Kod neliječenih bolesnika sa shizofrenijom smatra se da su mezokortikalni putovi u dorzolateralni

prefrontalni korteks i ventromedijalni prefrontalni korteks hipoaktivni te da je ta hipoaktivnost povezana s kognitivnim, negativnim, i afektivnim simptomima shizofrenije (198).

Tuberoinfidibularni put

Tuberoifidibularni put započinje u arkuatnoj jezgri koja je dio hipotalamusa te projicira u hipofizu. Dopamin u ovom putu inhibira oslobađanje prolaktina te se zbog toga naziva i prolaktin-inhibicijski čimbenik (PIF) ili hormon (PIH) (199). Stoga, jedna od češćih nuspojava antipsihotika koji djeluju kao antagonisti dopaminskih receptora i u tuberoinfidibularnom putu je hiperprolaktinemija (198).



Slika 3. Glavni dopaminski putovi u mozgu: nigrostrijatalni put od substancije nigre prema dorzalnom strijatumu (isprekidane strelice prema gore); mezokortikalni i mezolimbički put od ventralnog tegmentalnog područja prema nukleusu akumbensu, amigdali, hipokampusu, orbitalnom i medijalnom prefrontalnom korteksu i cingularnom girusu; tuberoinfidibularni put od arkuatne jezgre do hipofize. Preuzeto i prilagođeno iz Malenka i sur. 2009. (203).

1.5.4.4.1.2 Dopaminski receptori

Središnji dopaminski receptori pripadaju skupini receptora povezanih s G-proteinima i podijeljeni su na 5 podtipova: D_1, D_2, D_3, D_4 i D_5 koji su prema strukturi svrstani u dvije skupine D_1 i D_2 (145, 199, 207). D_1 skupini pripadaju D_1 i D_5 receptori, a D_2 skupini pripadaju D_2, D_3 i D_4 (207). Iako su po strukturi slični, podtipovi dopaminskih receptora razlikuju se po njihovim afinitetu prema dopaminu i pratećoj aktivaciji sekundarnih glasnika (207).

Krajnji učinak aktivacije D_1 skupine receptora može biti ekscitacija ili inhibicija dok je krajnji učinak aktivacije D_2 skupine receptora inhibicija ciljnog neurona. Taj učinak ovisi o tipu receptora koji se nalaze na membrani neurona i unutarnjem odgovoru neurona na sekundarni glasnik cAMP-a (199).

Jedna od glavnih i najviše istraživanih funkcija dopaminskih receptora je njihova uloga u lokomotornoj aktivnosti. Lokomotorna aktivnost primarno je kontrolirana D_1, D_2 i D_3 receptorima (208). D_1 receptori, koji su eksprimirani samo na postsinaptičkoj membrani, imaju umjereni stimulirajući učinak na lokomotornu aktivnost dok je učinak D_2 i D_3 receptora, koji su eksprimirani na presinaptičkoj i postsinaptičkoj membrani, kompleksniji u vidu kontrole lokomotorne funkcije (208). D_1, D_2 i D_3 receptori također su uključeni u proces sustava nagrađivanja i radnu memoriju, dok D_3, D_4 i potencionalno D_5 receptori imanju manji modulacijski učinak na neke specifične kognitivne funkcije posredovane hipokampusom (208).

D_1 receptori, u najvećoj koncentraciji mogu se naći u hipokampusu, nukleusu kaudatusu, putamenu, nukleusu akumbensu, hipotalamusu, substanciji nigri i u frontalnom i temporalnom režnju (17, 198, 209). D_1 skupina receptora nalazi se na postsinaptičkim membranama stanica i vezivanjem dopamina aktivira Gs skupinu G proteina te time povećava aktivnost adenilat-ciklaze koja potom proizvodi cAMP (17, 210). Modulacija sinteze cAMP-a rezultira regulacijom protein-kinaze A (PKA) i potencionalno drugih proteina aktiviranih cAMP-om (208, 211). Fosfoprotein reguliran dopaminom i cikličkim adenozin-monofosfatom (DARPP-32) također je ciljni protein adenilat-ciklaze te njegova forforilacija na mjestu treonin-34 (Thr34) rezultira negativnom regulacijom protein-fosfataze 1 (PP1) dok fosforilacija na mjestu treonin-75 (Thr75) putem kinaze ovisne o ciklinu 5 (engl. *cyclin-dependent kinase 5* (CDK5)) rezultira inhibicijom PKA (96, 210).

Receptori D_2 skupine su jednoličnije raspoređeni u mozgu, no najviše ih ima u strijatumu, ventralnom tegmentalnom području i nukleusu akumbensu (17, 199). Povezani su s Gi skupinom G proteina, te inhibiraju aktivnost adenilat-ciklaze, a nalaze se na postsinaptičkoj membrani stanica i presinaptičkim membranama dopaminskih neurona (17, 210). D_2 skupina receptora također može aktivirati cAMP neovisne mehanizme putem multifunkcionalnog adapterskog proteina Beta-arestin 2 (βArr2), koji može tvoriti signalne komplekse koji vode do aktivacije raznih G-protein neovisnih kaskadnih putova kao što je Akt(PKB)/GSK3 (208, 212-214).

Uz regulaciju cAMP-a, dopaminski receptori svoj učinak mogu posredovati i alternativnim signalnim putovima (213, 215). Na primjer, postoje indicije da D_1 i D_2 receptori mogu aktivirati receptore za moždani neurotrofni čimbenik (engl. *brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) u neuronima mobilizacijom intracelularnog kalcija putem Gq, fosfolipaze C (PLC) i inozitol-3-fosfata (IP3) (175, 215). Ta dva dopaminska receptora također reguliraju kalcijeve kanale putem izravne protein-protein interakcije (210, 216, 217). Također, postoji mogućnost da D_1 i D_2 receptori povećaju ili smanje aktivnost Na^+/K^+-ATP-aze (218, 219). U određenim uvjetima, dopaminski D_1 receptori utječu i na signalne putove regulirane inozitol-3-fosfatom (220).

Dopaminski receptori također mogu izmijeniti forsforilaciju kritičkih podjedinica glutamatnih AMPA i NMDA receptora putem cAMP-PKA-DARPP32 i PKC signalnih putova (221-227). Također, aktivacijom Akt/GSK3 signalnog puta dopaminski D_2 receptori mogu značajno izmijeniti funkciju glutamata putem NMDA i AMPA receptora (228, 229). Slični mehanizmi, kao što je GSK-3β signalni put, uključeni su i u modifikaciju GABA neurotransmisije (230) te se na temelju toga smatra da dopamin modulira učinak neurotransmitora glutamata i GABA-e (210).

1.5.4.4.2 Mehanizmi i uloga dopamina u shizofreniji

Prema „izvornoj“ dopaminskoj hipotezi hiperaktivnost određenih dopaminskih neuronskih putova u mozgu, koja može biti uzrokovana prevelikim otpuštanjem dopamina iz živčanih završetaka ili većim broj dopaminskih receptora ili njihovom povećanom osjetljivosti ili pak prekomjernom aktivacijom signalnih putova, odgovorna je za simptome shizofrenije (231, 232). Također je pokazano da su pozitivni simptomi shizofrenije, koji uključuju halucinacije i sumanutosti, povezani s povećanim supkortikalnim otpuštanjem dopamina uzrokujući tako povećanu aktivaciju D_2 receptora i poremećaje neuronskog puta između korteksa i nukleusa akumbensa (193, 233). S druge strane, negativni simptomi, koji uključuju anhedoniju, manjak motivacije i siromaštvo govora, povezani su sa smanjenim aktivacijom D_1 receptora u prefrontalnom korteksu i smanjenom aktivnosti *nucleusa caudatusa* (193, 233). Također je utvrđeno da promjene u D_3 receptorima u strijatumu miševa mogu biti povezane s negativnim simptomima shizofrenije (234).

Stoga, „revidirana“ dopaminska hipoteza povezuje hiperaktivnu dopaminsku transmisiju u mezolimbičkim područjima i hipoaktivnu dopaminsku transmisiju u prefrontalnom korteksu s razvojem shizofrenije (232, 235, 236).

Povišena koncentracija, odnosno sinaptičko otpuštanje dopamina u strijatumu bolesnika sa shizofrenijom utvrđeno je u nekoliko istraživanja (232, 237). Povišena koncentracija i aktivnost dopamina u strijatumu putem D_2 receptora, povezana je s razvojem psihotičnih simptoma (238). Smanjena koncentracija D_2 receptora u talamusu i anteriornom cingularnom korteksu može upućivati na abnormalnosti u dopaminskoj transmisiji senzornih signala između talamusa i prefrontalnog korteksa, s obzirom na to da se talamus smatra svojevrsnom kontrolnom točkom putova prema korteksu te svaka pretjerana aktivnost koja potiče iz talamusa može dodatno uzrokovati poremećaje neurotransmisije u raznim dijelovima mozga (239).

Nadalje, kognitivni deficiti u shizofreniji povezani su sa smanjenjem dopamina u prefrontalnom korteksu, posebice na razini D_1 receptora, no i s neravnotežom između D_1 i D_2 receptora u prefrontalnom korteksu (240, 241). Nekoliko je istraživanja pokazalo da i visoke koncentracije dopamina, kao one koje se otpuštaju tijekom stresa, također mogu poremetiti funkciju prefrontalnog korteksa (tzv. *Yerkes-Dodson zakon*, odnosno „*Inverted U“ krivulja*), što dovodi do zaključka da ili premala ili prevelika stimulacija D_1 receptora dovodi do smanjenog okidanja neurona u prefrontalnom korteksu i tako utječe na radnu memoriju (242).

Poremećena aktivnost radne memorije u prefrontalnom korteksu također je pod utjecajem mezokortikalnog dopaminskog sustava te smanjena učinkovitost glutamatne transmisije u kortikomezencefaličkim projekcijama prema središnjem mozgu dovodi do nestabilnosti u kojoj mali porast dopaminskog otpuštanja uzrokuje ogroman porast aktivnosti prefrontalnog korteksa što ju u skladu sa spomenutom „*Inverted U*" principom i može biti povezano s nekonzistentnom aktivacijom dorzolateralng prefrontalnog korteksa u pacijenata sa shizofrenijom (243). Također, ekstrastrijatalna dopaminska transmisija nužna je u pažnji i radnoj memoriji te poremećaji u fronto-strijato-talamičkom putu povezani su s poremećenim kognitivnim sposobnostima u shizofreniji (232, 244).

Također, polimorfizam gena za katehol-o-metiltranferazu (COMT), glavni enzim za razgradnju kateholamina, mijenja aktivnost samog enzima te u slučaju smanjene aktivnosti enzima dovodi do povećane koncentracije dopamina i aktivnosti D_1 receptora u prefrontalnom korteksu i time potvrđuje povezanost kognitivnih sposobnosti i dopamina (245).

U štakorskom modelu shizofrenije utvrđeno je da aktivacija ventralnog hipokampusa povećava broj dopaminskih neurona koji spontano okidaju te time povećava osjetljivost dopaminskog sustava na faznu aktivaciju glutamatnih aferentnih neurona. To može dovesti do pretpostavke da je poremećena aktivnost hipokampusa mogući temelj disregulacije dopamina u shizofreniji (246).

Zabilježene su i mnoge interakcije dopamina i drugih neurotransmitora u mozgu te njihovih međusobnih regulacija. Tako su recimo NMDA receptori, D_1 receptori u prefrontalnom korteksu i D_2 receptori u strijatumu povezani pozitivnom povratnom spregom (232, 247). Putem otpuštanja GABA-e i aktivnosti $GABA_B$ receptora koji su stimulirani s NMDA-om, glicin smanjuje otpuštanje dopamina utječući na funkciju dopaminskog prijenosnika (248). Presinaptičkim mehanizmima, dopamin smanjuje otpuštanje glutamata u piramidalnim neuronima u prefrontalnom korteksu (232, 249), a dopaminski neuroni u određenim uvjetima otpuštaju i glutamat, endogene kanabinoide i serotonin (250).

1.5.4.5 Serotonin

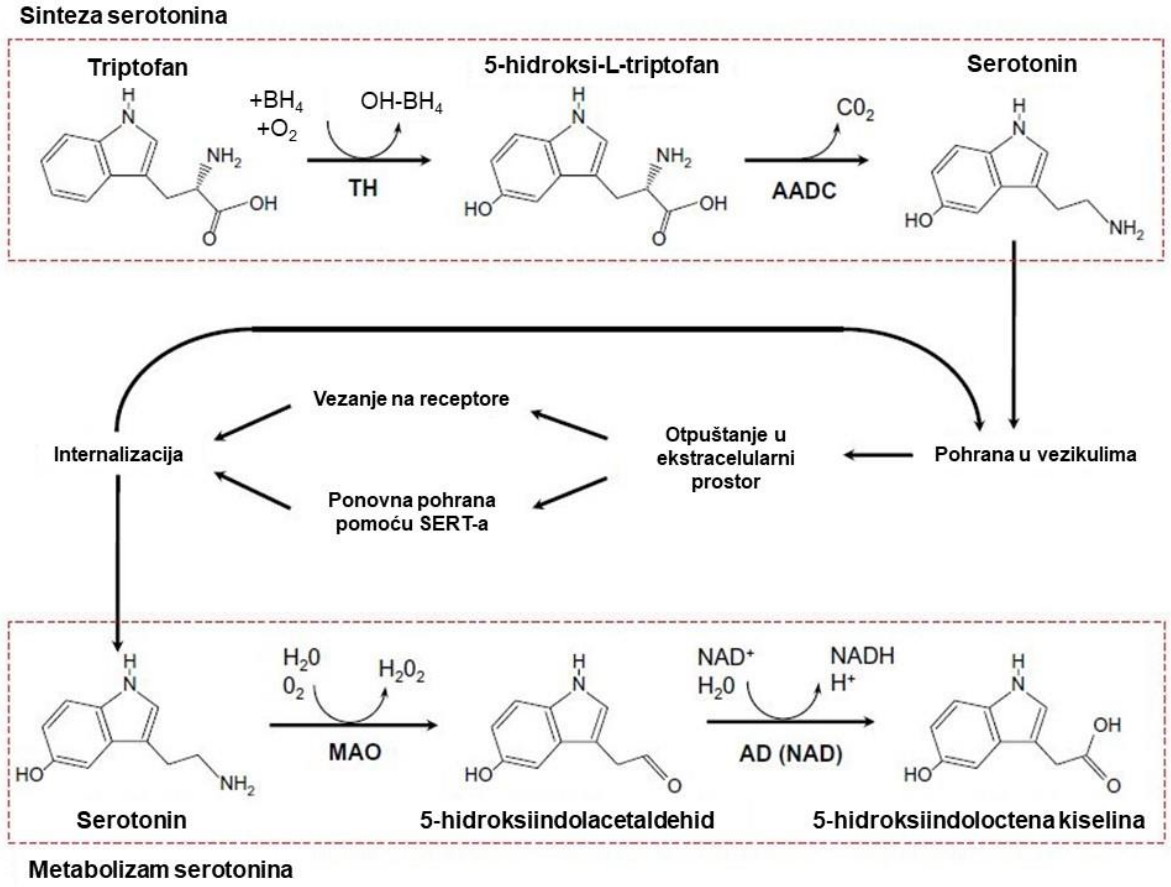
Serotonin je monaminski neurotransmitor čija uloga u shizofreniji još nije u potpunosti razjašnjenja te predstavlja sve češći predmet istraživanja.

Serotonin ili 5-hidroksitriptamin (5-HT) je indolamin koji posreduje mnoge fundamentalne obrasce ponašanja kao što su cirkadijalni ritam, apetit, agresija i emocije, te nije čudno da su abnormalnosti u serotoninskoj neurotransmisiji povezane s patogenezom različitih psihijatrijskih bolesti uključujući depresiju, anksioznost, shizofreniju i opsesivno kompulzivni poremećaj (251). Serotonin nema važnu ulogu samo u mozgu nego i u ostatku tijela poput regulacije lokalne cirkulacije u crijevima, motiliteta, peristaltičkog refleksa i sekrecije, inhibira aktivnost osteoblasta i potiče aktivnost osteoklasta te sudjeluje u vazodilataciji i vazokonstrikciji (252, 253).

Prema serotoninskoj hipotezi, u patofiziologiji shizofrenije postoji potencijalna uloga poremećene funkcije serotoninskog sustava. Serotoninska hipoteza iznikla je iz ispitivanja povezanosti između halucinogenih droga (*dietilamid D-lizerginske kiseline*, LSD) i serotonina. Kasnija ispitivanja pokazala su da dvije glavne skupine psihodeličnih halucinogena, indolamini (npr. LSD) i fenetilamini (npr. meskalin) ispoljavaju svoj središnji učinak preko serotoninskih receptora (254). Također, otkriće klozapina, lijeka koji ima odlična antipsihotička svojstva i malu vjerojatnost za ekstrapiramidalne nuspojave u usporedbi s tipičnim antipsihoticima, zbog svojeg mehanizma djelovanja i visokog afiniteta prema serotoninskim receptorima učvrstili su hipotezu o ulozi serotoninskog sustava u shizofreniji (255).

Serotonin se najvećim dijelom sintetizira u gastrointestinalnom traktu, dok se samo mali postotak sintetizira u mozgu (256). Sintetizira se iz esencijalne aminokiseline triptofana koja se prenosi iz plazme u mozak aktivnim transportom. Nakon toga, dva enzima pretvaraju triptofan u serotonin; prvo triptofan-hidroksilaza pretvara triptofan u 5-hidroksitriptofan a nakon toga aromatska aminokiselinska dekarboksilaza 5-hidroksitriptofan pretvara u 5-hidroksitriptamin (5-HT), odnosno serotonin (198, 257). Nakon sinteze, serotonin se pomoću vezikularnog monoaminskog prijenosnika (engl. *vesicular monoamine transporter*, VMAT2) prenosi u sinaptičke vezikule gdje se pohranjuje (198). Serotonin se uglavnom razgrađuje u sinaptičkoj pukotini pomoću enzima monoamin-oksidaze (MAO), ponaviše s podtipom MAO-A. Također, aktivnost serotonina u sinaptičkoj pukotini se smanjuje presinaptičkim prijenosnikom za serotonin (engl. *serotonin transporter*, SERT) koji je specifičan za serotonin i koji ga iz

sinaptičke pukotine unosi ponovno u presinaptički živčani završetak gdje se ponovno može pohraniti (198).



Slika 4. Sinteza i metabolizam serotonina. BH4, tetrahidrobiopterin; TH, triptofan-hidroksilaza; AADC, aromatska aminokiselinska dekarboksilaza; MAO, monoamin-oksidaza; AD(NAD), NAD ovisna alkohol-dehidrogenaza. Preuzeto i prilagođeno iz Ruddel i sur. 2008. (258)

1.5.4.5.1 Serotoninski sustav u mozgu

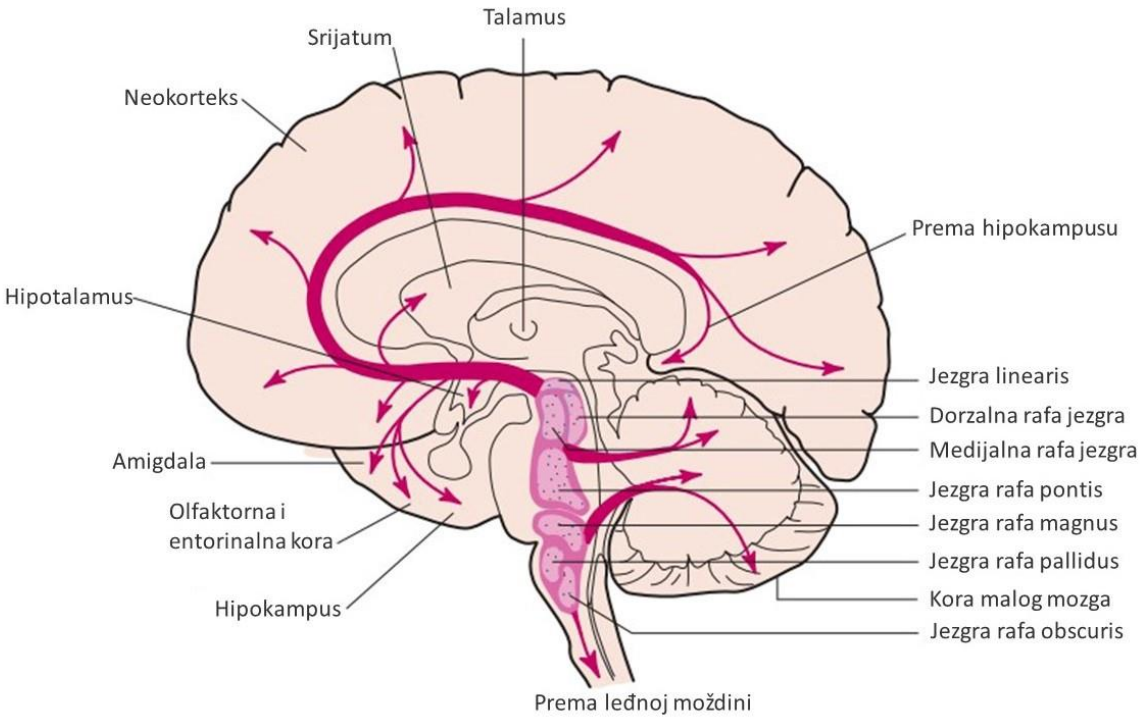
1.5.4.5.1.1 Serotoninske projekcije

Procjenjuje se da se u mozgu nalazi nekoliko stotina tisuća serotoninskih neurona uglavnom smještenih u moždanom deblu odnosno u jezgrama rafe (*raphe nuclei*). Istraživanje funkcija serotoninskih projekcija izazovno je zbog nekoliko razloga; zbog njihove opsežnosti, zbog toga što jezgre rafe sadrže više vrsta neurona od kojih samo manji broj proizvodi serotonin (što otežava fiziološka očitanja) i zbog velikog broja serotoninskih receptora čiji su specifični antagonisti tek odnedavno dostupni (203).

Serotoninski neuroni grupirani su i smješteni u nekoliko jezgara rafe u moždanom deblu u području od srednjeg mozga do produžene moždine i tvore kontinuum stanica slabo definiranih granica (256, 259). Na temelju studija lokalizacije tijela neurona i njihovih projekcija, serotoninski neuroni podijeljeni su u dvije skupine (256, 260);

- rostralna skupina, koja je smještena u mezencefaličnom i rostralnom ponsu čiji aksoni sežu do prednjeg mozga i inerviraju lateralni korteks, hipotalamus, bazalni prednji mozak, septum, bazalne ganglije i amigdalu
- kaudalna skupina, koja je smještena u kaudalnom ponsu i produženoj moždini čiji aksoni sežu do srednjeg mozga i leđne moždine i inerviraju kranijalne motorne jezgre (trigmeninalnu, facijalnu i hipoglosalnu) te cijelu leđnu moždinu

Pojedinačni serotoninski neuron projicira prema velikom broju postsinaptičkih stanica preklapajući se i s drugim serotoninskim neuronima (259). Rostralna grupa neurona čini 85 % serotoninskih neurona, dok kaudalna skupina čini 15 % ukupnog broja serotoninskih neurona u čovjeka. Kao što je spomenuto rostralna i kaudalna skupina imaju odvojene aferentne projekcije, no obje projiciraju prema moždanom deblu (Slika 5) (256).



Slika 5. Glavni serotoninski putovi u mozgu: Serotoninski neuroni proizlaze iz rostralne i kaudalne skupine jezgara. Rostralna skupina uključuje jezgru linearis, dorzalnu jezgru rafe, madijalnu jezgu rafe i jezgru rafa pontis i inervira većinu mozga uključujući i mali mozak. Kaudalna skupina uključuje rafa magnus, rafa pallidus i rafa obscuris te inervira mali mozak, moždano deblo i leđnu moždinu. Preuzeto i prilagođeno iz Malenka i sur. 2009. (203).

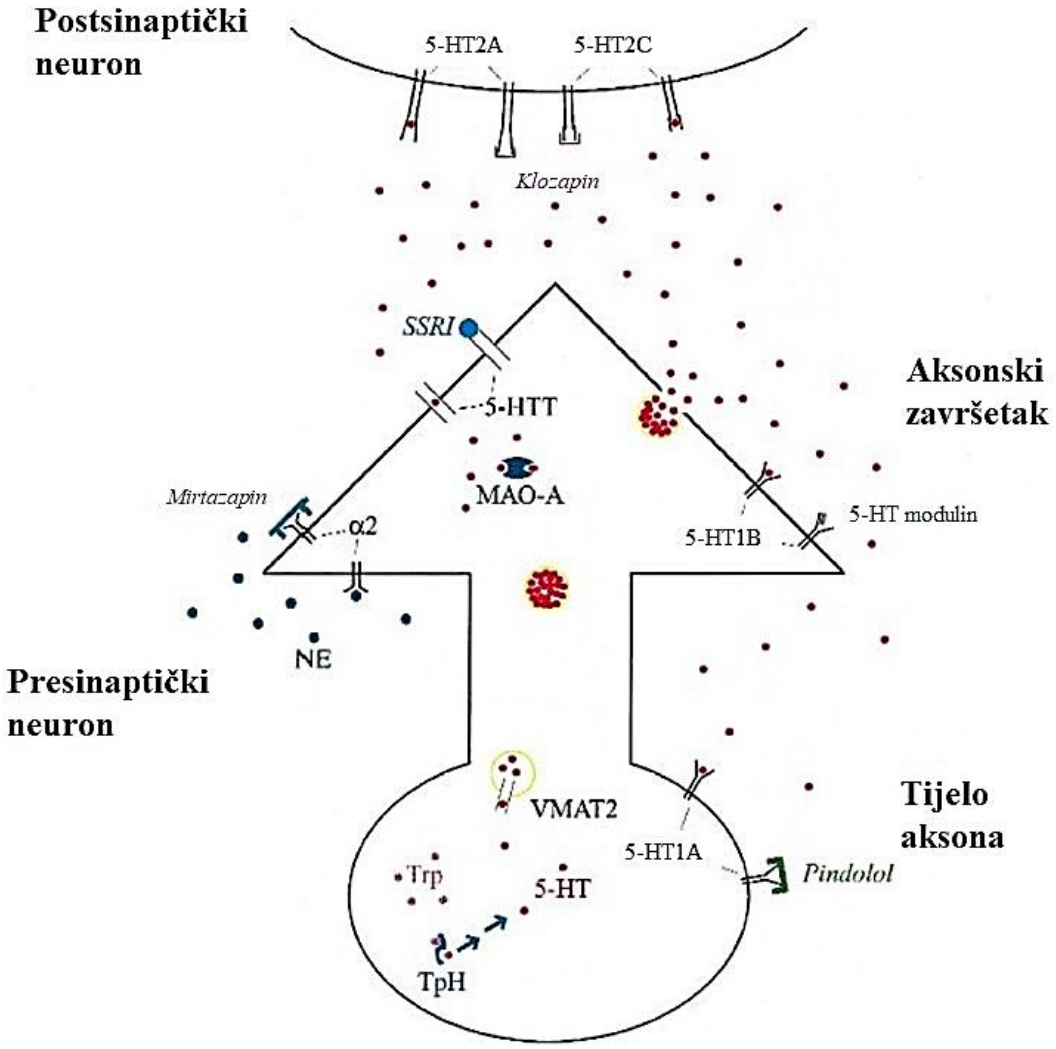
1.5.4.5.1.2 Serotoninski receptori

Velika raznolikost i kompleksnost uloga serotonina u mnogim tjelesnim funkcijama uvelike se može pripisati i velikom broju različitih skupina serotoninskih receptora. Serotoninski receptori su podijeljeni u sedam različitih skupina 5-HT_1, 5-HT_2, 5-HT_3, 5-HT_4, 5-HT_5, 5-HT_6, 5-HT_7 te njihovih podskupina (Tablica 2.). Receptori su rasprostranjeni u presinaptičkim i postsinaptičkim neuronima u središnjem živčanom sustavu i različitim perifernim stanicama i tkivima. Od navedenih skupina receptora svi osim 5-HT_3 receptora su receptori povezani s G-proteinima, dok su 5-HT_3 receptori ionski receptori (257). Serotoninska aktivnost utječe na procese spavanja i budnosti, izvršne funkcije prefrontalnog korteksa, afektnog ponašanja, agresije, učenja i pamćenja te modulacije boli (260)

Tablica 2. Skupine serotoninskih receptora, njihova rasprostranjenost i funkcije

Serotoninski receptor	Područje mozga	Predložene funkcije
5-HT$_{1A}$	Rafe n., hyp, hip, amy CPu, Cx, Fcx	regulacija aktivnosti serotonina, termoregulacija, apetit, stres, bol, raspoloženje, emocije, kognicija, učenje, pamćenje
5-HT$_{1B}$	SN /VTA, ACN, CPu Ventral palidum, Cx	regulacija aktivnosti serotonina, raspoloženje, apetit
5-HT$_{1D}$	CPu, Ventral palidum, Fcx	regulacija aktivnosti serotonina, raspoloženje, apetit
5-HT$_{1E}$	CPu, Hyp, Cx	(?)
5-HT$_{1F}$	Ce, Hip, Cx	raspoloženje, emocije
5-HT$_{2A}$	Dorzalni vagalni kompleks hipoglosalni n, inferiorni olivarni kompleks, Thal, CPu, Cx, FCx	raspoloženje, kontrola disanja, apetit, bol
5-HT$_{2B}$	Ce (?), LS (?), Hyp (?) Cx (?)	razvoj mozga (?), apetit (?)
5-HT$_{2C}$	Koroidni pleksus, Ce, DRN, SN, Hyp, Amy, Hip, CPu, ACN, Cx	raspoloženje, impulzivnost, apetit, lokomotorna aktivnost
5-HT$_{3A-E}$	Dorsalni vagalni kompleks, Hip, Amy, Cpu	refleks povraćanja, raspoloženje
5-HT$_{4}$	Hyp, Hip, ACN, Cpu	apetit, sustav nagrade, kognicija
5-HT$_{5A}$	Ce, Hyp, Thal, Hip, Cx	cirkadijalni ritam, spavanje, raspoloženje, kognicija
5-HT$_{6}$	Hip, CPu, Cx, olfaktorni tuberkul	kognicija, učenje, pamćenje, apetit
5-HT$_{7}$	Rafe n., Hyp, Tha, Hip, Amy, Cx	raspoloženje spavanje, kognicija

**ACN, accumbens; Amy, amigdala; cc, žuljevito tijelo; Ce, mali mozak; CPu, caudate putamen; Cx, korteks; DRN, dorzalna rafa jezgra; Fcx, fronatlni korteks; Hip, hipokampus; Hyp, hipotalamus; LS, lateralni septum; SN, supstancija nigra; Tha, talamus; VTA, ventralno tegmentalno područje – preuzeto iz Charnay Y. i sur., Brain serotonergic circuitries, 2010. (256)*



Slika 6. Shematski prikaz serotoninske sinapse. Triptofan-hidroksilaza (TpH) katalizira sintezu serotoinina (5-hidroksitriptamina, 5-HT) iz triptofana (Trp). Vezikularni monoaminski prijenosnik tipa 2 (VMAT2) pohranjuje 5-HT u vezikule. Vezikule otpuštaju 5-HT u sinaptičku pukotinu gdje se veže na postsinaptičke receptore uključujući 5-HT_{2A} i 5-HT_{2C} receptore. 5-HT se također veže na somatodendritičke (5-HT_{1A}) i terminalne (5-HT_{1B}) autoreceptore. 5-HT regulira odgovor autoreceptora na 5-HT. Serotoninski prijenosnik (5-HTT) ponovno pohranuje serotonin iz sinaptičke pukotine u presinaptički neuron. Unutar presinaptičkog neurona monoamin-oksidaza (MAO) razgrađuje 5-HT. Noradrenalin (norepinefrin, NE), utječe na serotoninski neuron vežući se za α_2 adrenergički receptor. Klozapin djeluje kao antagonist na 5-HT_{2A} i 5-HT_{2C} receptore, dok selektivni inhibitori ponovne pohrane serotonina (SSRI) blokiraju 5-HTT. Pindolol djeluje kao antagonist autoreceptora 5-HT_{1A}. Mirtazapin djeluje kao antagonist α_2 adrenergičkog receptora. Preuzeto i prilagođeno iz Veenstra-VanderWeele i sur. (2000) (261)

5-HT$_1$ skupina serotoninskih receptora

5-HT$_1$ skupina receptora sastoji se od 5-HT$_{1A}$, 5-HT$_{1B}$, 5-HT$_{1D}$, 5-HT$_{1E}$, 5-HT$_{1F}$ podskupina serotoninskih receptora. To su receptori povezani s Gi podskupinom G-proteina preko kojih inhibiraju adenil-ciklazu, otvaraju kalijeve kanale i zatvaraju kalcijeve kanale (260, 262).

5-HT$_{1A}$ receptori

5-HT$_{1A}$ receptori se u najvećoj koncentraciji nalaze u kortikalnim i limbičkim sustavima (npr. hipokampus, entorinalni korteks, septum, amigdala, frontalni korteks, hipotalamus, jezgra rafe). Takva raspodjela receptora upućuje na ulogu tih receptora u kognitivnim i integrativnim funkcijama kao i emocionalnim obrascima. Ovi receptori u najvećoj mjeri nalaze se postsinaptički no također su u velikoj mjeri prisutni i na tijelu serotoninskog neurona, posebice u dorzalnoj i medijalnoj jezgri rafe, gdje djeluju kao somatodendritički autoreceptori koji negativnom povratnom spregom reguliraju otpuštanje i sintezu serotonina i imaju ključnu ulogu u regulaciji serotoninske neurotransmisije. Aktivacija 5-HT$_{1A}$ receptora u središnjem živčanom sustavu rezultira različitim fiziološkim i bihevioralnim odgovorima kao što su izmedu ostalog regulacija apetita, tjelesne temperature, spolnog nagona i emocionalnih obrazaca ponašanja kao što su strah, anksioznost i agresija (260, 262).

5-HT$_{1B/1D/1E/1F}$ receptori

5-HT$_{1B}$ receptori su u najvećoj koncentraciji smješteni u bazalnim ganglijima, posebice u globusu palidusu i substanciji nigri što bi te receptore moglo povezati s bolestima mozga kao što je Parkinsonova bolest. Nalaze se na presinaptičkim završecima i kao autoreceptori na aksonalnom završetku reguliraju otpuštanje serotonina. Nalaze se i postsinaptički gdje možda sudjeluju u regulaciji drugih neurotransmitora kao što se acetilkolin u hipokampusu i dopamin u prefrontalnom korteksu (198, 260, 262).

Točan smještaj 5-HT$_{1D}$ receptora teško je odrediti zbog malog broja dostupnih specifičnih liganada za ove receptore, no vezna mjesta pronađena su na području bazalnog ganglija (globus palidus, substancija nigra, *caudate putamen*), hipokampusa i korteksa, te se smatra da su ovi receptori povezani s regulacijom otpuštanja serotonina iz dorzalne jezgre rafe i trigeminalnom nocicepcijom (262).

5-HT_{1E} receptori najzastupljeniji su u entorinalnom korteksu i putamenu i njihova uloga nije još uvijek u potpunosti poznata (262).

5-HT_{1F} receptori nalaze se u korteksu, hipokampusu, leđnoj moždini i mezenteriju te njihova uloga također nije u potpusnosti razjašnjena (262).

5-HT_2 skupina serotoninskih receptora

5-HT_2 skupina receptora, koja se sastoji se od 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C} podskupina serotoninskih receptora, vezani su na Gq podskupinu G-proteina te imaju ekscitacijski učinak zatvaranjem kalijevih kanala ili otvaranjem neselektivnih kationskih kanala (259, 262). Signalnim putem preko fosfolipaze C povećavaju koncentraciju intracelularnog kalcija (262, 263). 5-HT_2 receptori ponajviše su eksprimirani u neokorteksu, primarnom olfaktornom korteksu, klaustrumu i olfaktornom tuberkulu (259). Smatra se da 5-HT_2 skupina receptora posreduje u halucinogenom učinku serotoninskih agonista kao što je LSD, što je pokazano u studijama na životinjama (262).

5-HT_{2A} receptori

5-HT_{2A} receptori povezani su s procesima učenja, pamćenja i neurogeneze, kao i s mentalnim poremećajima kroz kompleksnu etiologiju koja još nije u potpusnosti razjašnjena. Također, postoji veliki broj lijekova kojima su ciljna mjesta upravo ti receptori. 5-HT_{2A} receptori ispitivani su najčešće u kontekstu središnjeg živčanog sustava, no velika razina ekspresije u drugim područjima kao što su crijeva, trombociti i endotelne stanice upućuje na ključnu ulogu tih receptora i u drugima aspektima fiziologije (263). Njihova uloga u mozgu očituje se regulacijom hormonske sekrecije, raspoloženja, percepcije i različitih ponašanja (257).

Svi 5-HT_{2A} receptori su postsinaptički i smješteni su u raznim moždanim regijama (198). Istraživanja ekspresije 5-HT_{2A} receptora raznim imunokemijskim metodama pokazala su visoku razinu ekspresije u svim slojevima korteksa od kojih je sloj 5 imao najveću koncentraciju. Piramidalni neuroni frontalnog, insularnog, orbitalnog, parijetalnog, entorinalnog, piriformnog, i dubokog sloja cingularnog korteksa pokazali su ekspresiju 5-HT_{2A} receptora (263). U korteksu, 5-HT_{2A} receptori pronađeni su i određenim astrocitima. Receptori

su također pronađeni i u bazalnom gangliju i prednjem mozgu, hipokampusu, amigdali, girusu dentatusu i cerebelumu tijekom razvoja (263-265).

5-HT_{2A} receptori imaju vrlo važnu ulogu u shizofreniji. Gotovo svi atipični antipshiotici kao i mnogi halucinogeni vežu se na 5-HT_{2A} receptore (263, 266-268). Na temelju istraživanja predložena je hipoteza da 5-HT_{2A} receptori modulirajući otpuštanje dopamina u strijatumu i korteksu uzrokuju motorne i kognitivne deficite u shizofreniji (263). 5-HT_{2A} receptori smješteni na kortikalnim piramidalnim neuronima djeluju ekscitacijski i time posljedično potiču otpuštanje glutamata koji regulira daljnje otpuštanje dopamina. Aktivacijom kortikalnih 5-HT_{2A} receptora smanjuje se otpuštanje dopamina u strijatumu dok blokada kortikalnih 5-HT_{2A} receptora dovodi do povećanog otpuštanja dopamina iz substancije nigre u strijatum. Nadalje, stimulacija 5-HT_{2A} receptora u strijatumu i substanciji nigri dovodi do smanjenja otpuštanja dopamina dok njihova blokada uzrokuje povećano otpuštanje dopamina. Stoga, stimulacija ili inhibicija 5-HT_{2A} receptora utječe na otpuštanje i regulaciju dopamina (198).

Genetička ispitivanja, međutim, nisu dala kozistentne rezultate te do danas ni jedan polimorfizam gena za 5-HT_{2A} receptor nije konzistentno povezan sa shizofrenijom ili bilo kojim od simptoma ove bolesti (257, 263).

5-HT_{2B} receptori

Aktivacija 5-HT_{2B} receptora rezultira kontrakcijom fundusa glatkog misićja. Ekspresija 5-HT_{2B} receptora pronađena je u fundusu želuca, crijeva, bubrega, srca i pluća, ali i u mozgu (mali mozak, cerebralni korteks, amigdala, substancija nigra, kaudatus, talamus, hipotalamus i retina) (262).

5-HT_{2C} receptori

5-HT_{2C} receptori su u velikoj mjeri prisutni u koroidnom pleskusu te se smatra da aktivacija 5-HT_{2C} receptora regulira sastav i volumen cerebrospinalne tekućine. 5-HT_{2C} receptori se nalaze posebice u limbičkom sustavu (hipotalamusu, hipokampusu, septumu, neokorteksu i prefrontalnom korteksu) i djelovima povezanima s motoričkim funkcijama (substancija nigra i glubus palidus) (262). 5-HT_{2C} receptori imaju važnu ulogu u posredovanju aktivnosti u brojnim strukturama bazalnih ganglija kao što su supstancija nigra *pars reticulata,* supstancija nigra *pars compacta*, ventralno tegmentalno područje, strijatum i globus palidus pa sve do subtalamičke jezgre (260). 5-HT_{2C} receptori su postsinaptički receptori koji reguliraju

otpuštanje i dopamina i noradrenalina. Stimulacijom tih receptora dolazi do smanjenja otpuštanja dopamina i to u većoj mjeri u mezolimbičkom nego u nigrostrijatalnom putu što dovodi do mogućeg antipsihotičkog učinka s manjom pojavom ekstrapiramidalnih nuspojava što je jedan od mehanizama djelovanja atipičnih antipsihotika (198, 247).

5-HT$_3$ serotoninski receptori

Za razliku od ostalih serotoninskih receptora, koji su povezani s G proteinima, 5-HT$_3$ receptori su jedini ionski receptori. Smješteni su i u perifernom i središnjem živčanom sustavu. U perifernom živčanom ustavu imaju važnu ulogu simpatičkim, parasimpatičkim i senzornim funkcijama, reguliraju motilitet crijeva i peristaltiku te imaju ulogu i u urinarnom traktu (269). U središnjem živčanom sustavu imaju važnu ulogu u raznim funkcijama poput refleksa povraćanja, kognicije i anksioznosti. Smješteni su u mnogim područjima mozga uključujući korteks, hipokampus, nukleus akumbens, supstanciju nigru i ventralno tegmentalno područje, s tim da su najviše razine ovih receptora utvrđene u moždanom deblu, posebice u područjima koja su uključena u refleks povraćanja. Aktivacija 5-HT$_3$ receptora, koji su smješteni i presinaptički i postsinaptički, pospješuje otpuštanje različitih neurotransmitora uključujući dopamin, kolecistokinin i GABA-u. Stoga su 5-HT$_3$ receptori predmet istraživanja u psihološkim poremećajima poput shizofrenije i bipolarnog poremećaja (269).

5-HT$_5$ serotoninski receptori

Ekspresija 5-HT$_5$ receptora utvrđena je u cerebralnom korteksu, hipokampusu, malom mozgu, amigdali, dorzalnoj jezgri rafe. Trenutno, njihova funkcija još uvijek nije dovoljno poznata (260, 262).

5-HT$_4$, 5-HT$_6$ i 5-HT$_7$ serotoninski receptori

5-HT$_4$, 5-HT$_6$ i 5-HT$_7$ serotoninski receptori povezani su s G-proteinima te njihovom aktivacijom stimulira se adenil ciklaza i povećava stvaranje cAMP-a.

5-HT$_4$ receptori smješteni su prevenstveno u strijatumu, supstanciji nigri i olfaktornom tuberkulu. Locirani su postsinaptički te moduliraju otpuštanje nekoliko neurotransmitora uključujući acetilkolin, dopamin i GABA-u te neizravno i serotonin. Njihova aktivacija pospješuje kognitivne funkcije u štakora i majmuna (262).

Ekspresija 5-HT_6 receptora zabilježena je u strijatumu, nukleusu akumbensu, olfaktornom tuberkulu, hipokampusu i frontalnom i entorinalnom korteksu. Imaju visoki afinitet za antipshihotike i antidepresive kao što su klozapin, olanzapin, amitriptilin, klopiramid, što je potaklo istraživanja njihove povezanosti s kognitivnim oštećenjima (260, 262). Blokiranjem ovih receptora poboljšava se sposobnost učenja i pamćenja u eksperimentalnih životinja, a lijekovi koji djeluju kao 5-HT_6 antagonisti predloženi su kao lijekovi u liječenju kognitivnih simptoma u shizofreniji (198).

5-HT_7 receptori utvrđeni su u korteksu, septumu, talamusu, hipotalamusu, amigdali i hipokampusu. Pretpostavlja se da imaju ulogu u cirkadijalnom ritmu. Također, smatra se da imaju ulogu i u psihijatrijskim poremećajima, jer atipični antipsihotici pokazuju visoki afinitet za te receptore (262).

1.5.4.5.2 Mehanizmi i uloga serotonina u shizofreniji

Prema serotoninskoj hipotezi, poremećena funkcija serotoninskog sustava ima veliku ulogu u patofiziologiji shizofrenije. Ta hipoteza temeljena je na istraživanjima povezanosti serotonina i halucinogenih droga (LSD) koji svoj učinak ostvaruju preko serotoninskih receptora (254). Također, otkriće klozapina, lijeka koji ima odlična antipsihotička svojstva i malu vjerojatnost izazivanja ekstrapiramidalnih nuspojava u usporedbi s tipičnim antipsihoticima, zbog svojeg mehanizma djelovanja i visokog afiniteta prema serotoninskim receptorima učvrstilo je hipotezu o ulozi serotoninskog sustava u shizofreniji (255).

Ustanovljeno je i da stresom potaknuta aktivnost dorzolateralne jezgre rafe, kao glavnog izvora serotoninskih neurona, uzrokuje prekomjernu serotoninsku stimulaciju moždanog korteksa u bolesnika sa shizofrenijom, posebice u anteriornom cingularnom korteksu i dorzolateralnom frontalnom režnju i dovodi do poremećene glutamatne signalizacije uzrokujući time smanjeni metabolizam neurona, sinaptičku atrofiju, i smanjenje sive tvari u skladu s principima plastičnosti mozga. Prema tome, normalna dopaminska transmisija u oštećenom cingularnom korteksu uzrokuje pozitivne simptome, dok smanjena aktivnost frontalnog režnja uzrokuje negativne simptome i kognitivne poremećaje (270, 271).

Neuromodularni učinak serotonina na različite neurotransmitore postiže se putem različitih postsinaptičkih serotoninskih receptora, no precizni molekularni mehanizmi još nisu u potpunosti razjašnjeni. Prefrontalni korteks, kao što je već spomenuto, uključen je u mnoge funkcije kao što su radna memorija, izvršne funkcije, kontrola emocionalne signalizacije i ovisi

o opsežnim i recipročnim vezama različitih kortikalnih i subkortikalnih struktura. Prefrontalni korteks uglavnom se sastoji od ekscitacijskih (glutamatnih) i inhibicijskih (GABA) neurona. Glutamatni (piramidalni) neuroni projiciraju u kortikalne i subkortikalne regije dok GABA interneuroni, svojom funkcijom inhibicije, kontroliraju aktivnost piramidalnih neurona (260). Piramidalni neuroni opsežno projiciraju u dorzalnu jezgru rafe, koja je odgovorna za povratnu serotoninsku inervaciju prefrontalnog korteksa. Takve serotoninske projekcije na piramidalne i GABA neurone mogu imati ekscitacijski (putem 5-HT_{2A}, 5-HT_3, 5-HT_4, 5HT_6, i 5-HT_7) i inhibicijski učinak (uglavnom putem 5-HT_{1A}). Stoga, učinak serotoninskog sustava na prefrontalni korteks izravno ovisi o ravnoteži djelovanja na različite serotoninske receptore (260).

Interakcija serotonina i dopamina

S obzirom na to da su serotoninski i dopaminski sustavi uključeni u mnogobrojne ključne funkcije mozga te imaju važnu ulogu u podlozi raznih psihijatrijskih poremećaja, njihova medusobna interakcija predmet je mnogih istraživanja.

Glavni dopaminski putovi kao što su nigrostrijatalni, čije je ishodište u supstanciji nigri, mezolimbički, čije je ishodište ventralno tegmentalno područje i koji projicira u nucleus akumbens te mezokortikalni koji također proizlazi iz verntralnog tegmentalnog područja a projicira u prefrontalni korteks, inervirani su serotoninskim neuronima koji proizlaze iz dorzalne jezgre rafe (271-275). Lokalna primjena serotonina, ili električna stimulacija dorzalne jezgre rafe izaziva ekscitaciju i/ili inhibiciju dopaminskih neurona ventralnog tegmentalnog područja (276, 277). Ekscitacijski ili inhibicijski učinak ovisi o tipu serotoninskog receptora i vrsti stanice. Stoga bi promjene u serotoninskom sustavu mogle biti odgovorne za disregulaciju dopaminske funkcije u shizofreniji (260).

Nekoliko istraživanja opisalo je prisutnost 5-HT_{1A} receptora u ventralnom tegmentalnom području koji su smješteni na dopaminskim i nedopaminskim neuronima (278, 279). Sistemska administracija agonista 5-HT_{1A} receptora postiže dvostruki učinak na dopaminske neurone ventralnog tegmentalnog područja na način da su niske doze rezultirale povećanjem brzine i broja okidanja dok su visoke doze rezultirale smanjenjem okidanja što za posljedicu ima sukladne promjene u otpuštanju dopamina u ventralnom tegmentalnom području i prefrontalnom korteksu (260, 280, 281).

5-HT_{2A} receptori također su smješteni i na dopaminskim i nedopaminskim neuronima (najvjerojatnije GABA neuronima) u ventralnom tegmentalnom području, ali i supstanciji nigri (281-284). U studijama na štakorima opaženo je da primjena liganda 5-HT_{2A} receptora modulira dopaminsku i noradrenalinsku transmisiju u prefrontalnom korteksu (285-287). Osim 5-HT_{2A} receptora i 5-HT_{2C} receptori imaju važnu ulogu u regulaciji dopaminske funkcije jer tonički inhibiraju frontokortikalne dopaminergičke putove stimulacijom GABA interneurona (285). Također, agonisti 5-$HT_{2C/2B}$ receptora smanjuju okidanje dopaminskih neurona dok antagonisti 5-$HT_{2C/2B/2A}$ receptora stimuliraju dopaminske neurone u ventralnom tegmentalnom području (288, 289), što dovodi do zaključka da serotonin kontrolira funkciju dopaminskih receptora preko navedenih podskupina serotoninskih receptora.

S druge strane, značajna koncentracija dopamina izmjerena je u dorzalnoj jezgri rafe u kojoj se nalazi najveći broj serotoninskih neurona kao i veliki broj D_2 dopaminskih receptora (290). Dopaminski neuroni koji se nalaze van dorzalne jezgre rafe, npr. u supstanciji nigri, recipročno kontroliraju aktivnost serotoninskih neurona u dorzalnoj jezgri rafe. Električna stimulacija supstancije nigre smanjila je aktivnost serotoninskih neurona iz dorzalne jezgre rafe, dok je s druge strane, stimulacija dopaminskih receptora apomorfinom povećala otpuštanje serotonina u dorzalnoj jezgri rafe i prednjem mozgu. Takva opažanja dovode do zaključka da se dopaminski i serotoninski sustavi međusobno i recipročno reguliraju (291).

1.6 Liječenje shizofrenije

Farmakološko liječenje shizofrenije ključna je komponenta u kratkoročnoj i dugoročnoj terapiji shizofrenije (292). Zbog prevencije relapsa simptoma i održavanja društvenog funkcioniranja, liječenje shizofrenije traje cijeli život te je pravovremeni početak terapije ključan u prevenciji ireverzibilnih poremećaja ličnosti. U liječenju shizofrenije prioritet je liječenje pozitivnih simptoma (halucinacija, sumanutosti, paranoidnih misli), međutim postoji velika potreba za liječenjem i negativnih i kognitivnih simptoma, koji predstavljaju najveću prepreku u pokušaju normalizacije života bolesnika sa shizofrenijom. Nažalost, učinkovitost lijekova u suzbijanju negativnih, kognitivnih i afektivnih simptoma, iako je njihov mehanizam djelovanja predmet mnogih istraživanja, nije od velikog kliničkog značaja (293). Ipak, sve je veći broj istraživanja koji se fokusiraju na terapijske opcije za liječenje kognitivnih i negativnih simptoma, primijenjenih bilo kao monoterapija ili kao dodatna terapija (294, 295).

Prekretnice u lječenju shizofrenije bilo je otkriće klorpromazina 1950-ih i klozapina 1960-ih. (296). Danas se shizofrenija liječi lijekovima koji se nazivaju antipsihotici, a podijeljeni su na tipične ili antipsihotike prve generacije (klorpromazin, haloperidol, flufenazin), koji su učinkoviti u liječenju pozitivnih simptoma, i atipične ili antipsihotike druge generacije (olanzapin, risperidon, kvetiapin) koji se mogu koristiti u liječenju i pozitivnih i negativnih simptoma shizofrenije (297). Neki autori razlikuju i treću generaciju antipsihotika (aripiprazol, brekspiprazol, kariprazin), iako je takva diferencijacija još uvijek predmet rasprava (296, 298, 299).

S obzirom na kompleksnost shizofrenije i raznolikost njenih simptoma koji proizlaze iz promjena jednog ili više receptora različitih neurotransmitorskih sustava, mala je vjerojatnost da će se liječenje shizofrenije svesti na jedan terapijski cilj. Stoga je potrebno biti otvoren za mogućnost da će kombinacija različitih lijekova, ali i drugih tretmana kao što su kognitivna bihevioralna terapija, integrativna terapija i druge psihosocijalne intervencije biti potrebne za postizanje optimalnih rezultata u liječenju shizofrenije (19, 292, 293).

Prema Američkom psihijatrijskom udruženju (engl. *American Psychiatric Association*), antipsihotici druge generacije lijekovi su izbora za liječenje shizofrenije. Antipsihotici druge generacije preferiraju se u odnosu na antipsihotike prve generacije jer su povezani s manjim razvojem ekstrapiramidalnih nuspojava (52).

Tek između 10 i 30 % bolesnika sa shizofrenijom pokazalo je blago poboljšanje simptoma nakon višestrukih pokušaja liječenja antipsihoticima prve generacije, dok je dodatnih 30 do 60 % imalo parcijalno ili nedovoljno poboljšanje ili pak neprihvatljiv razvoj nuspojava tijekom liječenja (52). Dodatni je problem veliki postotak nesuradljivosti bolesnika koji je u shizofreniji posebno izražen. Čak do 75 % bolesnika unutar dvije godine nakon otpusta iz bolnice postaje nesuradljivo u uzimanju terapije. Uzrok tome mogu biti česte pojave nuspojava i rezidualni psihotički simptomi. Prestanak uzimanja lijekova povezan je s lošijom prognozom i povećanom učestalošću relapsa, rehospitalizacije i samoubojstava (300). Stoga, unatoč tome što su danas prognoze za oboljele od shizofrenije značajno bolje, ipak do dvije trećine oboljelih nikad ne povrati razinu funkcioniranja koju su imali prije pojave simptoma (19).

1.6.1 Tipični antipsihotici (antipsihotici prve generacije)

Otkriće antipsihotika 50-ih godina prošlog stoljeća dovelo je do revolucije u liječenju shizofrenije. Sama dopaminska hipoteza shizofrenije potekla je od činjenice da se svi antipsihotici, uključujući i tipične i atipične amtipsihotike vežu za dopaminske D_2 receptore. Zauzetost veznih mjesta na D_2 receptorima od barem 60 % pa do 80 % u mezolimbičkom putu dovodi do kliničkog odgovora na antipsihotike dok se ekstrapiramidalne nuspojave (akatizija, parkinsonizam, distonija i tardivna diskinezija) pojavljuju pri zauzetosti većoj od 80 % u dorzalnom strijatumu, a hiperprolaktinemija pri zauzetosti većoj od 72 % u hipofizi (198, 300, 301). Neka od istraživanja su uputila da je zauzetost veznih mjesta na D_2 receptorima u strijatumu, odgovorna za antipsihotički učinak tipičnih antipsihotika, no Lally i sur. upozoravaju da strijatum nije glavno mjesto antipsihotičkog terapijskog djelovanja antipsihotika, već da se on uglavnom odvija u mezolimbičkom putu (296, 300, 302-304).

Mehanizam djelovanja i tipičnih i atipičnih antipsihotika je sličan i predstavlja antagonizam ili inverzni agonizam dopaminskih D_2 receptora. Antipsihotici, vežući se na D_2 receptore ili inhibiraju bazalnu aktivnost G-protein glasničkog sustava povezanog s D_2 receptorom *(tzv. inverzni agonizam*) ili sprječavaju agonističko djelovanje neurotransmitora (*tzv. tihi antagonizam*). U oba slučaja blokiraju postsinaptičke receptore i normaliziraju hiperaktivnost izazvanu viškom dopamina u sinapsi. Normalizacija hiperaktivnosti u mezolimbičkom dopaminskom neuronskom putu, koja se smatra uzrokom pozitivnih simptoma psihoze, dovodi do smanjenja simptoma shizofrenije (198, 205, 293).

Specifično je za tipične antipsihotike da su učinkoviti u liječenju pozitivnih simptoma dok slabije djeluju na negativne i kognitivne simptome (297, 304). Smatra se da je blokada D_2

receptora nužna za za postizanje antipsihotičkog učinka, barem što se tiče pozitivnih simptoma, a tipični antipsihotici smatraju se čistim D_2 antagonistima koji se vežu za dopaminske receptore visokim afinitetom i sporo se otpuštaju (198, 304). Međutim, afinitiet antipsihotika prema dopaminskim receptorima nije prediktor samo terapijskog učinka nego i pojave ekstrapiramidalnih nuspojava zbog blokade dopaminskih receptora koji se nalaze izvan mezolimbičkog puta kao što su dopaminski receptori u dorzalnom strijatumu nigrostrijatalnog puta. Također se pretpostavlja da tipični antipsihotici blokiraju dopaminske receptore i u nukleusu akumbensu u mezolimbičkom putu, prefrontalnom korteksu u mezokortikalnom putu i u hipofizi u tuberoinfidibularnom putu. To dovodi do specifičnih nuspojava kao što su pogoršanje kognitivnih, negativnih i afektivnih simptoma, hiperprolaktinemija i pojava neuroleptičkog malignog simptoma (198, 306).

S obzirom da pojedini tipični antipshihotici djeluju i na druge neurotransmitorske receptore poput muskarinskih, acetilkolinskih, histaminskih i noradrenalinskih, pojavljuju se i nuspojave kao što su sedacija, suhoća usta, konstipacija, kognitivni deficiti, promjene u krvnom tlaku i tjelesnoj težini (198, 296, 306). Upravo česta pojava nuspojava, poglavito ekstrapiramidalnih, dovodi do smanjenje suradljivosti pacijenata pa čak i prekida terapije. Smatra se da samo oni bolesnici koji u prošlosti imaju dobar odgovor na liječenje i podnošljive nuspojave mogu imati koristi od liječenja tipičnim antipsihoticima (296, 306).

Haloperidol

Nakon otkrića klorpromazina, razvijeno je desetak antipsihotika koji su svi bili blokatori dopaminskih receptora, a koji su bili povezani s pojavom parkinsonizma. S vremenom su antipsihotici postajali slabiji antagonisti dopaminskih receptora s manjim učinkom na monoaminske, kolinergične i histaminske receptore. Haloperidol je tipičan primjer antipsihotika koji svoje glavno djelovanje ostvaruje blokadom dopaminskih receptora. Uveden je 1960-ih i vrlo brzo postaje najčešće korišteni antipsihotik. Imao je isti antipsihotički učinak kao klorpromazin no bez njegovih značajnih nuspojava kao što su kardiovaskularne i sedativne nuspojave (303). Smatrao se kao „najčišći“ blokator D_2 receptora od ranih antipsihotika i zbog toga je postao referantan antipsihotik za usporedbu s drugim antipsihoticima (lista tipičnih antipsihotika navedena je u Tablici 3.)(32).

Haloperidol je lijek koji se primjenjuje intravenskim, intramuskularnim ili oralnim putem u dozama od 5 – 15 mg/dan (307). Dok se učinkovitost haloperidola, koja se manifestira kao supresija deluzija i halucinacija i kao psihomotorička sedacija, pripisuje njegovom visokom afinitetu vezanja za D_2 dopaminske receptore, haloperidol se također, no u značajnije manjoj mjeri, veže i za druge podvrste dopaminskih receptora, serotoninske receptore i α-adrenoreceptore (Tablica 6.) (308). Učinak haloperidola nastupa relativno brzo uz vršnu koncentraciju u plazmi unutar 2 – 6 sati uz bioraspoloživost nakon oralne primjene od 60 –70 % dok je vrijednost vezivanja za proteine plazme približno 88 – 92 %. Opsežno se metabolizira u jetri putem glukuronidacije, redukcije ketona i oksidacije. Glavni enzimi koji sudjeluju u metabolizmu halperidola su CYP3A4 i CYP2D6 (307, 309). Prosječno terminalno poluvrijeme eliminacije haloperidola iznosi 14,5 – 36,7 sati a izlučivanje se vrši putem mokraće i fecesa (307).

Najčešće nuspojave haloperidola u kliničkim istraživanjima ocjene sigurnosti tog lijeka bile su ekstrapiramidalne nuspojave (34 %), nesanica (19 %), agitacija (15 %), hiperkinezija (13 %), glavobolja (12 %), psihotični poremećaj (9 %), depresija (8 %), porast tjelesne težine (8 %), tremor (8 %), hipertonija (7 %), ortostatska hipotenzija (7 %), distonija (6 %) i somnolencija (5 %) (310).

Farmakokinetička istraživanja pokazala su da je haloperidol potentan antipsihotik koji svoj učinak ostvaruje već pri dozi od 4 mg/dan, no već i pri toj najnižoj terapijskoj dozi, prisutnost parkinsonizma i akatizije je značajna (303). Neka istraživanja pokazala su da je pojava parkinsonizma i akatizije pri liječenju haloperidolom dvostruko veća nego kod liječenja antipsihoticima druge generacije (311). Ekstrapiramidalne nuspojave, posebice distonija, najčešće se pojavljuju unutar 3 dana od početka liječenja haloperidolom i razne studije utvrdile su pojavu nuspojava u 13 do 73 % bolesnika, s većom učestalošću distonije u onih mlađih od 20 godina dok se parkinsonizam pojavljuje češće u bolesnika starijih od 65 godina (312-317).

S obzirom na to da se haloperidol, kako je navedeno, uz dopaminske receptore veže i na druge receptore poput serotoninskih i α-adrenoreceptora i time utječe na razinu međusobne i recipročne regulacije dopaminskog i serotoninskog sustava u mozgu, te činjenice da se kod primjene haloperidola ekstrapiramidalne nuspojave pojavljuju vrlo često te relativno brzo nastupaju u usporedbi s ostalim antipsihoticima, haloperidol je odabran kao izvrstan kandidat za istraživanje povezanosti pojave akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava i polimorfizama pojedinih serotoninskh receptora u ovom doktorskom radu.

Tablica 3. Tipični antipsihotici (preuzeto i prilagođeno iz Castle i sur. 2004) (32)

Djelatna tvar	**Maksimalna dnevna doza u odraslih (mg)**	**Poluvrijeme eliminacije (h)**
Fenotiazini		
Klorpromazin	1000	16–30
Levomepromazin	1000	16–78
Promazin	800	–
Tioridazin	600	9–30
Flufenazin	20	13–58
Butirofenoni		
Benperidol	1.5	–
Haloperidol	30	12–36
Droperidol	120	2–4
Supstituirani benzamidi		
Sulprid	2400	–

1.6.2 Atipični antipsihotici (antipsihotici druge generacije)

Razvoj atipičnih antipsihotika bio je potaknut zbog činjenice da su mnogi bolesnici s kroničnom shizofrenijom imali slab odgovor na liječenje tipičnim antipsihoticima, radi manjka učinkovitosti tipičnih antipsihotika u liječenju negativnih simptoma i zbog pojave ekstrapiramidalnih nuspojava koje su dovodile do nesuradljivosti bolesnika i prekida terapije (306).

Otkriće klozapina i njegovo uvođenje u terapiju shizofrenije sedamdesetih godina prošlog stoljeća, dovelo je do propitivanja dopaminske hipoteze kao jedinstvene teorije o patofiziologiji shizofrenije. Klozapin je pokazao veći antipsihotički učinak od klorpromazina i haloperidola i to uz smanjenu pojavu ekstrapiramidalnih nuspojava i hiperprolaktinemije no uz pojavu agranulocitoze. Klozapin svoj učinak ostvaruje pri 20-70 % zauzetosti veznih mjesta D_2 receptora, no ima visoki afinitet i prema serotoninskim receptorima (>80 % zauzetosti), što upućuje da serotoninski, posebice 5-HT_{2A} receptori, imaju važnu ulogu u farmakološkom učinku atipičnih antipsihotika (300, 301, 303). U odnosu na tipične, atipični antipsihotici imaju slabiji afinitet za D_2 receptore te brže disociraju i imaju veći afinitet za 5-HT receptore, posebice 5-HT_{2A} receptore (304, 306).

Risperidon, olazapin i ziprasidon u terapijskim dozama zauzimaju čak i više od 70 %, dok klozapin i kvetiapin zauzimaju manje od 70 % veznih mjesta D_2 receptora. S druge strane, klozapin, risperidon, olanzapin i ziprasidon u terapijskim dozama zauzimaju više od 80 % veznih mjesta kortikalnih 5-HT_{2A} receptora (304).

Stoga je postalo jasno da je uz D_2 antagonizam, antagonizam 5-HT_{2A} receptora važan dio mehanizma djelovanja atipičnih antipsihotika koji imaju pozitivan učinak ne samo na pozitivne simptome, nego i na negativne, kognitivne i afektivne simptome i to uz smanjenu pojavu ekstrapiramidalnih nuspojava i hiperprolaktinemije. S obzirom da serotoninski neuroni koji inerviraju dopaminske neurone moduliraju otpuštanje dopamina, antipsihotici koji djeluju kao D_2 i 5-HT_{2A} antagonisti imaju mogućnost, ne samo smanjiti dopaminsku aktivnost blokadom dopaminskih receptora nego i fino modulirati otpuštanje dopamina blokirajući 5-HT_{2A} receptore (247, 293). Upravo su antagonizam 5-HT_{2A} receptora, djelovanje putem serotoninsko-dopaminskih interakcija i činjenica da brže disociraju s veznih mjesta dopaminskih receptora, omogućujući time prikladniju regulaciju dopamina, ono što ovu skupinu antipsihotika čini atipičnim (198, 318). Iako je 5-HT_{2A} antagonizam povezan sa smanjenim razvojom ekstrapiramidalnih nuspojava, risperidon u visokim dozama ipak izaziva

takve nuspojave što nas ipak dovodi do zaključka da se D_2 antagonizam ne može u potpunosti poništiti čak ni maksimalnim antagonizmom 5-HT_{2A} receptora. Uz 5-HT_{2A} receptore, vjeruje se da i učinak na 5-HT_{1A} receptore može imati za rezultat smanjenu pojavu ekstrapiramidalnih nuspojava (198, 304). Atipični antipsihotici uz navedene receptore djeluju još i na dopaminske D_1 i D_3 receptore, serotoninske 5-HT_{2C}, 5-HT_6 i 5-HT_7 receptore, muskarinske, kolinergičke i histaminske receptore (304).

Unatoč smanjenoj pojavi ekstrapiramidalnih nuspojava u odnosu na tipične antipsihotike, atipični antipsihotici povezani su s drugim značajnim nuspojavama kao što su povećanje tjelesne težine, dislipidemija, poremećaji u regulaciji razine glukoze u krvi uključujući dijabetes tipa 2, kao i metabolički sindrom (306).

Tablica 4. Atipični antipsihotici (preuzeto i prilagođeno iz Castle i sur. 2004) (32)

Djelatna tvar	**Maksimalna dnevna doza u odraslih (mg)**	**Poluvrijeme eliminacije (h)**
Klozapin	300–500	5–16
Olanzapin	10–20	21–54
Kvetiapin	300–450	6–7
Risperidon	2–6	20–24
Amisulprid	400–1200	12

1.6.3 Antipsihotici treće generacije

Uz inverzni agonizam i tihi antagonizam još jedan mehanizam vezan za dopaminske receptore privukao je veliku pažnju. Naime, neki lijekovi stimuliraju dopaminske receptore, ali u manjem omjeru nego prirodni neurotransmitori, odnosno potpuni agonisti. Oni se nazivaju parcijalni agonisti ili stabilizatori i njihovo djelovanje je između potpunog agonizma i tihog antagonizma. Zbog specifičnog mehanizma stimulacije sekundarnog glasničkog mehanizma pri velikoj koncentraciji dopamina djeluju kao antagonisti, dok pri niskoj odnosno nedostatnoj koncentraciji dopamina djeluju kao agonisti i time zapravo stabiliziraju prekomjernu ili premalu aktivnost dopamina. Najpoznatiji primjer takvog lijeka je aripiprazol (293, 305). Zbog svog specifičnog mehanizma, neki autori svrstavaju aripiprazol u novu grupaciju antipsihotika, odnosno u antipsihotike treće generacije (296, 298, 299).

Zbog svog specifičnog mehanizma, aripiprazol uzrokuje puno manje ekstrapiramidalnih nuspojava od tipičnih antipsihotika unatoč tome što zauzima i do 90 % veznih mjesta na dopaminskim receptorima, dok je 80 % zauzetosti veznih mjesta dopaminskih receptora kod tipičnih antipsihotika dovoljan za razvitak ekstrapiramidalnih nuspojava. Aripiprazol održava dovoljnu razinu podražljivosti dopaminskog sustava da ne izazove ekstrapiramidalne nuspojave, ali da zadrži i svoj antipsihotični učinak (Tablica 5.) (305).

Tablica 5. Prikaz maksimalnog učinka djelatnih tvari u usporedbi s dopaminom za agoniste i inverzne agoniste (preuzeto i prilagođeno iz Strange, 2008) (305)

Djelatna tvar	**Maksimalni učinak**
Dopamin	100
Bromokriptin	64.9
(-)-3-PPP	31.7
Aripiprazol	5.5
UH-232	0.2
Sulpirid	-65
Haloperidol	-83
Klozapin	-86
Risperidon	-92

Uz svoje specifično djelovanje na dopaminske receptore, ova skupina antipsihotika ima i antagonističko djelovanje na 5-HT_{2A} receptore i djelomično agonističko djelovanje na 5-HT_{1A} receptore. Takav mehanizam djelovanja na serotoninske receptore pokazuju i mnogi atipični antipsihotici iako se svaki od njih za te receptore veže u različitom obimu. Antagonizmom 5-HT_{2A} receptora potiče se otpuštanje dopamina u nigrostrijatalnom i tuberoinfidibularnom putu, i parcijalnim agonizmom 5-HT_{1A} receptora u korteksu potiče se otpuštanje dopamina u strijatumu, što pridonosi smanjenju pojave ekstrapiramidanih nuspojava dok istovremeni antagonizam D_2 receptora rezultira antipsihotičkim učinkom (198, 247, 304).

Tablica 6. Prikaz afiniteta pojedinih antipsihotika prema receptorima (preuzeto i prilagođeno iz Di Giovanni i sur. 2018) (319).

Antipsihotici	**D2**	**D3**	**5-HT1A**	**5-HT2A**	**DRUGA CILJNA MJESTA**
TIPIČNI ANTIPSIHOTICI					
Haloperidol	8,84	8,56	6,29	7,28	D4 (8,83); α1A (7,9); σ1 (8,52)
Flupentiksol	9,46	8,76	5,1	7,06	D1 (8,46); H1 (9,07)
Tioridazin	9,4	8,82	6,84	7,56	α1A (8,5); α1B (8,62); M1 (7,89); M5 (7,9); H1 (7,78)
Pimozid	9,48	9,6	6,19	7,32	5-HT7 (9,3); D4 (8,74)
Perfenazin	8,47	9,89	3,38	8,25	5-HT6 (7,77); 5-HT7 (7,64); D1 (7,52); D4 (7,77); α1A (8); H1 (8,1); σ1 (7,73)
Loksapin	7,96	7,71	5,61	8,18	5-HT2C (7,88); 5-HT6 (7,51); 5-HT7 (7,06); D1 (7,27); D4 (8,08); D5 (7,12); α1A (7,51); α1B (7,28); α2A (6,82); α2B (6,97); α2C (7,1); M1 (6,92); H1 (8,3)
ATIPIČNI ANTIPSIHOTICI					
Klozapin	6,87	6,66	7,06	8,39	5-HT1B (6,28)b; 5-HT2B (8,79); 5-HT2C (8,56 - IA); 5-HT3 (6,62); 5-HT6 (7,87); 5-HT7 (7,75); D1 (7,64); D4 (7,33); D5 (6,63); α1A (8,79); α1B (8,15); α2A (7,43); α2B (7,58); α2C (8,22); M1 (8,21); M2 (7,44); M3 (7,72); M4 (7,81); M5 (7,81); H1(8,95); H2 (6,82); H4 (6,18)
Risperidon	8,21	8,16	6,75	9,69	5-HT1B (7,83); 5-HT1D (7,07); 5-HT2B (7,8); 5-HT2C (8,17); 5-HT7 (8,18); D4 (8,21); D5 (7,8); α1A (8,3); α1B (8,04); α2A (7,78); α2C (8,89); H1 (7,7)
Olanzapin	7,67	7,46	5,82	8,88	5-HT2B (8,41); 5-HT2C (8,41); 5-HT3 (6,69); 5-HT6 (8,09); 5-HT7 (6,98); D4 (7,75); D5 (7,04); α1A (6,95); α1B (6,58); α2A (6,5); α2B (7,09); α2C (7,54); M1 (7,58); M2 (7,2); M3 (7,28); M4 (7,61); M5 (8,12); H1 (8,66); H2 (7,36)
Ziprasidon	8,09	8,35	9,01	9,51	5-HT1B (8,4); 5-HT1D (8,64); 5-HT2B (9,08); 5-HT2C (9,01); 5-HT6 (7,21); 5-HT7 (8,22); D1 (8,45); D4 (7,33); α1A (7,74); H1 (7,2); SERT (7,26); NET (7,32)
Kvetiapin	6,38	6,41	6,78	6,81	5-HT2B (7,33); 5-HT2C (5,98); 5-HT6 (6,02); 5-HT7 (6,51); D1 (6,71); D4 (5,85); D5 (7,8); α1A (7,66); α1B (7,84); α2A (5,44); α2C (7,65); H1 (8,16); H2 (7,38); M1 (489); M3 (5,79)
Brekspiprazol	9,48	8,9	9,21	9,67	α1A (8,42); α1B (9,23); α1D (8,58); α2C (9,77); 5-HT2B (8,72); 5-HT7 (8,43)
Aripiprazol	8,9	8,85	8,57	8,02	5-HT2B (9,59)
Kariprazin	9,31	10,07	8,59	7,73	5-HT2B (9,24)
Amisulprid	8,89	8,62	5,8	5,08	5-HT2B (7,89); 5-HT7 (7,94)
Blonaserin	9,84	9,3	6,09	9,09	

Prikaz pKi vrijednosti pojedinih antipsihotika prema određenim receporima.

1.6.4 Nuspojave primjene antipsihotika

Nuspojava je po definiciji svaka štetna i neželjena reakcija na lijek (320), a antipsihotici imaju čitav raspon nuspojava s većom ili manjom učestalošću. Nuspojave koje se vežu uz tipične antipsihotike najčešće su ekstrapiramidalne nuspojave (EPS), dok se povećanje tjelesne težine, metaboličke nuspojave kao što su hiperlipidemija, inzulinska rezistencija i dijabetes te kardiovaskularne bolesti vežu uz antipsihotike druge generacije (321). Nuspojave antipsihotika, predstavljaju značajan problem u liječenju shizofrenije te iako su svi antipsihotici učinkoviti u liječenju pozitivnih, a atipični antipsihotici i u liječenju negativnih i kognitivnih simptoma, pojava teških oblika nuspojava često dovodi do nesuradljivosti bolesnika u uzimanju terapije pa i do prekida terapije. Tako je najčešći razlog za prekid liječenja antipsihotičnim lijekovima podnošljivost lijeka odnosno pojava ekstrapiramidalnh nuspojava, povećanje tjelesne težine i hipersomnija/sedacija (321).

Istraživanja 70-tih i 80-tih godina prošlog stoljeća dovela su do mnogih saznanja o funkcioniranju neuronskih krugova bazalnih ganglija. Bazalni gangliji primaju i povezuju projekcije iz raznih djelova korteksa i projiciraju te informacije putem talamusa u motorički korteks i druga motorička područja (322, 323). Bazalni gangliji uključeni su u modulaciju kortikalne aktivnosti i putem mehanizma povratne sprege sprječavaju nevoljne kretnje. Uključeni su i u neuronske krugove koji imaju emocionalne, motivacijske, asocijativne i kognitvne funkcije (324, 325). Strijatum predstavlja glavno mjesto ulaza i povezivanja aferentnih neurona iz različitih djelova korteksa, talamusa i srednjeg mozga. Svi dijelovi strijatuma (kaudatus, putamen i ventralni strijatum odnosno nukleus akumbens) su pod dopaminskom i serotoninskom regulacijom. Ti neuronski krugovi imaju vrlo važnu ulogu u regulaciji automatiziranog i voljnog motoričkog odgovora piramidalnog sustava, u planiranju budućih odgovora, potičući željeno ponašanje i blokirajući neželjeno, te imaju ulogu u održavanju pažnje, procesa započinjanja pokreta i radne memorije (323-236). Projekcijski neuroni strijatuma koji projiciraju u daljnje jezgre bazalnih ganglija su dopaminski neuroni koji tvore izravni i neizravni put, koji mogu uzrokovati abnormalnu motoričku aktivnost u vidu hiper- ili hipokinetičkih poremećaja (323, 326).

Svi poznati antipsihotici pokazuju afinitet prema D_2 dopaminskim receptorima i smatra se da je vezanje na D_2 receptore potrebno i dostatno za njihovu učinkovitost (318). Vežući se na te receptore kao antagonisti ili inverzni agonisti, blokiraju postsinaptičke receptore i preveniraju vezanje dopamina (293). Pretpostavlja se da je takva blokada dopaminskih D_2

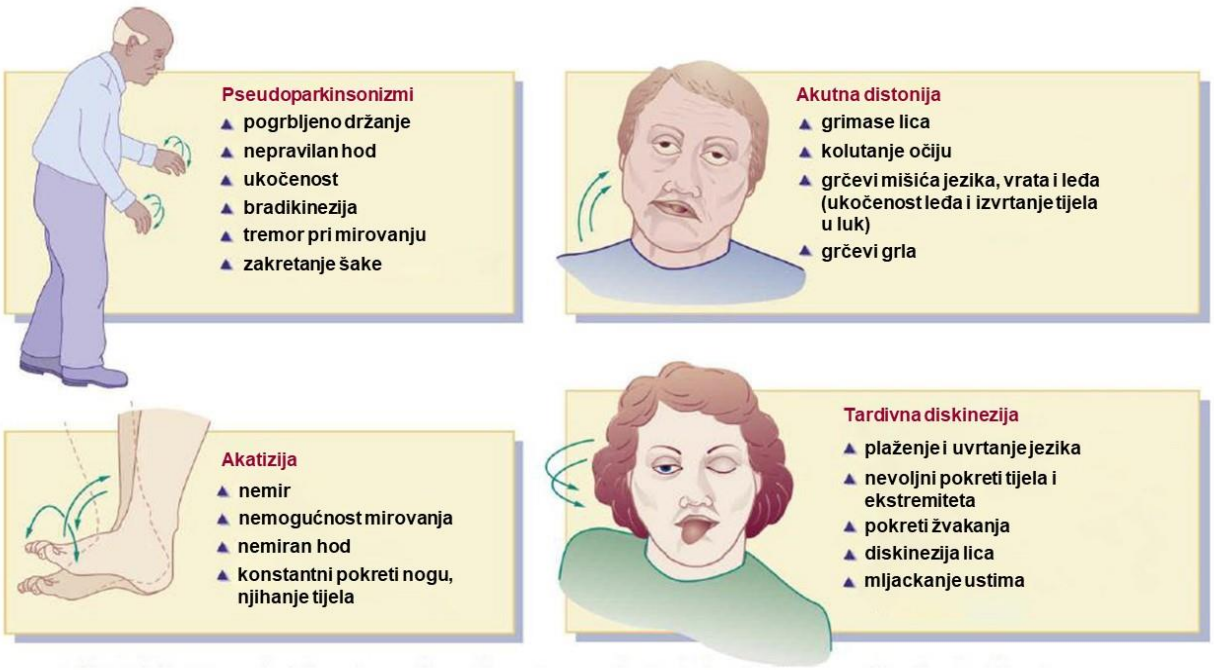
receptora u limbičkom sustavu i strijatumu glavni mehanizam u podlozi ekstrapiramidalnih nuspojava koje se razvijaju tijekom liječenja antipsihoticima (302, 327, 328).

Ekstrapiramidalne nuspojave su skup motoričkih simptoma koji se dijele na rane odnosno akutne (distonija, parkinsonizam i akatizija) i kasne odnosno kronične (tardivna diskinezija) (321). Distonija se karakterizira kao skup kratkih ili duljih mišičnih kontrakcija s posljedičnim abnormalnim pokretima i držanjem tijela koji se javljuju ubrzo nakon početka terapije. Može biti akutna ili kronična odnosno tardivna. Za razliku od akutne, u kojoj su mišićne kontrakcije prolazne, u kroničnoj akatiziji kontrakcije su trajne i pojavljuju se nakon dugotrajne terapije antipsihoticima. Distonija najčešće zahvaća jednu, no može zahvatiti i više skupina mišića. Tako se može manifestirati kao okulogirna kriza, ukočena čeljust, protruzija jezika, laringealni i faringealni spazam, dizartrije i disfagija. Može se manifestirati i u gornjim i donjim ekstremitetima u obliku hiperpronacije i inverzije stopala s platarnom fleksijom. U slučaju liječenja tipičnim antipsihotikom, distonija se može se pojaviti čak u 50 % liječenih bolesnika (32, 329, 330).

Glavna značajka akatizije je psihomotorni nemir, disforija i nervoza kao što su primjerice, nesavladivi nagon na pokret, prebacivanje težine s noge na nogu pri stajanju, sindrom nemirnih nogu. Smatra se jednom od najčešćih poremećaja pokreta uzrokovanog blokadom dopaminskih receptora predstavljajući oko 50 % ekstrapiramidalnih nuspojava u liječenju antipsihoticima. Akutna akatizija pojavljuje se u 25 % bolesnika liječenih antipsihoticima (32, 329, 330).

Parkinsonizam je karakteriziran pojavom rigidnosti, tremora u mirovanju, posturalnim tremorom i usporenim pokretima. Pojavljuje se u otprilike 15 % bolesnika koji su koristili antipsihotike. Iako se lijekovima izazvan parkinsonizam smatra prolaznim, može trajati i do 18 mjeseci, a kod nekih bolesnika postaje i trajan (329, 330).

Tardivna diskinezija se može pojaviti u svih bolesnika liječenih antipsihoticima. Pojavljuje se nakon dugotrajne terapije, te može čak biti i ireverzibilna. Manifestira se abnormalnim koreoatetotskim pokretima glave, udova, trupa i respiratornih mišića (329), no nije predmet ovog istraživanja.



Slika 7. Ekstrapiramidalne nuspojave antipsihotika. Simptomi parkinsonima, akutne distonije, akatizije i tardivne diskinezije. Preuzeto i prilagođeno iz McCuistion, 2018. (331)

Uz D_2 dopaminske receptore, D_1, D_3 i D_4 dopaminski receptori kao i 5-HT_{1A} i 5-HT_{2A} serotoninski receptori, adrenergički, histaminski i glutamatni sustavi također mogu biti mjesto djelovanja antipsihotičkih lijekova (304). Novi, atipični antipsihotici razlikuju se od tipičnih antipsihotika po visokom afinitetu prema 5-HT_2 receptorima i bržoj disocijaciji s D_2 dopaminskih receptora (302). Upravo se brža disocijacija atipičnih antipsihotika s D_2 dopaminskih receptora smatra kao jednim od uzroka uspješnijeg liječenja i smanjenja ekstrapiramidalnih nuspojava. Klozapin, risperidon, olanzapin i ziprasidon vežu se na više od 80 % 5-HT_{2A} kortikalnih receptora (304).

Serotonergički neuroni imaju utjecaj na otpuštanje dopamina u dopaminergičkim neuronima na dva načina: izravno putem somatodendritičkih i aksodendritičkih serotoninskih receptora na tim neuronima i neizravno putem istih receptora na GABA interneuronima, a taj je učinak najčešće inhibicijski. Antipsihotici druge generacije svojim antagonističkim utjecajem na serotoninske receptore blokiraju inhibiciju i dozvoljavaju njihovo otpuštanje sa dopaminergičkih neurona što također može rezultirati smanjenjem nuspojava (293). Unatoč manjoj pojavi ekstrapiramidalnih nuspojava u usporedbi s tipičnim antipsihoticima, atipični antipsihotici također izazivaju specifične nuspojave od kojih su najčešće one metaboličke (povećanje tjelesne težine, dislipidemija, poremećaji u regulaciji razine glukoze u krvi uključujući dijabetes tipa 2) (52, 306). Takve nuspojave mogu dovesti do dodatnih komplikacija

kao što je dijabetes tipa 2 koji se pojavljuje u 15 % bolesnika sa shizofrenijom i povećanja rizika od mortaliteta uslijed kardiovaskularnih bolesti kao posljedice povećanja tjelesne težine (330).

Tablica 7. Usporedni prikaz rizika razvoja metaboličkih i ekstrapiramidalnih nuspojava (preuzeto i prilagođeno iz Patel i sur. 2014)

Djelatna tvar	**Povećanje tjelesne težine**	**Ekstrapiramidalne nuspojave**
Tipični antipsihotici		
Klorpromazin	++	+++
Flufenazin	+	++++
Haloperidol	+	++++
Tioridazin	+	+++
Atipični antipsihotici		
Klozapin	++++	+
Olanzapin	++++	++
Kvetiapin	++	+
Risperidon	++	++
Ziprasidon	+	++
+ = nizak rizik; ++ = umjeren rizik; +++ = umjereno visok rizik; ++++ = visok rizik		

U ventralnom i dorzalnom strijatumu, također se nalazi i veliki broj serotoninskih terminalnih završetaka i postoji sve veći broj dokaza da razine serotonina u strijatumu mogu utjecati na afektivne i motoričke simptome. Selektivni inhibitori povratne pohrane serotonina (SSRI) koji se koriste u liječenju depresije, također mogu uzrokovati poremećaje pokreta kao što su tremor, parkinsonizam, akatizija i distonija. Mehanizam razvoja takvih nuspojava najvjerojatnije je djelovanje serotonina na strukture bazalnih ganglija. Iako je, unatoč kliničkoj značajnosti, malo pažnje posvećeno istraživanjima utjecaja serotonina na različite vrste neurona u strijatumu, neka istraživanja pokazala su da serotonin aktivira 5-HT_{2C}, 5-HT_6 i 5-HT_7 serotoninske receptore u strijatumu i na taj način utječe na kolinergičke interneurone odnosno na ukupne strijatalne izlazne signale (332, 333).

Nadalje, selektivna blokada 5-HT_{2C} receptora potiče frontokortikalnu dopaminsku transmisiju i smanjuje ekstrapiramidalne pojave haloperidola. 5-HT_{1A} receptori imaju važnu ulogu u modulaciji raspoloženja, kognicije i motoričkog ponašanja. Pojedine studije pokazale su da su 5-HT_{1A} receptori važni u pojavi akutnih motornih poremećaja. Tako recimo agonisti 5-HT_{1A} receptora koji djeluju na 5-HT_{1A} autoreceptore u medijalnoj jezgri rafe smanjuju pojavu katalepsije u štakora uzrokovanu antagonistima D_2 receptora (334, 335). Također, pojava spontanih pokreta nalik žvakanju izazvanih haloperidolom, inhibirana je agonistima 5-HT_{1A} receptora koji djeluju na 5-HT_{1A} autoreceptore u strijatumu i tako smanjuju otpuštanje dopamina (334, 336).

Dodatno, kao predisponirajući čimbenici razvoja ekstrapiramidalnih nuspojava navode se prvenstveno dob, ali i muški spol, visoke doze antipsihotika, dugotrajna terapija antipsihoticima i pušenje. Naime, mlađi bolesnici su posebice podložni razvoju akutne distonije dok je razvoj parkinsonizma češći u starijoj populaciji, a ekstrapiramidalne nuspojave najčešće se pojavljuju u muškaraca mlađe dobi (337). Također, osobe koje su u prošlosti razvile ekstrapiramidalne nuspojave na prethodnu terapiju antipsihoticima, imaju veći rizik od razvoja tardivne diskinezije (338), kao i one osobe koje imaju afektive poremećaje, ali i dijabetes melitus (339).

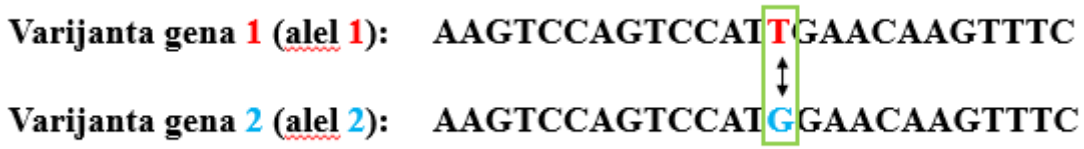
1.6.5 Farmakogenetika u psihijatrijskom liječenju

Klinička farmakogenetika je grana koja proučava utjecaj nasljednih genetskih strukturnih i funkcionalnih promjena na bolesnikov odgovor na terapiju (340). Cilj farmakogenetike je zapravo predvidjeti koji će bolesnik imati najveću korist od pojedinog lijeka na temelju genetskih informacija odnosno genetskih varijanti kako bi se maksimizirala učinkovitost lijeka, a minimizirala pojava nuspojava (321).

Ljudski se genom sastoji od 3 milijarde parova baza (nukleotida) u molekuli deoksiribonukleinske kiseline (DNA) koji su raspoređeni u 22 para autosomnih i 2 spolna kromosoma (341). Molekula DNA sastoji se od gena, ponavljajućih sljedova nukleotida i djelova čija funkcija još nije utvrđena. Geni predstavljaju segmente molekule DNA, koji sadrže nasljednu informaciju odnosno služe kao kalup za sintezu proteina. Geni se sastoje od regulatornih dijelova, koji određuju kada i na koji način će doći do transkripcije gena i od kodirajuće regije koja je podjeljena u više segmenata nazvanih eksoni. Eksoni su pak međusobno razdvojeni nekodirajućim segmetima odnosno intronima. Prosječan se gen sastoji od 2700 parova nukleotida no dužina može varirati od manje od 1000 do preko milijun parova nukleotida. Postoje četiri različita nukleotida u molekuli DNA: adenin, timin, gvanin i citozin, a komplementarne parove baza čine adenin i timin odnosno gvanin i citozin. Slijed od 3 nukleotida u eksonu, predstavlja kod za aminokiselinu. Gen služi kao kalup za sintezu molekule ribonukleinske kiseline (RNA) a molekula RNA pak služi kao kalup za sintezu polipeptidnih lanaca odnosno proteina (321, 341).

Jednostavno je za zaključiti da promjene u slijedu nukleotida kodirajućeg dijela gena mogu rezultirati promjenom strukture i same funkcije konačnog proizvoda odnosno proteina. Takve genetske varijacije mogu se pronaći u ljudskoj populaciji s različitim učestalostima. U slučaju da se pojedina genetska varijacija pojavljuje s učestalosti više od 1 %, tada se ta varijacija naziva polimorfizmom dok se varijacija s učestalošću manjom od 1 % naziva mutacijom. Varijanta gena koja koja je u populaciji najzastupljenija naziva se divljim tipom (engl. *wild type*) dok se ostale nazivaju polimorfnim varijantama (321).

Polimorfizmi se mogu pojaviti u tri osnovna različita oblika, polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*, SNP), varijabilni broj uzastopnih ponavljanja/kratka uzastopna ponavljanja slijeda nukleotida (engl. *variable number of tandem repeats/short tandem repeats*, VNTR) i polimorfizmi koji nastaju umetanjem ili brisanjem određenog slijeda nukleotida (engl. *insertion/deletion*). Vjeruje se da postoji oko milijun različitih SNP-ova u ljudskoj populaciji (321, 342). SNP je izmjena samo jednog nukleotida u slijedu nukleotida u molekuli DNA i smatra se najčešćom varijantom čineći oko 90 % svih genetskih varijanti u ljudskom genomu. Pojava SNP-a u genu ili u regulatornom dijelu u blizini gena najčešće nemaju utjecaja na zdravlje osobe, no nekoliko istraživanja pokazalo je da SNP može pomoći u predviđanjima odgovora bolesnika na specifičnu terapiju (343).



Slika 8. Shematski prikaz polimorfizma jednog nukleotida (SNP) (izvorna slika)

Razvoj farmakogenetike započeo je prije 60 i više godina, te je time postavljen temelj za primjenu individualizirane molekularne medicine u raznim specijalnostima, a posebice u psihijatriji (342). Polje farmakogenetike u psihijatriji značajno se razvilo u proteklih 30-ak godina i za očekivati je da će sve veća dostupnost farmakogenetskih testiranja u praksi pridonijeti pouzdanijem odabiru najprikladnije terapije za bolesnika uz što manju pojavu nuspojava (344). Velika varijabilnost u odgovoru na terapiju i razvoju nuspojava u liječenju shizofrenije prilika je za ostvarivanje velikog potencijala farmakogenetike. Naime, uz antipsihotički učinak, kao važan čimbenik odabira lijeka, i pojava nuspojava također je vrlo važan aspekt u procijeni benfita lijeka za bolesnika jer nemogućnost podnošenja nuspojava često dovodi do prekida terapije i zbog toga se farmakogenetika smatra važnim alatom u planiranju liječenja shizofrenije (297).

Farmakogenetska istraživanja u psihijatriji inicijalno su se fokusirala na identifikaciju farmakokinetičke varijabilnosti koja utječe na odgovor na terapiju kod bolesnika s atipičnim genotipom. Farmakokinetičke varijacije utječu na koncentraciju lijeka na mjestu djelovanja te farmakogenetska testiranja, u tom kontekstu, pružaju uvid u varijabilnost gena za enzime koji

sudjeluju u metabolizmu lijeka. Na taj način, moguće je predvidjeti kako će pojedini bolesnik metabolizirati određeni lijek (340).

Razni citokrom P450 (CYP) izoenzimi utječu na metabolizam raznih lijekova, pa tako i antipsihotika, što je dovelo do pitanja mogu li mutacije u genima koji kodiraju CYP enzime predvidjeti odgovor na terapiju i razvoj nuspojava kod liječenja antipsihoticima. CYP2D6 glavni je metabolički put za mnoge antipsihotike prve generacije poput klorpromazina, tioridazina, haloperidola, ali i za pojedine antipsihotike druge generacije poput risperidona i aripiprazola (345). Jovanović i suradnici u svom istraživanju uloge varijanti CYP2D6 enzima i transportera ABCB1 u koncentraciji risperidona u plazmi u bolesnika s prvom epizodom psihoze koji prethodno nisu bili liječeni, zaključuju da CYP2D6 genotip značajno utječe na razine risperidona u plazmi no povezanost s razvojem ekstrapiramidalnih nuspojava nije potvrđena (346), što je u skladu i s prethodnim sličnim ispitivanjima koje su proveli Roh i sur. i Reidel i sur. (347, 348). Nekoliko istraživanja korelacije genotipa CYP2D6 i biotransformacije haloperidola, pokazala su da je kod sporih metabolizatora povećana koncentracija haoperidola u plazmi i povećana koncentracija reduciranog metabolita haloperidola što je pak povezano s pojavom ekstrapiramidalnih nuspojava (308, 349). S druge strane, iako postoji nekoliko varijanti CYP3A4 enzima, uključenog u metabolizam većine antipsihotika, nije potvrđena značajna povezanost različitih varijanti s varijabilnosti u terapiji antipsihoticima (350, 351). Također nije potvrđena ni značajna povezanost s varijantama enzima CYP3A5, CYP2C9 i CYP2C19 (350).

Također, postoji niz istraživanja povezanosti polimorfizama CYP2D6 i razvoja ekstrapiramidalnih nuspojava. Crescenti i suradnici u svom istraživanju zaključuju da polimorfizmi, posebice CYP2D6*4 i CYP2D6*6 mogu pridonijeti razvoju ekstrapiramidalnih nuspojava uključujući akatiziju, parkinsonizam, akutnu distniju i tardivnu diskineziju (352). U nedavnim studijama, Balbuena i sur., te Ito i sur. zaključuju da spori i srednje brzi metabolizatori imaju veću predispoziciju za razvitak ekstrapiramidalnih nuspojava (353, 354). Nekoliko istraživanja utvrdilo je da su mutacije koje su rezultirale smanjenom aktivnosti CYP2D6 enzima pozitivno povezane s višim brojem bodova na AIMS ljestvici i razvojem tardivne diskinezije (345, 355, 356). S druge strane, Basile i suradnici zaključili su u svom

istraživanju da je i polimorfizam CYP1A2 gena također povezan s razvojem tardivne diskinezije iako u kasnijem istraživanju Suchulze i sur. takav rezultat nisu potvrdili (357, 358).

Nedavno, fokus farmakogenetskih istraživanja proširio se kako bi uključio i varijabilnost farmakodinamičkog odgovora bolesnika na specifičnu terapiju. Farmakodinamička varijabilnost upućuje nas na različite odgovore pojedinih bolesnika na terapiju pri jednakoj koncentraciji lijeka na mjestu djelovanja, odnosno govori o samoj aktivnosti lijeka na ciljnom mjestu. Farmakogenetska testiranja, u tom kontekstu, fokusiraju se na istraživanje varijabilnosti gena koji kodiraju receptore i prijenosnike koji utječu na djelotvornost lijeka odnosno na odgovor bolesnika na specifičnu terapiju što je detaljnije opisano u sljedećim poglavljima (340, 344).

1.6.5.1 Farmakogenetika dopaminskog sustava

U shizofreniji, farmakogenetska testiranja u kontekstu farmakodinamičkog odgovora fokusirala su se na molekularne putove za koje se smatra da predstavljaju mehanizme djelovanja antipsihotičkih lijekova. Još od 1960-ih smatra se da je dopaminski sustav uključen u patofiziologiju shizofrenije pa je stoga bio i glavni predmet farmakogenetskih istraživanja.

Pojedina istraživanja pokazala su da dopaminski prijenosik (DAT) ima glavnu ulogu u dopaminskoj neurotransmisiji zaustavljajući djelovanje dopamina u sinapsi prijenosom natrag u presinaptički završetak (359, 360). Perisco i sur. u svojem istraživanju *VNTR DAT* polimorfizma zabilježili su statistički značajno različitu raspodjelu genotipa *DAT* gena u bolesnika sa shizofrenijom u usporedbi sa zdravom populacijom (359). Također, Speca i sur. utvrdili su da mutacije u *DAT* genu utječu i na lokomotornu aktivnost (361), a istraživanja Meda i sur. i Zilles i sur. povezala su polimorfizme *DAT* gena s aktivnostima djelova mozga uključenih u shizofreniju (362, 363). Povezanost polimorfizma *DAT* gena i terapijskog odgovora na antipsihotike istraživana je u nekoliko studija, no rezultati nisu ujednačeni (321). S druge strane, katehol-O-metiltransferaza (COMT), enzim koji ima značaju ulogu u eliminaciji i metaboličkoj inaktivaciji dopamina, bio je također predmet farmakogenetskih istraživanja. Najčešća genetska varijacija COMT enzima jest polimorfizam Val158Met, koji smanjuje enzimsku aktivnost, a povezan je s težinom psihotičkih simptoma i odgovorom na antipsihotike (364, 321).

Određeni broj istraživanja pokušao je pronaći poveznicu između polimorfizama *DAT* gena i razvoja ekstrapiramidalnih nuspojava kod bolesnika liječenih antipsihoticima (365-369), od kojh su Guzey i Živković tu povezanost i zabilježili. Živković u svom istraživanju zapravo potvrđuje povezanost VNTR polimorfizma *DAT* gena, ali i polimorfizma Val158Met gena *COMT* i razvoja akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava u oboljelih od shizofrenije liječenih haloperidolom (368).

Povezanost polimorfizma gena *COMT* i razvoja ekstrapiramidalnih nuspojava istraživana je i u nekoliko ranijih studija, no rezultati nisu bili ujednačeni. Naime Srivastava i sur. u svom istraživanju na indijskoj populaciji prikazuje da je Val158Met polimorfizam povezan s većom vjerojatnosti razvoja tardivne diskinezije (370), dok Matsumoto, Herken i Lai u svojim istraživanjima na drugim populacijama (japanska, turska i kineska) nisu potvrdili povezanost polimorfizama gena *COMT* (371-373). Također, Tybura i sur. ne potvrđuju

povezanost *COMT* polimorfizama i EPS-ova u poljskoj populaciji (374), dok Lafuente potvrđuje tu povezanost no u podskupini bolesnika oboljelih od bipolarnog poremećaja (375).

Farmakogenetska istraživanja u proteklih dvadesetak godina u kontekstu povezanosti s odgovorom na terapiju, fokusirala su se uglavnom na istraživanje polimorfizma gena za dopaminske receptore, posebice za D_2 receptor (*DRD2* gen) zbog njegove uloge u mehanizmu djelovanja antipsihotika. Meta-analiza koju je proveo Zhang i koja obuhvaća polimorfizme -141C Ins/Del (rs1799732) i Taq1A (rs1800497) *DRD2* gena, prikazuje kako nositelji Del rs1799732 alela (Ins/Del ili Del/Del), koji predstavlja deleciju citozina na mjestu -141 imaju slabiji odgovor na antipsihotike dok polimorfizam rs1800497 nije povezan s odgovorom na terapiju (376). Ma i sur. u svojoj meta-analizi povezanosti polimorfizama dopaminskih receptora i učinka liječenja risperidonom koja objedinjuje podatke iz 12 studija uključujući 24 SNP-ova zaključuje da *DRD2* polimorfizmi Ser311Cys (rs1801028), A241G (rs1799978), 141C Ins/Del (rs1799732), T939C (rs6275), rs6277, i TaqID (rs1800498) utječu na terapiju, dok TaqIA(rs1800497) i TaqIB(rs17294542) nisu povezani s odgovorom na terapiju risperidonom. Dodatno, pozitivna poveznica između ispitivanih *DRD3* polimorfizama *i DRD1* polimorfizama i odgovora na terapiju nije potvrđena (377). Povezanost rs4532 *DRD1* polimorfizma i odgovora na terapiju klozapinom, također nije potvrđena u meta-analizi koju su proveli de Matos i sur. te u istraživanju koje su proveli Terzić i sur. (378, 379). Terzić i sur. dodatno nisu potvrdili povezanost *DRD1* (rs5326), *DRD2* (rs1801028, rs1799732) i *DRD3* (rs6280) polimorfizama i odgovora na terapiju različitim antipsihoticima (379).

Uz ova farmakogenetska istraživanja, povezanost polimorfizama dopaminskih receptora i pojave EPS-ova također je važna tema u nedavnim istraživanjima no dobiveni rezultati nisu ujednačeni. Mas i sur. u svom istraživanju u bolesnika s prvom epizodom psihoze liječenih antipsihoticima sugeriraju da postoji povezanost rs1124491 polimorfizma *DRD2* gena i akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava (380). Također, Guzey je zabilježio povezanost Taq1A A1 alela *DRD2* gena i povećani rizik od nastanka EPS-ova u bolesnika liječenih antipsihoticima dok je Hedenmalm tu povezanost uočio na uzorku starijih bolesnika liječenih selektivnim inhibitorima ponovne pohrane serotonina (366, 381). Nakazano i sur. u israživanju na japanskoj populaciji zabilježili su da osobe s -141C Del alelom također imaju povećani rizik od nastanka EPS-ova, no nisu potvrdili povezanost za polimorfizme Taq1A i Taq1B (382). Živković i sur. također nisu potvrdili povezanost Taq1A polimorfizma *DRD2* gena u muških bolesnika liječenih haloperidolom (368). Nadalje, Gunes i sur. nisu potvrdili povezanost polimorfizama Taq1A, -141C Ins/Del, Ser311Cys *DRD2* gena, ali ni polimorfizma Ser9Gly *DRD3* gena s

pojavom EPS-ova u bolesnika sa shizofrenijom liječenih perfenazinom (338). Dolžan i sur. su u ispitivanju na 131 slovenskih bolesnika sa shizofrenijom liječenih različitim antipsihoticima uključujući, haloperidol, flufenazin i risperidon istraživali povezanost polimorfizama A-48G *DRD1* gena, 141C Ins/Del i Ser311Cys *DRD2* gena i razvoja ekstrapiramdalnih nuspojava, no rezultati također nisu potvrdili povezanost (383).

1.6.5.2 Farmakogenetika serotoninskog sustava

Na temelju brojnih dokaza koji upućuju da i serotoninski sustav igra važnu ulogu u posredovanju djelovanja antipsihotika, istraživana je potencijalna povezanost genskih varijacija proteina serotoninskog sustava, posebice 5-HT_{2A} i 5-HT_{2C} i 5-HT_6 receptora i prijenosnika serotonina (SERT), s terapijskim odgovorom na antipsihotike.

Prijenosnik serotonina (SERT) regulira izvanstaničnu koncentraciju serotonina i time ima utjecaj na cjelokupni serotoninski sustav (384). Gen za serotoninski prijenosnik (*SLC6A4*), te njegovi polimorfizmi 5-HTTLPR, i STin2 VNTR (5-HTTVNTR) bili su fokus nekoliko studija povezanosti uglavnom s afektivnim poremećajem i odgovorom na terapiju antidepresivima, dok je u manjoj mjeri istraživana povezanost sa shizofrenijom. Meta-analiza koju su proveli Fan i sur. prikazuje da objedinjeni podaci iz 19 istraživanja koji su ukupno uključivali 2990 bolesnika i 3875 kontrola ne pokazuju povezanost 5-HTTLPR polimorfizma gena *SLC6A4* i shizofrenije, no podaci iz 12 studija koje su uključivale 2177 ispitanika i 2369 kontrola povezuje STin2 VNTR polimorfizam s razvojem shizofrenije (385). Nadalje, nekoliko studija istraživalo je povezanost 5-HTTVNTR polimorfizma i odgovora na terapiju u bolesnika sa shizofrenijom. Prema rezultatima u svojoj prospektivnoj studiji na 684 njemačkih bolesnika sa shizofrenijom, Kaiser i sur. nisu potvrdili povezanost spomenuta dva polimorfizma i odgovora na terapiju antipsihoticima (386). Lee i sur. istraživali su povezanost 5-HTTLPR i 5-HTTVNTR polimorfizama i odgovora na terapiju atipičnim antipsihoticima u 97 korejskih bolesnika sa shizofrenijom, no također, rezultati nisu potvrdili povezanost (387). S druge strane, Kohlrausch i sur, potvrdili su povezanost polimorfizma 5-HTTLPR i odgovora na klozapin u 116 bolesnika sa shizofrenijom zaključujući da bolesnici sa SS ili SL genotipom imaju povećan rizik od slabijeg odgovora na klozapin (388), čime zapravo potvrđuju rezultat istraživanja koji su proveli Arranz i sur. i rezultat istraživanja koju su proveli Božina i sur., ali u bolesnika liječenih olanzapinom (389).

Povezanost polimorfizama *SLC6A4* gena i razvitak EPS-ova nakon terapije antipsihoticima istraživana je u manjem broju studija. U istraživanju koje je uključilo 56 bolesnika sa shizofrenijom liječenih haloperidolom ili risperidonom, a koje su proveli Dolžan i sur., istraživana je povezanost 5-HTTLPR polimorfizma i odgovora na terapiju i pojave akutnih EPS-ova, no rezultati nisu potvrdili povezanost kao ni u istraživanju koje su proveli Tybura i

sur. (374, 390). Povezanost 5-HTTLPR polimorfizma i razvoja tardivne diskinezije istraživana je u nekoliko studija no povezanost također nije potvrđena (366, 372, 391).

S obzirom da su istraživanja djelovanja novijih, atipičnih antipsihotika otkrila kako su serotoninski receptori jedan od glavnih ciljnih mjesta djelovanja tih antipsihotika i da je njihova visoka zauzetost povezana s poboljšanjima negativnih i kognitivnih simptoma (392), logično je da su varijacije gena za serotoninske receptore postale važan čimbenik u farmakogenetskim istraživanjima odgovora na terapiju antipsihoticima.

Gen za 5-HT_{2A} receptor (*HTR2A*) nalazi se na kromosomu 13 (13q14-q21), a sastoji se otprilike od 20 kilobaza i kodira 471 aminokiselinu (344, 393). Brojna istraživanja najviše su se fokusirala na polimorfizam rs6313 (T102C) za serotoninski 5-HT_{2A} receptor i povezanost s odgovorom na terapiju antipsihotika. Meta-analiza ranijih istraživanja koja je objedinila podatke 373 bolesnika koji su odgovorili na terapiju klozapinom i 360 bolesnika koji nisu imali odgovarajući terapijski odgovor prikazuje povezanost rs6313 (T102C), ali i rs6314 (His452Tyr) polimorfizama i odgovora na terapiju klozapinom odnosno slabiji odgovor na terapiju kod nositelja C alela i Tyr alela (394, 395). Naime Tyr452 varijanta se povezuje sa smanjenim otpuštanjem kalcija i smanjenom aktivacijom fosfolipaze C i D što može dovesti do smanjene učinkovitosti antipsihotika (394, 392) dok se T102C smatra tihim polimorfizmom koji ne mijenja slijed aminokiselina proteina, nego svoj utjecaj ispoljava putem interakcije s drugim funkcionalnim varijantama koje utječu na vezanje klozapina (396). S druge strane, nekoliko studija u različitim populacijama nisu replicirale rezultate povezanosti T102C polimorfizma i odgovora na terapiju antipsihotikom klozapinom (397, 398). Također, nekoliko autora potvrdilo je povezanost G alela polimorfizma -1438-G/A u promotorskoj regiji istog gena s nižom promotorskom aktivnosti u usporedbi s A alelom te povezanost sa slabijim odgovorom na antipsihotike (394, 395). Mayers je u svom istraživanju u 156 ispitanika utvrdio međusobnu interakciju -1438A/G i -783A/G polimorfizma odnosno da G alel 783A/G polimorfizma u kombinaciji s G alelom -1438A/G polimorfizma smanjuje promotorsku aktivnost u genu i time sintezu proteina (399).

Gen za 5-HT_{2C} receptor (*HTR2C*) kodira 458 aminokiselina i nalazi se na kromosomu x (Xq24) (393). Nekoliko polimorfizama u genu za 5-HT_{2C} receptor također se povezuje s odgovorom na antipsihotičke lijekove, između kojih se najviše proučavan polimorfizam rs6318 (68G/C; Cys23Ser), koji se jedini nalazi u kodirajućoj regiji, dok se VNTR, rs3813929 (-759-T/C) i -995-G/A polimorfizmi nalaze u promotorskoj regiji (392). Ranije istraživanje koje su

proveli Sodhi i sur., zabilježilo je povezanost 23ser alela i boljeg odgovora na klozapin (400), no kasnija istraživanja nisu uspjela potvrditi ta zapažanja (401). Zbog neujednačenih rezultata, Veenstra-VanderWeele i sur. proveli su meta-analizu te utvrdili značajnu povezanost Cys23Ser polimorfizma i odgovora na klozapin (401). Li i sur. također, u svojoj nedavnoj studiji potvrdili su povezanost Ser 23 alela Cys23Ser polimorfizma i haplotipa −759C–Ser23 s poboljšanjem simptoma u muških bolesnika sa shizofrenijom liječenih klozapinom (402).

Gen za 5-HT_6 receptor (*HTR6*) nalazi se na kromosomu 1 (1q35-p36) i kodira 440 aminokiselina (393). Pojedina istraživanja pronašla su i povezanost polimorfizma rs1805054 (C267T) gena za 5-HT_6 receptor s učinkovitosti antipsihotika. Yu i sur. su u istraživanju u 97 bolesnika sa shizofrenijom utvrdili povezanost 267T/T genotipa sa značajno boljim odgovorom na terapiju klozapinom (403). Lane i sur. u svojoj studiji, također u kineskoj populaciji, sugeriraju povezanost 267T/T genotipa sa značajnim smanjenjem pozitivnih simptoma u bolesnika liječenih risperidonom (404). U istraživanju provedenom na 185 bolesnika, Masellis i sur. nisu potvrdili povezanost C267T i odgovora na terapiju klozapinom (405).

Gen za 5-HT_{1A} receptor (*HTR1A*) nalazi se na kromosomu 5 (5q11.2-13), ne sadrži introne a sastoji se od 2200 parova baza koje kodiraju 422 aminokiseline. Najčešće istraživani polimorfizam rs6295 (–1019C/G) nalazi se u promotorskoj regiji (406) i povezan je s depresijom i suicidom (407). Naime G alel navedenog polimorfizma, doprinosi gubiku kontrole genske ekspresije rezultirajući povećanom ekspresijom 5-HT_{1A} receptora odnosno smanjenom serotoninskom transmisijom, što doprinosi depresiji i anksioznosti te se vjeruje da je to jedan od mogućih mehanizama kojim utječe i na lošiji odgovor na terapiju antipsihoticima kako je i zabilježeno u istraživanju koje su proveli Reynolds i sur. (408). U studiji koja je uključila 100 japanskih bolesnika sa shizofrenijom ispitivali su se rs6295, rs1364043, rs878567 i rs10042486 polimorfizmi gena za 5-HT_{1A} receptor. Haplotipskom analizom utvrđeno je da je haplotip rs10042486-rs6295-rs1364043 T-C-G povezan sa slabijim poboljšanjem broja bodova na PANSS ljestvici te da je rs1364043 polimorfizam povezan s terapijskim učinkom na negativne simptome (407). U meta-analizi 10 istraživanja koja su uključivala 1218 ispitanika, Takekita i sur. istraživali su učinak rs6295, rs878567, rs1423691 polimorfizama na djelotvornost antipsihotika u bolesnika sa shizofrenijom, te je sugerirano da rs6295 utječe na poboljšanje negativnih simptoma, ali ne utječe i na pozitivne odnosno ukupne simptome (409).

Gen za 5-HT_{1B} receptor (*HTR1B*) nalazi se na kromosomu 6 i kodira 390 aminokiselina (393). rs13212041 (A1997G) polimorfizam nalazi se u netranslacijskoj regiji i ometa vezanje

mikroRNA, miR-96 i time ekspresiju 5-HT_{1B} receptora što može dovesti do poremećaja u ponašanju (410). Polimorfizmi gena za 5-HT_{1B} receptor u istraživanjima su povezani s razvojem alkoholizma (411), ali i s razvojem shizofrenije u studiji koju su proveli Xia i sur. u kojoj su zaključili da postoji značajna neravnoteža vezanja između polimorfizama rs17273700, rs11568817, rs9361234 i rs58138557 te da A alel rs1778258 polimorfizma doprinosti većem riziku razvoja shizofrenije u muških bolesnika (412).

U vezi uključenosti serotoninskog sustava u razvoj nuspojava antipsihotika, farmakogenetička istraživanja fokusirala su se primarno na povećanje tjelesne težine, dok ih se relativno malo bavilo razvojem ekstrapiramidalnih nuspojava (366). Činjenica da se atipični antipsihotici vežu za serotoninske receptore i u manjoj mjeri izazivaju tardivnu diskineziju, sugerira potencijalnu protektivnu ulogu serotoninskog sustava. Naime, osim dopaminskog sustava i serotoninski mehanizmi mogu biti također uključeni u razvoj ekstrapiramidalnih nuspojava, bilo utjecajem na otpuštanje dopamina ili preko serotoninskih receptora, koji također predstavljaju molekularne ciljeve antipsihotika.

Nekoliko podtipova serotoninskih receptora uključujući 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_3 i 5-HT_4 receptore potiče otpuštanje dopamina, dok 5-HT_{2C} receptor posreduje inhibicijski učinak serotonina na otpuštanje dopamina (413). Stoga npr. blokada 5-HT_{2A} receptora može doprinijeti normalizaciji razine otpuštanja dopamina (414) i tako ostvariti antipsihotičku aktivnost. S druge strane, predkliničke studije sugerirale su da aktivacija inhibicijskih 5-HT_{1A} autoreceptora također može spriječiti pojavu ekstrapiramidalnih nuspojava putem blokade D_2 receptora u striatumu (415).

S obzirom da postoje jake neuroanatomske i funkcionalne interakcije serotoninskog i dopaminskog sustava, te da serotoninski sustav u velikoj mjeri regulira i modulira aktivnost dopaminskog sustava, kao i obratno (416), moguće je da određene varijacije gena serotoninskih receptora mogu utjecati na razvoj ekstrapiramidalnih nuspojava tipičnih antipsihotika poput haloperidola, koji svoje učinke ostvaruju primarno putem dopaminskih receptora.

Premda su pojedina istraživanja na manjem broju ispitanika utvrdila povezanost kronične ekstrapiramidalne nuspojave tardivne diskinezije, koja je najčešća nuspojava istraživana u farmakogenetičkim studijama, i polimorfizama 102T/C i −1438G/A u genu za 5-HT_{2A} receptor, kao i polimorfizama poput Cys23Ser, -697G/C i -759C/T u genu za 5-HT_{2C} receptor, rezultati nisu ujednačeni (297, 338, 392, 417-420). Naime, u nekim se istraživanjima

utvrdilo da je 102C alel u genu HTR_{2A} češći u skupini koja je razvila ekstrapiramidalne nuspojave i svi bolesnici koji su razvili ekstrapiramidalne nuspojave imali su bar jednu varijantu 102C alela. Smatra se da taj polimorfizam doprinosi smanjenju ekspresije 5-HT_{2A} receptora u temporalnom korteksu, kao što je to prikazano u *postmortem* studiji u bolesnika sa 102C alelom (421) i time pridonosi razvoju shizofrenije, slabijem odgovoru na antipsihotike i razvoju EPS-ova (338). Suprotno tim rezultatima, Herken u istraživanju na 111 bolesnika sa shizofrenijom nije zabilježio povezanost 102T/C polimorfizma s ekstrapiramidalnim nuspojavama (372), kao ni Basille u svom istraživanju na 136 bolesnika (422). Također, značajna povezanost haplotipa 102C–452Tyr gena *HTR2A* i razvoja tardivne diskinezije posebice u starijih bolesnika zabilježena je u meta-analizi koja je obuhvatila 635 bolesnika različitih etničkih skupina (423).

Manji broj istraživanja bavio se povezanošću akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava i polimorfizma serotoninskih receptora. Gunes i sur. zabilježili su da su alel -697C i alel 23Ser u genu za 5-HT_{2C} receptor češći u skupini koja je razvila ekstrapiramidalne nuspojave u usporedbi sa skupinom koja nije razvila nuspojave, dok se −759T alel nije značajno razlikovao između te dvije skupine (338) što je u skladu s ranije provedenom studijom autora Zhang i sur. (424). Jedna od prednosti istraživanja koje su proveli Gunes i sur. je da su bolesnici liječeni perfenazinom u monoterapiji, što isključuje moguće interakcije između lijekova (338). S druge strane, Knol i sur. u svojem radu sugeriraju protektivni učinak -759T alela u razvoju parkinsonizma u starijih ženskih bolesnica tijekom liječenja haloperidolom. Razliku u odnosu na rezultate prethodnih studija autori objašnjavaju na način da prethodna istraživanja nisu izolirano razmatrala povezanost razvoja parkinsonizma i navedenog polimorfizma nego su istraživala skup ekstrapiramidalnih nuspojava, uz činjenicu da su te studije provedene na različitim popuacijama (419). Također, rs9567733 polimorfizam gena za 5-HT_{2A} receptor (*HTR2A*) koji utječe na potencijal vezanja serotoninskog prijenosnika, povezan je s razvojem akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava u istraživanju kojeg su proveli Mas i sur. na uzorku od 113 bolesnika (380).

Nadalje, 267C/T polimorfizam gena za 5-HT_6 receptor u nekim istraživanjima povezan je s razvojem shizofrenije, ali i s razvojem parkinsonove bolesti, što upućuje na njegovu ulogu u ekstrapiramidalnim motornim funkcijama (425). Zbog činjenice da je mRNA za 5-HT_6 receptor u većoj mjeri eksprimirana u ekstrapiramidalnim područjima kao što je strijatum, nukleus akumbens i hipotalamus, te činjenicu da je 5-HT_6 receptor jedno od ciljnih mjesta atipičnih antipsihotika, Ohmori i sur. istraživali su povezanost 267C/T polimorfizma gena za 5-HT_6 receptor i razvoj tardivne diskinezije u 173 bolesnika sa shizofrenijom u japanskoj

populaciji, ali povezanost nije utvrđena (426). Zaključili su da su dodatna istraživanja potrebna kako bi se pokušali ponoviti rezultati njihovog istraživanja (426).

Provedeno je i nekoliko cjelogenomskih analiza povezanosti (engl. *genome-wide association study*; GWAS) ekstrapiramidalnih nuspojava kod liječenja antipsihoticima, no niti jedna nije zabilježila značajnu povezanost polimorfizama povezanih sa serotoninskim receptorima (427-429).

Vjeruje se da razlika u alelima dovodi do konstitutivnih promjena receptora čineći ih tako više ili manje aktivnima ili čak dovodi do različite razine ekspresije serotoninskih receptora (338). Takve promjene serotoninskog sustava koji utječe na otpuštanje dopamina mogu dovesti do predispozicije za razvoj nuspojava. Stoga su neophodna daljnja genetska istraživanja uloge serotoninskog sustava u razvoju ekstrapiramidalnih nuspojava antipsihotika, u svrhu individualizacije psihofarmakološkog liječenja shizofrenije.

2 HIPOTEZA RADA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Hipoteza rada:

Postavljena je hipoteza da su pojedine varijante gena za serotoninske receptore rizični čimbenik za razvoj akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava nakon primjene antipsihotika haloperidola u bolesnika sa shizofrenijom.

Naime, hipoteza istraživanja je da postoji povezanost nekoliko polimorfizama smještenih u genima *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C* i *HTR6*, koji kodiraju za odgovarajuće 5-HT receptore, s pojedinim akutnim ekstrapiramidalnim nuspojavama koje se razvijaju nakon primjene antipsihotika haloperidola.

Ciljevi istraživanja:

Cilj ovog istraživanja bio je istražiti potencijalnu povezanost nekoliko polimorfizama smještenih u genima *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C* i *HTR6*, koji kodiraju za odgovarajuće 5-HT receptore, s akutnim ekstrapiramidalnim nuspojavama koje se razvijaju u bolesnika sa shizofrenijom nakon monoterapije haloperidolom.

Naime, cilj istraživanja bio je odrediti raspodjelu genotipova, haplotipova i alela polimorfizama rs878567 (*HTR1A*), rs6295 (*HTR1A*), rs13212041 (*HTR1B*), rs6313 (*HTR2A*), rs6314 (*HTR2A*), rs518147 (*HTR2C*), rs3813929 (*HTR2C*) i rs1805054 (*HTR6)* u oboljelih od shizofrenije sa i bez pojave pojedinih akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava nakon liječenja haloperidolom.

U tu svrhu postavljeni su i specifični ciljevi istraživanja:

1. Klinička evalucija bolesnika sa shizofrenijom liječenih haloperidolom tijekom 2 tjedna i procjena razvoja akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava odgovarajućim ocjenskim ljestvicama
2. Prikupljanje uzoraka krvi bolesnika sa shizofrenijom, izolacija DNA i genotipizacija s obzirom na polimorfizme smještene u genima *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C* i *HTR6*, a koji kodiraju za odgovarajuće 5-HT receptore
3. Analiza i statistička obrada dobivenih podataka u svrhu uvrđivanja povezanosti pojedinih genotipova, haplotipova i alela istraživanih genskih polimorfizama s razvojem specifičnih akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava u oboljelih od shizofrenije nakon monoterapije haloperidolom

Rezultati istraživanja trebali bi pridonijeti boljem razumijevanju genetskih čimbenika uključenih u pojavu akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava antipsihotika i usmjeriti daljnja istraživanja neurobioloških mehanizama značajnih u razvoju novih pristupa liječenju shizofrenije.

Dobiveni podaci trebali bi pomoći kliničarima da provedu farmakogenetički probir bolesnika sa shizofrenijom u svrhu individualiziranog pristupa liječenju antipsihoticima, te da prevencijom neželjenih nuspojava antipsihotika povećaju uspješnost liječenja i kvalitetu života oboljelih od shizofrenije.

3 MATERIJALI I METODE

3.1 Ispitanici

U predloženom istraživanju koristili su se prikupljeni klinički i demografski podaci i uzorci krvi od 229 osoba hrvatskog podrijetla muškog spola oboljelih od shizofrenije, te primljenih na liječenje u neuropsihijatrijsku bolnicu «Dr. Ivan Barbot», Popovača, u razdoblju od 2008. do 2011.. Iskusna psihijatrica dr. sc. Maja Živković u spomenutom je razdoblju postavila dijagnozu shizofrenije prema MKB-10 (deseta revizija međunarodne klasifikacije bolesti) i DSM-IV (engl. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th. Edition) (430).

Demografske podatke i podatke o povijesti bolesti ispitanika prikupila je dr. sc. Maja Živković iz kliničkog intervjua i medicinskih nalaza. Bolesnici su isključeni iz studije ako su imali: dijagnosticiranu ozbiljnu neurološku bolest, anamnezu o težoj traumi glave, dijagnosticiranu tešku tjelesnu bolest npr. malignu bolest, tešku bolest srca, bubrega, jetre, pluća ili metaboličku bolest, anamnezu o preboljenom malignom neuroleptičkom sindromu i ovisnost bilo koje vrste u zadnjih šest mjeseci. U istraživanje su uključene samo one osobe koje su pristale dati uzorak krvi i sudjelovati u istraživanju, što su potvrdile svojim pismenim informativnim pristankom. Istraživanje je u potpunosti provedeno u skladu s Helsinškom deklaracijom, te odobreno od strane Etičkog povjerenstva neuropsihijatrijske bolnice «Dr. Ivan Barbot», Popovača i Etičkog povjerenstva Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu.

Intenzitet bolesti i intenzitet pojedinih skupina simptoma bolesnika procijenila je dr. sc. Maja Živković ocjenskom ljestvicom PANSS (engl. *Positive and Negative Syndrome Scale*) (431) tijekom prvih nekoliko dana nakon što su ispitanici primljeni na liječenje. Kod uključivanja bolesnici nisu primili nikakvu antipsihotičku terapiju minimalno 48 sati prije uključenja u istraživanje, a većina bolesnika nije uzimale nikakve antipsihotike mjesecima prije uključivanja dok neki od bolesnika nisu nikada prije bili liječeni antipsihoticima. Tijekom dva tjedna liječenja, bolesnici su primali haloperidol u fiksnoj dozi od 15 mg/dan (oralno ili intramuskularno) i prateću terapiju diazepamom do 40 mg dnevno u slučaju nemira, nesanice i anksioznosti.

Razvoj akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava dr. sc. Maja Živković procijenila je standardiziranom ocjenskim ljestvicama SAS (engl. *Simpson-Angus Rating Scale*) (432), BARS (engl. *Barnes Akathisia Rating Scale*) (433), ESRS (engl. *Extrapyramidal Symptom*

Rating Scale) (434) tijekom liječenja haloperidolom. Nakon dva tjedna liječenja ispitanici su podijeljeni na one koji su razvili značajne akutne ekstrapiramidalne nuspojave (SAS broj bodova > 3) i one bez značajnih ekstrapiramidalnih nuspojava (SAS broj bodova ≤ 3).

U ESRS ljestvnici, iz dijela I. Upitnik za parkinsonizam, distoniju, diskineziju i akatiziju i Ljestvica ponašanja, isključena je točka 10 (Abnormalni nevoljni pokreti (diskinezija) ekstremiteta ili trupa) i točka 11 (Abnormalni nevoljni pokreti (diskinezija) jezika, vilice, usana ili lica). Iz dijela III. Pregled liječnika, isključena je točka 2 (Ne-akutna ili kronična ili tardivna diskinezija) te dio IV Diskinetički pokreti – pregled liječnika i dio V. Klinički globalni utisak ozbiljnosti diskinezije. Ovi dijelovi ESRS ljestvice nisu uzimani u obzir u ovom istraživanju jer evaluiraju kronične, a ne akutne ekstrapiramidalne nuspojave.

3.2 Uzorci

U predloženom istraživanju koristili su se prikupljeni uzorci krvi (4 ml) izvađeni ispitanicima oboljelim od shizofrenije u plastične šprice s 1 ml ACD (engl. *Acid Citrate Dextrose*) antikoagulansa, a koji su pohranjeni u Laboratoriju za molekularnu neuropsihijatriju na Zavodu za molekularnu medicinu, Instituta Ruđer Bošković. Iz već prikupljenih uzoraka krvi, izolirana je genomska DNA, napravljena odgovarajuća razrijeđenja matičnih uzoraka DNA, napravljena genotipizacija 8 različitih polimorfizama smještenih u genima za serotoninske receptore, te utvrđena raspodjela genotipova, haplotipova i alela primjenom specijaliziranih genetičkih programa. Dobiveni podatci zatim su statistički obrađeni i uspoređeni s demografskim i kliničkim podacima ispitanika koje je iz kliničkog intervjua i medicinskih nalaza prikupila dr. sc. Maja Živković.

3.3 Izolacija DNA iz krvi metodom isoljavanja

Genomska DNA iz leukocita periferne krvi izolirana je primjenom metode isoljavanja (435). Uzorci krvi izvađeni su iz zamrzivača, gdje su bili pohranjeni na -20 °C, na sobnu temperaturu da se otope. Nakon toga su 15 minuta miješani na valjkastoj miješalici. Mikropipetom je 300 μL krvi preneseno u plastične epruvete (Eppendorf, 1.5 mL), te dodano 900 μL hladnog pufera (RCLB, engl. *Red Cell Lysis Buffer*; 10 mM Tris, 5 mM $MgCl_2$, 10 mM NaCl, pH 7,6) kako bi se izazvala liza eritrocita. Sadržaj mikroepruvete dobro se promiješa na mješalici i ostavi 10 minuta na ledu, te zatim centrifugira 2 minute na 13 400 g. Kako bi raspadnuti eritrociti bili uklonjeni, supernatant se odlio pazeći da se ne digne talog. Postupak ispiranja taloga u puferu (RCLB), vorteksiranje i centrifugiranje ponovljeno je 3 puta, dok talog

nije bio sasvim bijele boje. Na talog se dodaje 300 µL SE pufera (75 mM NaCl, 25 mM Na_2EDTA, pH 8,0), 30 µL 10 % SDS-a (pH 7,2) i 1.5 µL proteinaze K (20 mg/kg), promiješa laganim okretanjem mikroepruvete, te inkubiral u termobloku 2 sata na 56 °C uz miješanje.

Tablica 8. Kemikalije za izolaciju DNA metodom isoljavanja

Kemikalije	**Sastav/koncentracija**	**Volumen po epruveti**
Pufer za lizu eritrocita (RCLB, engl. *Red cell lysis buffer*)	10 mM Tris, 5 mM $MgCl_2$, 10 mM NaCl, pH=7,6	900 µl
Natrij-EDTA pufer (SE-buffer, engl. *Sodium EDTA*)	75 mM NaCl, 25 mM Na_2EDTA, pH=8,0	300 µl
Natrij dodecil sulfat (SDS, engl. *Sodium dodecil sulphate*),	10 %, pH=7,2	30 µl
Proteinaza K	20 mg/kg	1.5 µl
NaCl	5 mM	160 µl
Izopropanol		800 µl
Etanol	75 %	250 µl
Tris-EDTA pufer (engl. *TE-buffer*)	10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH=8,0	100 µl

Nakon što se inkubacijom liziraju leukociti i jezgrine membrane, uzorci se ohlade na sobnoj temperaturi, te se doda 120 µL 5M NaCl, snažno promiješa i centrifugira 5 minuta na 12 000 g. Ovim se postupkom izdvaja DNA u supernatant. U novu mikroepruvetu prenese se 1,5 mL supernatanta i doda 800 µL ohlađenog izopropanola. Pažljivo se promiješa sadržaj epruvete izvrtanjem do pojave taloga DNA, a zatim centrifugira 2 minute na 12 000 g. Izopropanol se odlije, a talog DNA ispere s 250 µL 75 %-tnog etanola. Ponovil se postupak centrifugiranja (2 minute, 12 000 g), odlije se supernatant i ostavi talog na sušenju u digestoru 30 minuta. Konačno se doda 100 µL TE pufera (10 mM Tris, 1mM EDTA, pH 8,0), ostavi sat vremena pri 37 °C radi otapanja DNA. Otopljena DNA pohrani se u zamrzivač na -20 °C.

Koncentracija i čistoća dobivene DNA određuje se spektrofotometrijski pomoću uređaja NanoDrop 2000c UV-Vis Spectrophotometer (Thermo Scientific) na valnim duljinama 280 nm odnosno 260 nm. Koncentracija DNA izolirane metodom isoljavanja iz 300 µl pune krvi u TE puferu, iznosila je u prosjeku oko 100 ng/µl.

3.4 Određivanje genotipa metodom lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (Real-Time PCR)

Analiza (genotipizacija) polimorfizama provedena je metodom temeljenom na lančanoj reakciji polimerazom u stvarnom vremenu (RT-PCR, engl. *Real Time Polymerase Chain Reaction*), kojom se željeni odsječak DNA umnaža i kvantificira u stvarnom vremenu. Real-time PCR metoda, odnosno PCR u „stvarnom" vremenu inačica je klasične lančane reakcije polimerazom (PCR, engl. *Polymerase Chain Reaction*). Real-time PCR podrazumijeva praćenje PCR umnožavanja tijekom cijele reakcije u stvarnom vremenu. Dok se kod tradicionalnog PCR-a detekcija vrši u završnoj fazi na agaroznom gelu, kod RT-PCR-a provodi se simultana detekcija PCR produkta tijekom vremena pomoću fluorescentnih sondi ili početnica, čime se postiže visoka osjetljivost metode. Jedna od metoda koja se temelji na ovom principu je metoda alelne diskriminacije. Ona se primjenjuje pri istraživanju promjene u samo jednom nukleotidu (SNP, engl. *Single Nucleotide Polymorphism*)

U svrhu utvrđivanja genotipova polimorfizama rs878567 i rs6295 u genu *HRT1A* koji kodira za 5-HT_{1A} receptor, rs13212041 u genu *HTR1B* koji kodira za 5-HT_{1B} receptor, rs6313 i rs6314 u genu *HTR2A* koji kodira za 5-HT_{2A} receptor, rs518147 i rs3813929 u genu *HTR2C* koji kodira za 5-HT_{2C} receptor i rs1805054 u genu *HTR6* koji kodira za 5-HT_6 serotoninski receptor, korištene su specifične predizajnirani Taqman uzorci za genotipizaciju (engl. *Taqman SNP Genotyping Assay*) prema protokolu koji predlaže proizvođač (Applied Biosystems) (Tablica 9).

Svaki takav uzorak sadrži kombinaciju dviju početnica za umnažanje ciljane polimorfne sekvence i dviju Taqman flourogenih sondi. Flourogena sonda sastoji se od oligonukleotida označenih s fluorescentnom obilježavajućom bojom (engl. *reporter*) i prigušujućom bojom (engl. *quencher*), koji se nalaze na suprotnim stranama sonde. Za sustav u kojem postoje 2 alela, sonde specifične za svaki alel obilježene su različitim fluorescentnim obilježavajućim bojama (VIC i FAM). Taq-polimeraza dodaje nukleotide 5'-3' polimeraznom aktivnošću pri čemu istovremeno dolazi i do uklanjanja TaqMan sonde s kalupa DNA zbog 5'-3' egzonukleazne aktivnosti Taq-polimeraze. Ovim se procesom prigušivač fluorescencije udaljava od reporterske boje, te ona emitira fluorescenciju jer se prigušivač više ne nalazi u blizini reportera i ne blokira emisiju. U intaktnoj sondi, blizina prigušujuće boje smanjuje fluorescentni signal koji daje obilježavajuća boja, kao rezultat prijenosa energije fluorescentnom rezonancijom (FRET, engl. *Fluorescence Resonance Energy Transfer*).

Tablica 9. Istraživani polimorfizmi gena koji kodiraju za 5-HT receptore

Naziv SNP-a	Oznaka proizvodača	Smještaj	Tip SNP-a	Ciljana sekvenca [VIC/FAM]
***HTR2A* rs6313**	C___3042197_1_	Kromosom 13: 46895805 na GRCh38	Intron, Tranzicijska supstitucija, Tiha mutacija, Intragenski	ATGCATCAGAAGTGTTAGCTTCTCC[A/G]GAGTTAAAGTCATTACTGTAGAGCC
***HTR2A* rs6314**	C__11696920_20	Kromosom 13: 46834899 na GRCh38	Tranzicijska supstitucija, Pogrešna (engl. *Missense*) mutacija, Intragenski	TTGTCTTTAGAAGCCTCTTCAGAAT[A/G]CTGCTTTCCTAGAGCAACCATTGAG
***HTR2C* rs3813929**	C__27488117_10	Kromosom X: 114584047 na GRCh38	Intron, Tranzicijska supstitucija, Intragenski	CTGCTCTTGGCTCCTCCCCTCATCC[C/T]GCTTTTGGCCCAAGAGCGTGGTGCA
***HTR2C* rs518147**	C___2308053_10	Kromosom X: 114584109 na GRCh38	Transverzijska supstitucija, 5′ netranslatirana regija (UTR 5), Intragenski	GCGAGGTAGGCGCTCTGGTGCTTGC[C/G]GAGGACGCTTCCTTCCTCAGATGCA
***HTR1A* rs6295**	C__11904666_10	Kromosom 5: 63962738 na GRCh38	Intron, Transverzijska supstitucija, Intragenski	ATGGAAGAAGACCGAGTGTGTCTTC[C/G]TTTTTAAAAAGCTACCTCCGTTCTC
***HTR1A* rs878567**	C___8295923_20	Kromosom 5: 63960164 na GRCh38	Tranzicijska supstitucija, 3′ netranslatirana regija (UTR 3), Intragenski	GAGATAGAAGAGAGAAGAGGCAATT[A/G]CTGGGATCAAAACTGATGATACAGG
***HTR1B* rs13212041**	C__32252506_10	Kromosom 6: 77461407 na GRCh38	Tranzicijska supstitucija, 3′ netranslatirana regija (UTR 3), Intragenski	AAAAAATAAAGCAGTCTGCAGACTT[C/T]GGCACTAGCACACATAATGGTTTGT
***HTR6* rs1805054**	C___1264819_10	Kromosom 1: 19666020 na GRCh38	Tranzicijska supstitucija, Tiha mutacija, Intragenski	CGCCGGCCATGCTGAACGCGCTGTA[C/T]GGGCGCTGGGTGCTGGCGCGCGGCC

GRCh38-baza podataka *Genome Reference Consortium Human Build 38*

Izolirana DNA se odmrzne, pripreme razrjeđenja u destiliranoj vodi kako bi se u konačnici dobilo 1-20 ng DNA za genotipizaciju. Odpipetira se po 4,5 µL uzorka DNA u PCR reakcijske pločice i 5,5 µL reakcijske mješavine koja se sastojala od Taqman univerzalne mješavine (5 µL) i Taqman mješavine za genotipizaciju ciljanog SNP-a (0,5 µL).

Tablica 10. Sastav reakcijske smjese za genotipizaciju polimorfizama gena koji kodiraju za 5-HT receptore metodom lančane reakcija polimerazom u stvarnom vremenu

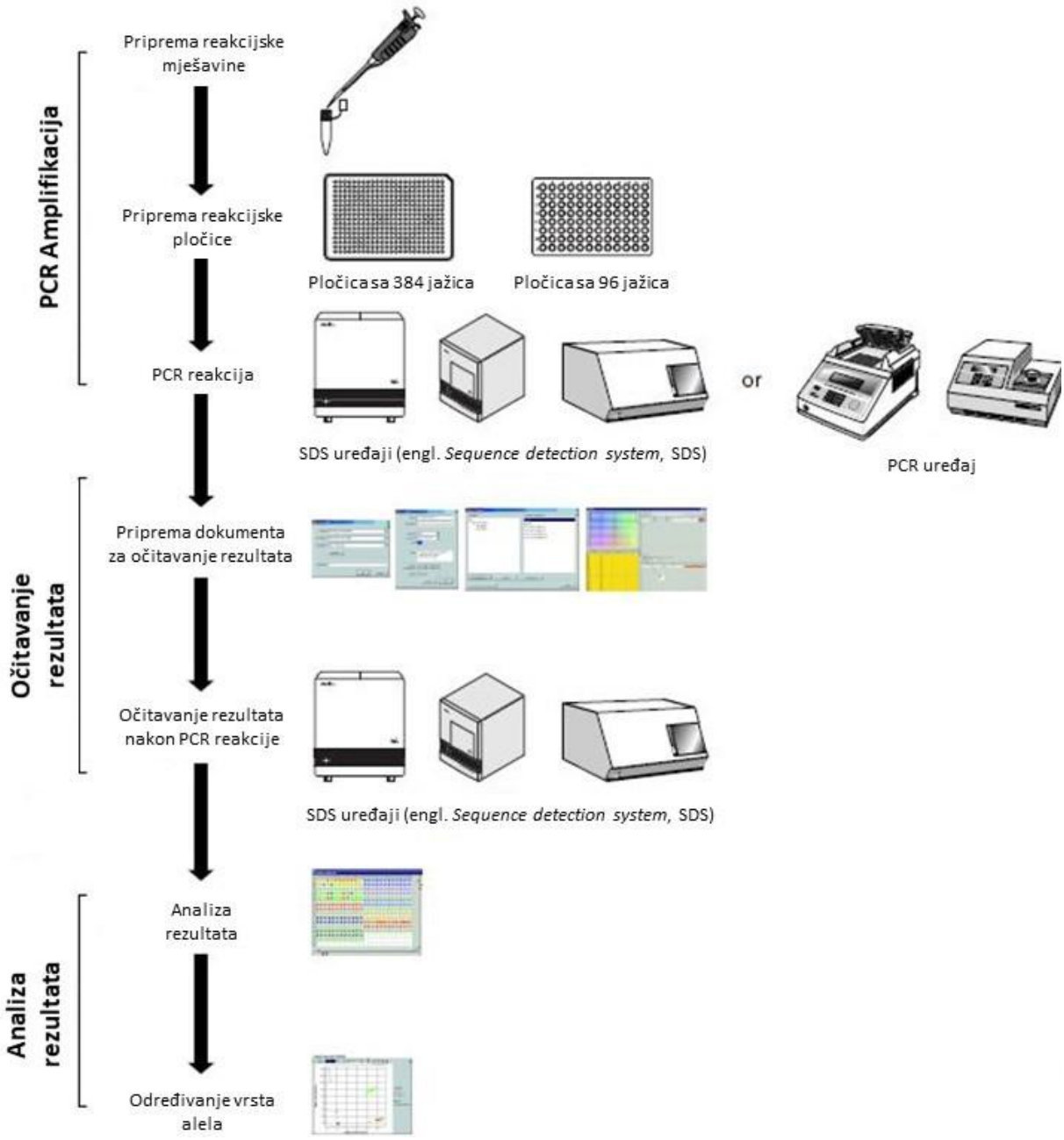
SASTOJAK	VOLUMEN
Genomska DNA (1-20 ng) otopljena u vodi	4,5 µl
40 X TaqMan mješavina neoznačenih početnica i bojom označenih proba (VIC i FAM)	0,5 µl
TaqMan univerzalna matična mješavina	5 µl
Ukupni volumen	**10 µl**

Reakcijske se pločice zatvore folijom i centrifugiraju 2 minute na 5000 rpm. Pločice se zatim stave u PCR uređaj "*ABI Prism 7000 Sequencing Detection System apparatus*" i pokrene proces genotipizacije prema uvjetima navedenim u Tablici 11.

Nakon početnog koraka denaturacije (10 min. na 92 °C), 20 ng DNA u prisutnosti TaqMan glavne univerzalne mješavine i mješavine za genotipizaciju ciljanog SNP-a, umnoženo je kroz 40 ciklusa RT-PCR reakcije (15 sekundi na 92 °C, 60 sekundi na 60 °C) u ukupnom volumenu od 10 µl (Tablica 11).

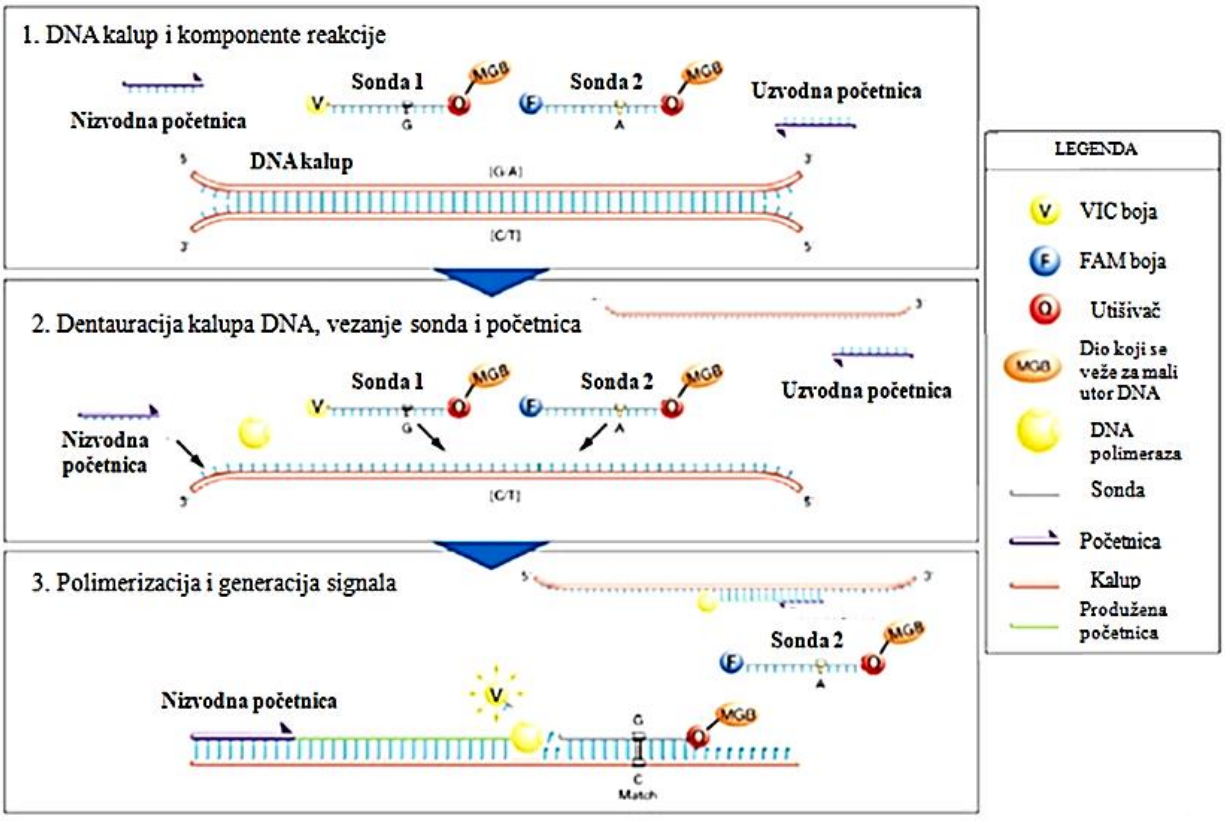
Tablica 11. Uvjeti reakcije za genotipizaciju polimorfizama gena koji kodiraju za 5-HT receptore metodom lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu

KORAK	TEMPERATURA	VRIJEME	BROJ CIKLUSA
Početni korak	95 ºC	10 min	
Denaturacija	92 ºC	15 s	40
Vezanje i produljenje početnica	60 ºC	60 s	

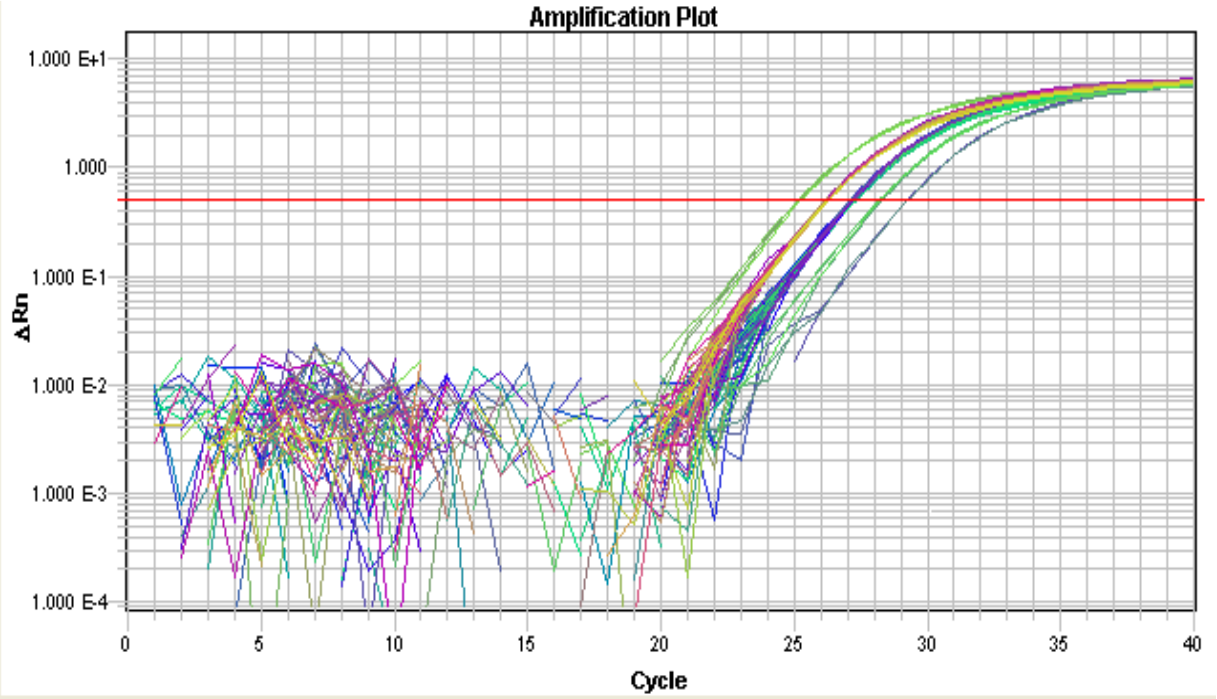


Slika 9. Prikaz postupka genotipizacije polimorfizama. Preuzeto i prilagođeno iz TaqMan® SNP Genotyping Assays Protocol, 2006. (436)

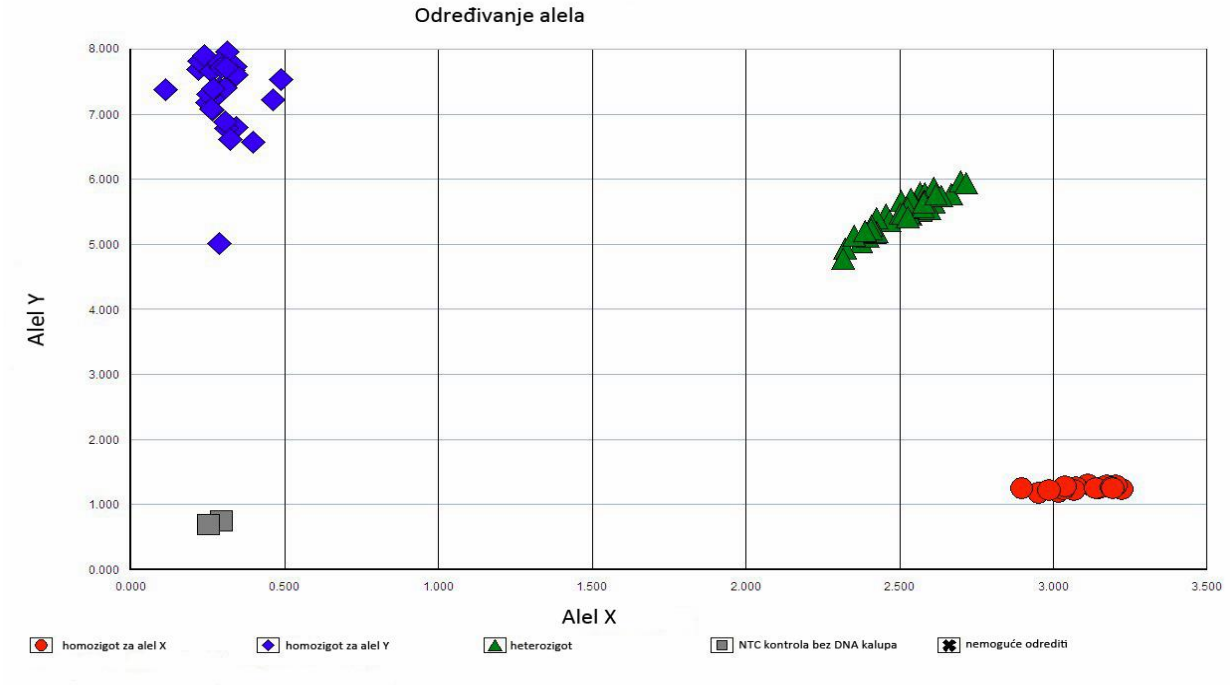
Kidanje fluoroscentne sonde tijekom lančane reakcije polimerazom oslobađa obilježavajuću boju i omogućuje pojavu fluorescencije. Uređaj «ABI Prism 7000 Sequencing Detection System Apparatus» (ABI, Foster City, SAD) mjeri pojačanje u fluorescenciji tijekom ciklusa umnažanja, detektirajući nakupljanje dobivenih DNA produkata u stvarnom vremenu. Nepodudaranje između sonde i ciljne sekvence značajno smanjuje učinkovitost hibridizacije i kidanje sonde. Prema tome, značajno povećanje u FAM ili VIC fluorescencijskim signalima upućuje na homozigotnost za FAM- ili VIC-specifične alele, dok povećanje u oba signala upućuje na heterozigotnost.



Slika 10. Shematski prikaz principa alelne diskriminacije SNP-ova 5' nukleaznom reakcijom u metodi lančanom reakcijom polimeraze u stvarnom vremenu. Preuzeto i prilagođeno iz TaqMan® SNP Genotyping Assays Protocol, 2006. (436)



Slika 11. Primjer prikaza amplifikacijskih krivulja (izvorna slika)



Slika 12. Primjer prikaza rezultata genotipizacije polimorfizama (izvorna slika)

3.5 Obrada podataka

Demografski i klinički podatci o bolesnicima prikazani su postupcima deskriptivne statistike. Za statističku obradu podataka korišten je računalni program "GraphPad Prism version 4.00 for Windows" (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Podaci su prikazani kao broj (n) i postotak (%) ili kao srednja vrijednost ± standardna devijacija (SD).

D'Agostino-Pearson omnibus normality test korišten je kako bi se provjerila normalnost raspodjele kvantitativnih podataka S obzirom da raspodjela podataka nije bila normalna, za usporedbu dviju skupina ispitanika korišten je neparametrijski Mann-Whitney test, dok je za usporedbu tri skupine primjenjen Kruskal-Wallisov test popraćena Dunn-ovim post-hoc testom višestruke komparacije.

Značajnost odstupanja dobivene raspodjele genotipova od očekivane (Hardy-Weinbergova raspodjela) kao i razlike u raspodjeli genotipova i alela istraživanih polimorfizama između različitih skupina određene su primjenom $\chi 2$ test-a ili Fisher-ovog testa (engl. *Fischer exact test*).

Program "Haploview version 4.2" upotrijebljen je za izradu LD (engl. *Linkage Disequilibrium*) matrica i utvrđivanje haplotipskih blokova polimorfizama koji se nalaze u istom genu, s minimalnom D' vrijednošću podešenom na 0,80. Osim programom "Haploview version 4.2" frekvencije pojedinih haplotipova istraživanih polimorfizama procijenile su se i programom "PLINK 1.90 beta" te usporedile pomoću $\chi 2$-testa.

G* Power 3 Softver korišten je za provođenje analize snage studije, tj. za *a priori* određivanje veličine uzorka. Za analize s $\chi 2$ testom (s α=0,01; snagom (1-β)=0,80 i malom veličinom učinka (ω=0,25)), za df=2 ukupna potrebna veličina uzorka je 223, a za df=1 (Fisher-ov test), ukupna potrebna veličina uzorka je 187. Za F test (Kruskal-Wallisov test) koji uključuje tri skupine (s α=0,01; snagom=0,80; i malom veličinom učinka=0,25), ukupna potrebna veličina uzorka je 227. Za t-test (Mann-Whitneyov test) (s α=0,01; snagom=0,80; i srednjom veličinom učinka=0,50), ukupna potrebna veličina uzorka je 228. Kako je stvarna ukupna veličina uzorka bila 229, analiza je pokazala odgovarajuću veličinu uzorka i statističku snagu studije.

4 REZULTATI

4.1 Sociodemografske i kliničke značajke ispitanika

Ispitivanje je uključilo 229 ispitanika isključivo muškog spola, prosječne dobi 36,49 ± 10,40 godina. Svi ispitanici bili su bijelci hrvatskog podrijetla, s dijagnozom shizofrenije.

Socio-demografske značajke ispitanika prikazane su u Tablici 12, u kojoj je vidljivo da su bolesnici sa shizofrenijom u trenutku ispitivanja u prosijeku bili prekomjerne težine, s prosječnim indeksom tjelesne mase (ITM) 26,54 ± 9,182.

Tablica 12. Sociodemografske karakteristike ispitanika

Ispitanici sa shizofrenijom	**n=229**
Dob (srednja vrijednost ± SD)	36,49 ± 10,40
ITM (srednja vrijednost ± SD)	26,54 ± 9,182
Stručna sprema	
Niža stručna sprema (NSS) (n, %)	49 (21,40 %)
Srednja stručna sprema (SSS) (n, %)	163 (71,18 %)
Visoka stručna sprema (VSS) (n, %)	17 (7,42 %)
Radni status	
Zaposlen (n, %)	35 (15,28 %)
Nezaposlen/Umirovljen (n, %)	181 (79, 04 %)
Školuje se (n, %)	13 (5,58 %)
Bračni status	
U braku (n, %)	23 (10,04 %)
Samac/rastavljen (n ,%)	206 (89,96 %)
Djeca	
Bez djece (n, %)	192 (83,84 %)
S djecom (n, %)	37 (16,16 %)
Konzumacija alkohola	
Da (n, %)	111 (48,47 %)
Ne (n, %)	118 (51,53 %)
Pušenje	
Da (n, %)	154 (67,25 %)
Ne (n, %)	75 (32,75 %)
Konzumacija psihoaktivnih tvari*	
Da (n, %)	49 (21,40 %)
Ne (n, %)	180 (78,60 %)

**Nije bio konzumacije ilegalnih psihoaktivnih tvari tijekom prethodnih 6 mjeseci*

Kao što se može vidjeti iz Tablice 12, manji udio bolesnika (n=35, 15,28 %) je u trenutku istraživanja bio zaposlen dok su preostali bili nezaposleni ili umirovljeni (n=181, 79,04 %) ili u procesu školovanja (n=13, 5,58 %).

Analizirajući formalnu naobrazbu bolesnika, primjećuje se da ih je većina imala srednju stručnu spremu (n=163, 71,18 %), sa značajno manje bolesnika s nižom stručnom spremom (n=49, 21,40 %), dok je najmanje bilo ispitanika s visokom stručnom spremom (n=17, 7,42 %).

Nadalje, mali udio bolesnika sa shizofrenijom, u trenutku ispitivanja, bilo je u braku (n=23, 10,04 %), dok je većina ispitanika bila neoženjena ili rastavljena (n=206, 89,96 %). Također, velika većina bolesnika nije imala djecu (n=192, 83,84 %).

Analizirajući pušački status, utvrđeno je da su veći udio ispitanika predstavljali pušači (n=154, 67,25 %), dok manji dio ispitanika nije pušio (n=75, 32,75 %). Konzumacija alkohola zabilježena je kod 113 bolesnika (48,47 %), dok 116 bolesnika (50,65 %) nije konzumiralo alkohol. Uočeno je također da je manji udio bolesnika sa shizofrenijom ranije konzumirao psihoaktivne tvari (n=49, 21,40 %), dok velika većina bolesnika (n=180, 78,60 %) nije konzumirala ilegalne psihoaktivne supstance (Tablica 12).

U Tablici 13. prikazane su kliničke osobine bolesnika sa shizofrenijom uključenih u istraživanje.

Tablica 13. Kliničke karakteristike ispitanika

Ispitanici sa shizofrenijom	**n=229**
PANSS ljestvica	
Bodovi na PANSS pozitivnoj podljestvici (srednja vrijednost ± SD)	35,76 ± 4,74
Bodovi na PANSS negativnoj podljestvici (srednja vrijednost ± SD)	34,41 ± 4,97
Bodovi na PANSS podljestvici opće psihopatologije (srednja vrijednost ± SD)	61,57 ± 7,40
Ukupni bodovi na PANSS ljestvici (srednja vrijednost ± SD)	131,7 ± 13,12
Prethodna terapija antipsihoticima**	
Pacijenti bez prethodne terapije (n, %)	24 (10,48 %)
Pacijenti s prethodnom terapiijom (n, %)	205 (89,92 %)
Tipični antipsihotici (n, %)	24 (10,48 %)
Atipični antipsihotici (n, %)	23 (10,04 %)
Kombinacija tipičnih i atipičnih antipsihotika (n, %)	158 (69,00 %)
Suicidalno ponašanje	
Pokušaj suicida (n, %)	57 (24,89 %)
Bez pokušaja suicida (n, %)	172 (75,11 %)
Dosadašnji tijek bolesti***	
Potpuno remisija	39 (17,03 %)
Djelomična remisija	160 (69,89 %)
Rezistencija na terapiju	30 (13,10 %)

*** Bez prethodne terapije antipsihoticima najmanje posljednjih 48 sati*
**** Kriteriji remisije: Bodovi na PANSS točkama P1, P2, P3, N1, N4, N6, G5, G9 ≤ 3 tijekom najmanje 6 mjeseci*

Kao što je prikazano u Tablici 13., bolesnici sa shizofrenijom imali su prosječan ukupan zbroj bodova na ocjenskoj ljestvici PANSS kod dolaska na liječenje od 131,7 ± 13,12. Prosijek ukupnog zbroja bodova na pozitivnoj podljestvici PANSS bolesnika bio je 36,5 ± 4,74, a na negativnoj podljestvici PANSS 34,41 ± 4,97. Ukupni zbroj bodova na podljestvici opće psihopatologije u bolesnika sa shizofrenijom iznosio je 61,57 ± 7,40.

Analizom prethodnog liječenja, ustanovljeno je da je većina bolesnika prethodno liječena antipsihoticima (n=205, 89,52 %), dok 24 bolesnika (10,48 %) nije primalo prethodnu terapiju. Nadalje, većina bolesnika sa shizofrenijom prethodno je primala kombinaciju tipičnih i atipičnih antipsihotika (n=158, 69,00 %), dok je 24 bolesnika (10,48 %) prethodno uzimalo samo tipične antipsihotike, a 23 bolesnika (10,04%) samo atipične antipsihotike (Tablica 13.).

Analizom suicidalnog ponašanja utvrđeno je da je 57 (24,89 %) bolesnika sa shizofrenijom pokušalo suicid tijekom života, dok većina bolesnika nije pokušala samoubojstvo (n=172, 75,11 %).

Vezano za prethodni tijek bolesti, čak 199 bolesnika (86,90 %) imalo je prethodnu parcijalnu ili potpunu remisiju bolesti, od čega je 39 bolesnika (17,03 %) postiglo potpunu, a 160 bolesnika (69,89 %) djelomičnu remisiju, dok je 30 bolesnika (13,10 %) bilo rezistentno na terapiju (Tablica 13.).

4.2 Akutne ekstrapiramidalne nuspojave

Ukupno 153 (66,81 %) bolesnika sa shizofrenijom prijavilo je pojavu nekog oblika akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava tijekom monoterapije haloperidolom. Vrijeme od početka liječenja haloperidolom do pojave akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava u bolesnika iznosilo je u prosjeku 5,04 ± 2,76 dana.

Razvoj akutnih akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava procijenjen je standardiziranim ocjenskim ljestvicama SAS (engl. *Simpson-Angus Rating Scale*), BARS (engl. *Barnes Akathisia Rating Scale*) i ESRS (engl. *Extrapyramidal Symptom Rating Scale*).

U Tablici 14. prikazane su akutne ekstrapiramidalne nuspojave bolesnika sa shizofrenijom tretiranih haloperidolom utvrđene prema SAS ocjenskoj ljestvici.

Tablica 14. Akutne ekstrapiramidalne nuspojave (EPS) bolesnika sa shizofrenijom prema SAS ocjenskoj ljestvici

Akutni EPS prema SAS ocjenskoj ljestvici	**Broj bolesnika (n, %)**	**Bodovi (srednja vrijednost ± SD)**
Abnormalno držanje	82 (35,81 %)	0,635 ± 0,936
Padanje ruku	68 (29,69 %)	0,446 ± 0,758
Trešnja ramenima	47 (20,52 %)	0,338 ± 0,730
Rigidnost lakta	67 (29,26 %)	0,459 ± 0,788
Rigidnost zapešća	66 (28,82 %)	0,441 ± 0,763
Okretanje glave	64 (27,95 %)	0,464 ± 0,838
Kuckanje po glabeli	44 (19,21 %)	0,231 ± 0,524
Tremor	87 (37,99 %)	0,878 ± 1,193
Salivacija	81 (35,37 %)	0,790 ± 1,151
Akatizija	53 (23,14 %)	0,402 ± 0,798
Ukupan broj SAS bodova	145 (63,32 %)	4,965 ± 5,643
Značajni akutni EPS-ovi*	111 (48,03 %)	SAS score >3

**Pacijenti sa SAS bodovima > 3 imaju značajni akutni EPS*

Prema ocjenskoj ljestvici SAS, kod 145 bolesnika sa shizofrenijom (63,32 %) zabilježen je neki oblik akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava nakon terapije haloperidolom, dok su kod 111 ispitanika (48,03 %) primjećene značajne akutne ekstrapiramidalne nuspojave (broj SAS bodova > 3). Prosječan ukupan broj bodova bolesnika zabilježen ocjenskom ljestvicom SAS iznosio je 4,965 ± 5,643 (Tablica 14).

Kao što se prikazano u Tablici 14, prema SAS ocjenskoj ljestvici najčešći akutni EPS-ovi bili su tremor, koji je bio prisutan u 87 ispitanika (37,99 %), te abnormalno držanje koje je bilo prisutno u 82 ispitanika (35,81 %). Nakon toga slijede salivacija, primjećena u 81

ispitanika (35,37 %), padanje ruku u 68 ispitanika (29,69 %), rigidnost lakta u 67 ispitanika (29,26 %), rigidnost zapešća u 66 ispitanika (28,82 %) i okretanje glave u 64 ispitanika (27,95 %). Najrjeđi akutni EPS-ovi bili su akatizija, koja je bila prisutna u 53 ispitanika (23,14 %), trešnja ramenima u 47 ispitanika (20,52 %) i kuckanje po glabeli u 44 ispitanika (19,21 %).

Prema SAS ocjenskoj ljestvici (Tablica 14.) od akutnih EPS-ova primjećenih u ispitanika tijekom terapije haloperidolom, najteži su bili simptomi tremora (0,878 ± 1,193), salivacije (0,790 ± 1,151) i abnormalnog držanja (0,635 ± 0,936). Srednju težinu imali su simptomi okretanja glave (0,464 ± 0,838), rigidnosti lakta (0,459 ± 0,788), padanja ruku (0,446 ± 0,758), rigidnosti zapešća (0,441 ± 0,763), akatizije (0,402 ± 0,798) i trešnje ramenima (0,338 ± 0,730). Najslabije izraženi akutni EPS u bolesnika bio je kuckanje po glabeli (0,231 ± 0,524).

Frekvencija pojave akatizije zabilježene SAS ocjenskom ljestvicom podudara se s rezultatima dobivenima evaluacijom prema BARS ocjenskoj ljestvici koja evaluira akatiziju, te je prema obje ocjenske ljestvice pojava akatizije nakon monoterapije haloperidolom zabilježena u ~23 % ispitanika (Tablica 15.). Kao što je prikazano u Tablici 15., srednja vrijedost ukupnog broja BARS bodova u ispitanika sa shizofrenijom liječenih haloperidolom iznosila je 1,489 ± 2,989.

Tablica 15. Akutne ekstrapiramidalne nuspojave (EPS) bolesnika sa shizofrenijom prema BARS ocjenskoj ljestvici

Akutni EPS prema BARS ocjenskoj ljestvici	**Broj bolesnika (n, %)**	**Bodovi (srednja vrijednost ± SD)**
Objektivna ocjena	52 (22,71 %)	0,367 ± 0,735
Subjektivna ocjena –svijest o nemiru	52 (22,71 %)	0,375 ± 0,777
Subjektivna ocjena – nevolje vezane uz nemir	51 (23,14 %)	0,367 ± 0,770
Globalna klinička procjena akatizije	53 (23,14 %)	0,377 ± 0,755
Ukupan broj BARS bodova	53 (23,14 %)	1,489 ± 2,989

Tijekom evaluacije ESRS ocjenskom ljestvicom isključeni su pojedini dijelovi ljestvice koji se odnose na kronične EPS-ove (Tablica 16). Prema ESRS upitniku i ljestvici ponašanja, 150 bolesnika sa shizofrenijom (65,50 %) prijavilo je parkinsonizam, distoniju, ili akatiziju prilikom terapije haloperidolom. Pregledom liječnika ustanovljeni su bradikinezija u 99 ispitanika (43,23 %), poremećaj u ravnoteži i držanju u 95 ispitanika (41,48 %) i rigidnost u 91 ispitanika (39,74 %) kao najčešći akutni EPS-ovi monoterapije haloperidolom. Izraženi nevoljni pokreti zabilježeni su u 90 ispitanika (39,30 %), tremor u 79 ispitanika (34,50 %), sialoreja u 76 ispitanika (33,19 %), problem u posturalnoj stabilnosti u 58 ispitanika (25,33 %) i akatizija u 54 ispitanika (23,58 %).

U bolesnika sa shizofrenijom liječenih haloperidolom najznačajniji akutni EPS-ovi, s najvišim brojem bodova na ESRS ljestvici bili su tremor (3,383 ± 5,198) i rigidnost (3,081 ± 4,333). Prema broju ESRS bodova zatim slijede sialoreja (1,054 ± 1,521), bradikinezija (0,860 ± 1,143), poremećaj u ravnoteži i držanju (0,851 ± 1,185), izraženi nevoljni pokreti (0,797 ± 1,097), dok su akutni EPS-ovi s najnižim ESRS brojem bodova bili akatizija (0,495 ± 1,015) i posturalna stabilnost (0,423 ± 0,824). Sukladno rezultatima na SAS i BARS ocjenskim ljestvicama, u ESRS ocjenskoj ljestvici akatizija je također zabilježena u ~23 % bolesnika sa shizofrenijom tijekom monoterapije haloperidolom.

Tablica 16. Akutne ekstrapiramidalne nuspojave (EPS) bolesnika sa shizofrenijom prema ESRS ocjenskoj ljestvici

Akutni EPS prema ESRS ocjenskoj ljestvici*	**Broj bolesnika (n, %)**	**Bodovi (srednja vrijednost ± SD)**
I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja	150 (65,50%)	5,018 ± 4,774
II Uvid u parkinsonizam i akatiziju-pregled liječnika		
Izraženi nevoljni pokreti (lice/govor)	90 (39,30 %)	0,797 ± 1,097
Bradikinezija	99 (43,23 %)	0,860 ± 1,143
Rigidnost	91 (39,74 %)	3,081 ± 4,333
Hod i držanje	95 (41,48 %)	0,851 ± 1,185
Tremor	79 (34,50 %)	3,383 ± 5,198
Akatizija	54 (23,58 %)	0,495 ± 1,015
Sialoreja	76 (33,19 %)	1,054 ± 1,521
Posturalna stabilnost	58 (25,33 %)	0,423 ± 0,824
III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija	40 (17,47 %)	1,680 ± 4,745
VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma	135 (58,95%)	2,077 ± 1,905
VII Klinička globalna procjena težine distonije	44 (19,21 %)	0,874 ± 1,889
VIII Stupanj parkinsonizma	132 (57,64%)	1,473 ± 1,334
Ukupni broj ESRS bodova	150 (65,50%)	21,49 ± 21,24

** *Iz ESRS ljestvice isključene su točke 10. i 11. iz dijela I, točka 2. iz dijela III, i dijelovi IV i V.*

Iako su kliničkom globalnom procjenom u okviru ESRS ljestvice utvrđeni simptomi parkinsonizma kod ~58 % ispitanika, njihovi simptomi bili su vrlo blagi (2,077 ± 1,905 bodova), s minimalnim ili niskim stupnjem parkinsonizma (Tablica 16.). Akutna torzijska distonija utvrđena je u 40 (17,47 %) bolesnika sa shizofrenijom liječenih haloperidolom, također s lakšim simptomima (0,874 ± 1,889 bodova). Kao što je prikazano u Tablici 16., ukupni prosječni broj bodova na ESRS ljestvici u bolesnika sa shizofrenijom tijekom monoterapije haloperidolom iznosio je 21,49 ± 21,24.

4.3 Raspodjela genotipova i alela genskih polimorfizama u ukupnom uzroku bolesnika sa shizofrenijom

Ispitivanje genskih polimorfizama provedeno je PCR reakcijom u stvarnom vremenu na DNA izoliranoj iz uzorka krvi bolesnika sa shizofrenijom liječenih haloperidolom. Ovo istraživanje usmjereno je na istraživanje polimorfizama u genima koji kodiraju za različite serotoninske receptore. U tu svrhu istraženi su polimorfizmi rs6295 i rs878567 u genu *HTR1A,* polimorfizam rs13212041 u genu *HTR1B,* polimorfizmi rs6313 i rs6314 u genu *HTR2A,* polimorfizmi rs3813929 i rs518147 u genu *HTR2C* i polimorfizam rs1805054 u genu *HTR6.* Raspodjela genotipova u bolesnika oboljelih od shizofrenije za sve istraživane polimorfizme gena za 5-HT receptore bila je u skladu s Hardy-Weinbergovom ravnotežom (engl. *Hardy-Weinberg equilibrium,* HWE) (Tablica 17.).

Tablica 17. Raspodjela genotipova i alela istraživanih polimorfizama u ukupnom uzroku ispitanika

Polimorfizam	**Učestalost genotipa**			**HWE***	**Učestalost alela**	
***HTR1A* rs6295**	**CC**	**CG**	**GG**		**C**	**G**
n=208	55 (26,44 %)	110 (52,88 %)	43 (20,67 %)	χ^2=0,780 P=0,377	220 (52,88 %)	196 (47,12 %)
***HTR1A* rs878567**	**AA**	**AG**	**GG**		**A**	**G**
n=217	92 (42,20 %)	95 (43,78 %)	30 (13,82 %)	χ^2=0,471 P=0,492	279 (64,29 %)	155 (35,71 %)
***HTR1B* rs13212041**	**CC**	**CT**	**TT**		**C**	**T**
n=210	5 (2,38 %)	78 (37,14 %)	127 (60,48 %)	χ^2=3,090 P=0,079	88 (20,95 %)	332 (79,05 %)
***HTR2A* rs6313**	**CC**	**CT**	**TT**		**C**	**T**
n=229	79 (34,50 %)	111 (48,47 %)	39 (17,03 %)	χ^2=0,000 P=0,999	269 (58,73 %)	189 (41,27 %)
***HTR2A* rs6314**	**AA**	**AG**	**GG**		**A**	**G**
n=211	0 (0,00 %)	34 (16,11 %)	177 (83,88 %)	χ^2=1,620 P=0,203	34 (8,06 %)	388 (91,94 %)
***HTR2C* rs3813929**	/	/	/	/	**C**	**T**
n=229	/	/	/	/	183 (79,91 %)	46 (20,09 %)
***HTR2C* rs518147**	/	/	/		**C**	**G**
n=212	/	/	/	/	64 (30,19 %)	148 (69,81 %)
***HTR6* rs1805054**	**CC**	**CT**	**TT**		**C**	**T**
n=209	128 (61,24 %)	73 (34,93 %)	8 (3,83 %)	χ^2=0,371 P=0,543	329 (78,71 %)	89 (21,29 %)

**ako je p < 0.05, rezultat nije u skladu sa Hardy-Weinbergovom ravnotežom (HWE)*

Analizom *HTR1A* rs6295 polimorfizma utvrđeno je da su 55 ispitanika (26,44 %) bili nositelji CC genotipa, 110 ispitanika (52,88 %) nositelji CG genotipa. a njih 43 (20,67 %) bili su nositelji GG genotipa (Tablica 17.). Odnosno, u istraživanom uzorku bilo je prisutno 220 (52,88 %) C alela, te 196 (47,12 %) G alela *5-HT1A* rs6295 polimorfizma. Kao što je prikazano u Tablici 17., istraživanje *HTR1A* rs878567 polimorfizma utvrđeno je da su 92 bolesnika (42,20 %) bili nositelji AA genotipa, 95 bolesnika (43,78 %) bili su nositelji AG genotipa, a 30 (13,82 %) ispitanika nosili su GG genotip. U bolesnika sa shizofrenijom učestalost A alela iznosila je 279 (64,29 %), a G alela 155 (35,71 %).

U slučaju *HTR1B* rs13212041 polimorfizma utvrđeno je da su 5 ispitanika (2,38 %) bili nositelji CC genotipa, 78 bolesnika (37,14 %), bili su nositelji CT genotipa, a 127 ispitanika (60,48 %) imali su TT genotip (Tablica 17.). Sukladno tome, frekvencija C alela bila je 88 (20,95 %) , a T alela 332 (79,05 %).

Analiza *HTR2A* rs6313 polimorfizma pokazala je da su 79 ispitanika (34,50 %) bili nositelji CC genotipa, 111 ispitanika (48,47 %) bili su nositelji CT genotipa, a njih 39 (17,03 %) bili su nositelji TT genotipa (Tablica 17.). U istraživanom uzorku bilo je prisutno ukupno 269 (58,73 %) C alela i 189 (41,27 %) T alela. Kao što je vidljivo iz Tablice 17., u slučaju *HTR2A* rs6314 polimorfizma niti jedan ispitanik (0,00 %) nije imao AA genotip, dok je 34 ispitanika (16,11 %) imalo AG genotip, a 177 ispitanika (83,88 %) nosilo je GG genotip. Odnosno, u ukupnom uzroku bilo je 34 (8,06 %) alela A i 388 (91,94 %) alela G.

S obzirom da se gen *HTR2C* nalazi na X kromosomu, u slučaju *HTR2C* rs3813929 i *HTR2C* rs518147 polimorfizama muškarci su nositelji samo jednog alela. Za *HTR2C* rs3813929 polimorfizam utvrđeno je 183 (79,91 %) C alela, te 46 (20,09 %) T alela, dok su u slučaju *HTR2C* rs518147 polimorfizma, 64 ispitanika (30,19 %) bili nositelji C alela, a 148 ispitanika (69,81 %) nosili su G alel (Tablica 17.).

Kao što je prikazano u Tablici 17, istraživanje *HTR6* rs1805054 polimofizma pokazalo je da su 128 ispitanika (61,24 %) bili nositelji CC genotipa, njih 73 (34,93 %) bili su nositelji CT genotipa, a 8 ispitanika (3,83 %) nosilo je TT genotip. Odnosno, analiza istraživanog uzorka utvrdila je 329 (78,71 %) C alela i 89 (21,29 %) T alela (Tablica 17.).

4.4 Raspodjela genotipova i alela genskih polimorfizama i razvoj značajnih akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava bolesnika

U Tablici 18., prikazana je raspodjela genotipova i alela istraživanih polimorfizama gena za 5-HT receptore u bolesnika sa shizofrenijom podjeljenih prema razvoju značajnih akutnih EPS-ova nakon liječenja haloperidolom. Razlika u raspodjeli genotipova i alela istraživanih polimorfizama između bolesnika sa shizofrenijom koji su razvili značajne akutne EPS-ove (broj SAS bodova > 3) i onih koji nisu razvili značajne akutne EPS-ove (broj SAS bodova ≤ 3) određivana je primjenom $\chi 2$ test-a, odnosno Fisher-ovog testa.

Nije primjećena značajna razlika u učestalosti genotipova ($\chi 2$=1,073, P=0,585) ili alela (P=0,433, Fisherov test) *HTR1A* rs6295 polimorfizma, kao niti u učestalosti genotipova ($\chi 2$=0,290, P=0,865) ili alela (P=0,920, Fisherov test) *HTR1A* rs878567 polimorfizma između bolesnika sa shizofrenijom koji jesu i nisu razvili značajne akutne EPS-ove (Tablica 18.). Kao što se može vidjeti u Tablici 18., u slučaju *HTR1B* rs13212041 polimorfizma, ispitanici sa i bez značajnih akutnih EPS-ova također se nisu značajno razlikovali u frekvenciji genotipova ($\chi 2$=5,804, P= 0,055) niti alela (P=0,330, Fisherov test). Između bolesnika sa i bez značajnih akutnih EPS-ova nije bilo značajnih razlika u učestalosti genotipova ($\chi 2$=3,393, P=0,183) i alela (P=0,183, Fisherov test) *HTR2A* rs6313 polimofizma, kao niti u učestalosti genotipova (χ^2=0,811, P=0,666) i alela (P=0,475, Fisherov test) *HTR2A* rs6314 polimorfizma (Tablica 18.). Kao što je prikazano u Tablici 18., značajne razlike u učestalosti alela nisu utvrđene između ispitanika sa i bez značajnih akutnih EPS-ova nakon terapije haloperidolom za *HTR2C* rs3813929 polimofizam (P=0,510, Fisherov test), kao niti za *HTR2C* rs518147 polimorfizam (P=0,231, Fisherov test). Analizom *HTR6* rs1805054 polimorfizma također nisu utvrđene značajne razlike u distribuciji genotipova ($\chi 2$=2,803, P=0,246) i alela (P=0,120, Fisherov test) izmedu bolesnika s prisutnim i odsutnim značajnim akutnim EPS-ovima nakon monoterapije haloperidolom (Tablica 18.).

Tablica 18. Raspodjela genotipova i alela genskih polimorfizama u bolesnika sa i bez razvoja značajnih akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava nakon terapije haloperdiolom

Polimorfizam	**Učestalost genotipa (n, %)**				**Učestalost alela (n, %)**		
***HTR1A* rs6295**	**CC**	**CG**	**GG**	χ^2=1,073 P=0,585	**C**	**G**	P=0,433 Fisherov test
Značajni EPS-ovi prisutni	30 (29,70 %)	51 (50,50 %)	20 (19,80 %)		111 (54,95 %)	91 (45,05 %)	
Značajni EPS-ovi odsutni	25 (23,36 %)	59 (55,14 %)	23 (21,50 %)		109 (50,93 %)	105 (49,07 %)	
***HTR1A* rs878567**	**AA**	**AG**	**GG**	χ^2=0,290 P=0,865	**A**	**G**	P=0,920 Fisherov test
Značajni EPS-ovi prisutni	46 (43,81 %)	44 (41,90 %)	15 (14,29 %)		136 (64,76 %)	74 (35,24 %)	
Značajni EPS-ovi odsutni	46 (41,07 %)	51 (45,54 %)	15 (13,39 %)		143 (63,84 %)	81 (36,16 %)	
***HTR1B* rs13212041**	**CC**	**CT**	**TT**	χ^2=5,804 P= 0,055	**C**	**T**	P=0,330 Fisherov test
Značajni EPS-ovi prisutni	4 (3,88 %)	29 (28,15 %)	70 (67,96 %)		37 (17,96 %)	169 (82,04 %)	
Značajni EPS-ovi odsutni	1 (0,93 %)	45 (42,06 %)	61 (57,01 %)		47 (21,96 %)	167 (78,04 %)	
***HTR2A* rs6313**	**CC**	**CT**	**TT**	χ^2=3,393 P=0,183	**C**	**T**	P=0,183 Fisherov test
Značajni EPS-ovi prisutni	32 (28,83 %)	60 (54,05 %)	19 (17,12 %)		120 (55,05 %)	98 (44,95 %)	
Značajni EPS-ovi odsutni	47 (39,83 %)	51 (43,22 %)	20 (16,95 %)		145 (61,44 %)	91 (38,56 %)	
***HTR2A* rs6314**	**AA**	**AG**	**GG**	χ^2=0,811 P=0,666	**A**	**G**	P=0,475 Fisherov test
Značajni EPS-ovi prisutni	0 (0,00 %)	19 (18,45 %)	84 (81,55 %)		19 (9,22 %)	187 (90,78 %)	
Značajni EPS-ovi odsutni	0 (0,00 %)	15 (13,89 %)	93 (86,11 %)		15 (6,94 %)	201 (93,06 %)	
***HTR2C* rs3813929**	/	/	/	/	**C**	**T**	P=0,510 Fisherov test
Značajni EPS-ovi prisutni	/	/	/		91 (81,98 %)	20 (18,02 %)	
Značajni EPS-ovi odsutni	/	/	/		92 (77,97 %)	26 (22,03 %)	
***HTR2C* rs518147**	/	/	/	/	**C**	**G**	P=0,231 Fisherov test
Značajni EPS-ovi prisutni	/	/	/		27 (25,96 %)	77 (74,04 %)	
Značajni EPS-ovi odsutni	/	/	/		37 (34,26 %)	71 (65,74 %)	
***HTR6* rs1805054**	**CC**	**CT**	TT	χ^2=2,803 P=0,246	**C**	**T**	P=0,120 Fisherov test
Značajni EPS-ovi prisutni	55 (55,56 %)	39 (39,39 %)	5 (5,05 %)		149 (75,25 %)	49 (24,75 %)	
Značajni EPS-ovi odsutni	73 (66,36 %)	34 (30,91 %)	3 (2,73 %)		180 (81,82 %)	40 (18,18 %)	

4.5 Raspodjela genotipova i alela genskih polimorfizama i ukupni bodovi SAS, BARS i ESRS ocjenskih ljestvica bolesnika

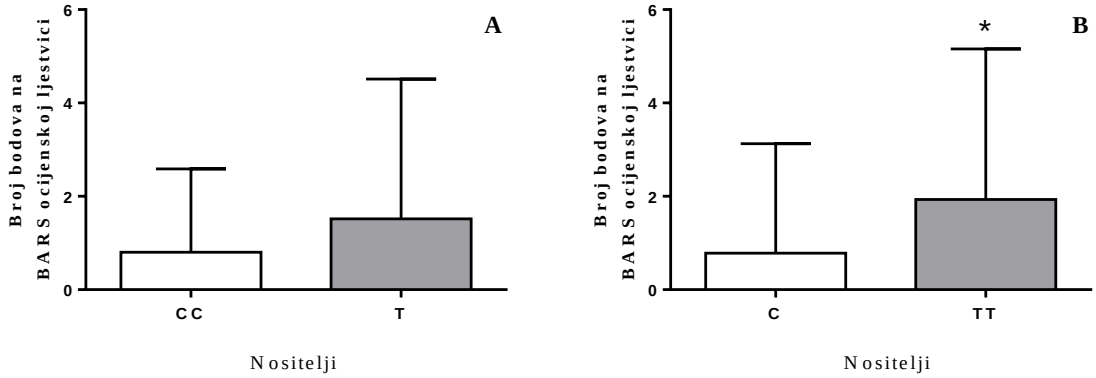
Iako nije primjećena značajna razlika u raspodjeli genotipova ili alela istraživanih polimorfizama između bolesnika sa shizofrenijom koji su razvili i onih koji nisu razvili značajne akutne EPS-ove nakon monoterapije haloperidolom, uspoređen je i ukupan broj bodova SAS, BARS i ESRS ocjenskih ljestvica između bolesnika, nositelja različitih genotipova ili alela za istraživane genske polimorfizme (Tablica 19.).

Kao što se može vidjeti iz Tablice 19., utvrđena je značajna povezanost *HTR1B* rs13212041 polimorfizma s ukupnim brojem bodova na BARS ocjenskoj ljestvici (P=0,009; Kruskal-Wallis test), ali ne i s ukupnim brojem bodova na SAS (P= 0,077; Kruskal-Wallis test) i ESRS (P= 0,113; Kruskal-Wallis test) ocjenskoj ljestvici. Naime, Dunn-ov post-hoc test višestruke komparacije pokazao je da ispitivani bolesnici sa shizofrenijom koji su liječeni haloperidolom, a nositelji su TT genotipa *HTR1B* rs13212041 polimorfizma, imaju značajno viši ukupan broj bodova na BARS ocjenskoj ljestvici u usporedbi s nositeljima CT genotipa (P=0,007, Dunn-ov post-hoc test).

Tablica 19. Ukupan broj bodova SAS, BARS i ESRS ocjenskih ljestvica u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih genotipova ili alela genskih polimorfizama

Polimorfizam	**Genotipovi/Aleli** (srednja vrijednost ± SD)			**Statistička analiza**
***HTR1A* rs6295**	**CC**	**CG**	**GG**	
SAS bodovi	5,491 ± 5,316	4,682 ± 5,525	4,814 ± 6,013	P=0,451; Kruskal-Wallis test
BARS bodovi	1,927 ± 3,271	1,655 ± 3,303	0,953 ± 2,104	P=0,393; Kruskal-Wallis test
ESRS bodovi	25,29 ± 22,46	25,71 ± 23,83	23,86 ± 26,36	P=0,807; Kruskal-Wallis test
***HTR1A* rs878567**	**AA**	**AG**	**GG**	
SAS bodovi	5,337 ± 5,492	4,737 ± 5,669	4,733 ± 6,142	P=0,582; Kruskal-Wallis test
BARS bodovi	1,435 ± 2,822	1,811 ± 3,437	1,100 ± 2,325	P=0,740; Kruskal-Wallis test
ESRS bodovi	26,29 ± 24,16	25,37 ± 23,24	22,70 ± 29,05	P=0,546; Kruskal-Wallis test
***HTR1B* rs13212041**	**CC**	**CT**	**TT**	
SAS bodovi	6,200 ± 4,764	3,797 ± 4,728	5,580 ± 6,027	P= 0,077; Kruskal-Wallis test
BARS bodovi	0,800 ± 1,789	0,784 ± 2,383	1,931 ± 3,228	P=0,009; Kruskal-Wallis test*
ESRS bodovi	22,40 ± 17,40	19,67 ± 19,78	28,87 ± 26,67	P= 0,113; Kruskal-Wallis test
***HTR2A* rs6313**	**CC**	**CT**	**TT**	
SAS bodovi	4,177 ± 5,257	5,802 ± 6,145	4,179 ± 4,588	P=0,111; Kruskal-Wallis test
BARS bodovi	1,304 ± 2,695	1,595 ± 3,203	1,564 ± 2,981	P=0,857; Kruskal-Wallis test
ESRS bodovi	22,10 ± 24,45	28,23 ± 25,14	21,19 ± 19,69	P=0,121; Kruskal-Wallis test
***HTR2A* rs6314**	**AA**	**AG**	**GG**	
SAS bodovi	/	5,059 ± 4,954	5,017 ± 5,774	P=0,603; Mann Whitney test
BARS bodovi	/	1,941 ± 3,284	1,531 ± 3,043	P=0,328; Mann Whitney test
ESRS bodovi	/	28,94 ± 22,08	24,91 ± 24,66	P=0,305; Mann Whitney test
***HTR2C* rs3813929**	**/**	**C**	**T**	
SAS bodovi	/	4,951 ± 5,502	5,022 ± 6,238	P= 0,702; Mann Whitney test
BARS bodovi	/	1,596 ± 3,094	1,065 ± 2,516	P=0,294; Mann Whitney test
ESRS bodovi	/	25,11 ± 24,31	24,23 ± 24,04	P=0,707; Mann Whitney test
***HTR2C* rs518147**	**/**	**C**	**G**	
SAS bodovi	/	4,563 ± 5,673	5,297 ± 5,663	P=0,239; Mann Whitney test
BARS bodovi	/	1,172 ± 2,658	1,770 ± 3,228	P=0,198; Mann Whitney test
ESRS bodovi	/	23,55 ± 24,16	26,65 ± 24,59	P=0,342: Mann Whitney test
***HTR6* rs1805054**	**CC**	**CT**	**TT**	
SAS bodovi	4,359 ± 5,246	5,178 ± 5,414	9,143 ± 8,275	P= 0,094; Kruskal-Wallis test
BARS bodovi	1,617 ± 2,986	1,315 ± 2,990	2,000 ± 4,276	P=0,513; Kruskal-Wallis test
ESRS bodovi	23,52 ± 22,96	27,22 ± 26,53	27,63 ± 23,12	P=0,638; Kruskal-Wallis test

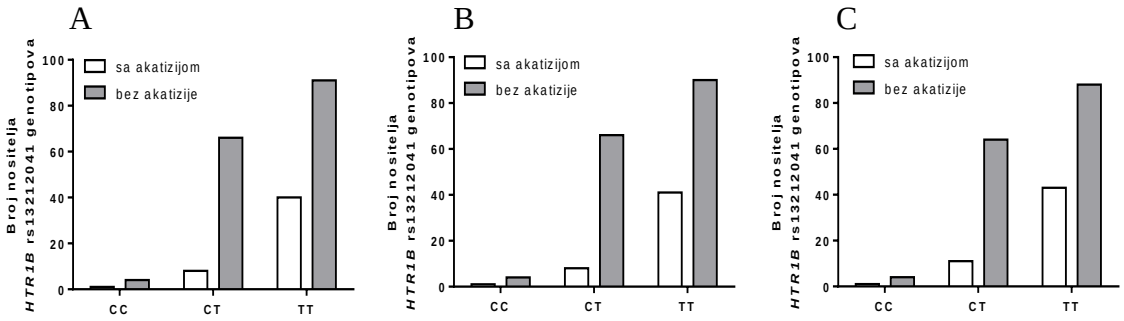
** P=0,0067 CT prema TT, Dunn-ov post-hoc test višestruke komparacije*



Slika 13. Ukupan broj bodova na BARS ocjenskoj ljestvici u bolesnika podjeljenih prema *HTR1B* rs13212041 polimorfizmu na: A) homozigotne nositelje CC genotipa (0,800 ± 1,789) i nositelje T alela (1,517 ± 2,996); B) homozigotne nositelje TT genotipa (1,931 ± 3,228) i nositelje C alela (0,785 ± 2,341). *P=0,002; TT prema C nositeljima, Mann Whitney test. Preuzeto i prilagođeno iz Grubor i sur. 2020. (437)

Nadalje, kao što je prikazano na slici 13B, ispitanici koji su bili homozigotni nositelji TT genotipa *HTR1B* rs13212041 polimorfizma imali su značajno viši (P=0,002; Mann Whitney test) ukupan broj bodova na BARS ocjenskoj ljestvici (1,931 ± 3,228) u usporedbi s nositeljima C alela (0,785 ± 2,3419). S druge strane bolesnici sa shizofrenijom liječeni haloperidolom podijeljeni na nositelje CC genotipa (0,800 ± 1,789) i nositelje T alela (1,517 ± 2,996) *HTR1B* rs13212041 polimorfizma nisu imali značajno različit (P= 0,751, Mann Whitney test) ukupan broj bodova na BARS ocjenskoj ljestvici (slika 13A).

S obzirom da BARS ljestvica evaluira simptome akatizije, dodatno je istražena učestalost pojave akatizije u nositelja pojedinih genotipova *HTR1B* rs13212041 polimorfizma (Slika 14). Prema SAS i BARS ocjenskoj ljestvici, zabilježen je značajno veći broj nositelja TT genotipa (P=0,006, χ2-test) u haloperidolom liječenih ispitanika sa shizofrenijom koji su razvili simptome akatizije (81,63 %), nego u skupini bez simptoma akatizije (56,52 %). Prema ESRS ocjenskoj ljestvici, također je zabilježen značajno veći broj nositelja TT genotipa u skupini bolesnika liječenih haloperidolom s akatizijom (79,59 %) u usporedbi sa skupinom bolesnika koji nisu razvili simptome akatizije (57,14 %) nakon liječenja haloperidolom (P=0,016; χ2-test).



Slika 14. Broj bolesnika, nositelja različitih genotipova *HTR1B* rs13212041 polimorfizma sa i bez simptoma akatizije nakon liječenja haloperidolom prema A) SAS ocjenskoj ljestvici B) BARS ocjenskoj ljestvici C) ESRS ocjenskoj ljestvici. Prema SAS, BARS (P=0,006, χ2-test) i ESRS (P=0,016; χ2-test) ocjenskoj ljestvici zabilježen je značajno veći broj nositelja TT genotipa u skupini bolesnika s akatizijom u usporedbi sa skupinom bolesnika koji nisu razvili simptome akatizije nakon liječenja haloperidolom. (izvorna slika)

Nije utvrđena značajna povezanost *HTR1A* rs6295 polimorfizma s ukupnim brojem bodova na ocjenskoj ljestvici SAS (P=0,451; Kruskal-Wallis test), BARS (P=0,393; Kruskal-Wallis test) i ESRS (P=0,807; Kruskal-Wallis test), kao niti *HTR1A* rs878567 polimorfizma i broja ukupnih bodova SAS (P=0,582; Kruskal-Wallis test), BARS (P=0,740; Kruskal-Wallis test) i ESRS (P=0,546; Kruskal-Wallis test) ocjenskih ljestvica (Tablica 19.). *HTR2A* rs6313 polimorfizam nije bio značajno povezan s ukupnim brojem bodova na SAS (P=0,111; Kruskal-Wallis test), BARS (P=0,857; Kruskal-Wallis test) i ESRS (P=0,121; Kruskal-Wallis test) ocjenskoj ljestvici, a broj bodova na SAS (P=0,603; Mann Whitney test), BARS (P=0,328; Mann Whitney test) i ESRS (P=0,305; Mann Whitney test) ocjenskim ljestvicama nije bio značajno različit u nositelja različitih genotipova *HTR2A* rs6314 polimorfizma (Tablica 19.). Kao što je prikazano u Tablici 19, nije bilo značajne razlike u ukupnom broju bodova ocjenske ljestvice SAS (P= 0,702; Mann Whitney test), BARS (P=0,294; Mann Whitney test) i ESRS (P=0,707; Mann Whitney test) između nositelja različitih alela *HTR2C* rs3813929 polimorfizma. Mann Whitney test niije utvrdio značajno različit ukupan broj bodova na SAS (P=0,239), BARS (P=0,198) i ESRS (P=0,342) ocjenskim ljestvicama između nositelja različitih alela *HTR2C* rs518147 polimorfizma (Tablica 19.). Nije utvrđena značajna povezanost niti *HTR6* rs1805054 polimorfizma s ukupnim brojem bodova na ocjenskoj ljestvici SAS (P= 0,094; Kruskal-Wallis test), BARS (P=0,513; Kruskal-Wallis test) i ESRS (P=0,638; Kruskal-Wallis test).

Nadalje, napravljena je detaljna analiza svih pojedinačnih točaka ocjenskih ljestvica SAS, BARS i ESRS u bolesnika tretiranih haloperidolom i podijeljenih prema nositeljima različitih genotipova ili alela istraživanih genskih polimorfizama, koja je prikazana u narednim poglavljima.

4.6 Raspodjela genotipova ili alela genskih polimorfizama i bodovi na pojedinim točkama SAS, BARS i ESRS ocjenskih ljestvica bolesnika

4.6.1 *HTR1A* rs6295 polimorfizam

Kao što se može vidjeti u Tablici 20., kada je uspoređen broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR1A* rs6295 genotipova, Kruskal-Wallis testom nisu utvrđene značajne razlike u akutnim EPS-ovima kao što su abnormalno držanje (P=0,877), padanje ruku (P=0,526), trešnja ramenima (P=0,338), rigidnost lakta (P=0,525), rigidnost zapešća (P=0,478), okretanje glave (P=0,760), kuckanje po glabeli (P=0,783), tremor (P=0,784), salivacija (P=0,944) i akatizija (P=0,465).

Nadalje, u bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR1A* rs6295 genotipova, Kruskal-Wallis testom također nisu pronađene značajne razlike u broju bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice (Tablica 21.) poput objektivna ocjene (P=0,388), subjektivne ocjene –svijest o nemiru (P=0,443), subjektivne ocjene – nevolje vezane uz nemir (P=0,402) i globalne kliničke procjene akatizije (P=0,367).

Kao što je prikazano u Tablici 22., nije bilo značajnih razlika u broju bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice, kada su bolesnici liječeni haloperidolom podijeljeni na nositelje različitih *HTR1A* rs6295 genotipova. Naime, Kruskal-Wallis test nije utvrdio značajne razlike u ESRS broju bodova za točku I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija - upitnik i ljestvica ponašanja (P=0,7734), kao ni za akutne EPS-ove: izraženi nevoljni pokreti (P=0,881), bradikinezija (P=0,910), rigidnost (P=0,973), hod i držanje (P=0,749), tremor (P=0,731), akatizija (P=0,335), sialoreja (P=0,960) i posturalna stabilnost (P=0,735). Također, nije bilo značajnih razlika u broju ESRS bodova za točku III Distonija-pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija (P=0,942), VI Klinička globalna procjena težine

parkinsonizma (P=0,326), VII Klinička globalna procjena težine distonije (P=0,744) i VIII Stupanj parkinsonizma (P=0,708) (Tablica 22.).

Tablica 20. Broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR1A* rs6295 genotipova

SAS ocjenska ljestvica	***HTR1A rs6295* genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD)	**CC**	**CG**	**GG**	
Abnormalno držanje	0,692 ± 0,981	0,589 ± 0,857	0,628 ± 1,024	P= 0,877; Kruskal-Wallis test
Padanje ruku	0,519 ± 0,754	0,383 ± 0,668	0,442 ± 0,825	P= 0,526; Kruskal-Wallis test
Trešnja ramenima	0,442 ± 0,802	0,262 ± 0,604	0,302 ± 0,773	P= 0,338; Kruskal-Wallis test
Rigidnost lakta	0,500 ± 0,728	0,392 ± 0,710	0,465 ± 0,882	P= 0,525; Kruskal-Wallis test
Rigidnost zapešća	0,481 ± 0,700	0,374 ± 0,694	0,465 ± 0,882	P= 0,478; Kruskal-Wallis test
Okretanje glave	0,481 ± 0,779	0,421 ± 0,801	0,488 ± 0,909	P= 0,760; Kruskal-Wallis test
Kuckanje po glabeli	0,273 ± 0,592	0,209 ± 0,471	0,233 ± 0,611	P= 0,783; Kruskal-Wallis test
Tremor	0,891 ± 1,212	0,918 ± 1,242	0,744 ± 1,093	P= 0,784; Kruskal-Wallis test
Salivacija	0,854 ± 1,193	0,818 ± 1,182	0,767 ± 1,109	P= 0,944; Kruskal-Wallis test
Akatizija	0,527 ± 0,900	0,418 ± 0,817	0,326 ± 0,747	P= 0,465; Kruskal-Wallis test

Tablica 21. Broj bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR1A* rs6295 genotipova

BARS ocjenska ljestvica	***HTR1A rs6295* genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD)	CC	CG	GG	
Objektivna ocjena	0,473 ± 0,790	0,409 ± 0,816	0,233 ± 0,527	P=0,388; Kruskal-Wallis test
Subjektivna ocjena – svijest o nemiru	0,473 ± 0,836	0,418 ± 0,861	0,256 ± 0,581	P=0,443; Kruskal-Wallis test
Subjektivna ocjena – nevolje vezane uz nemir	0,473 ± 0,836	0,409 ± 0,860	0,233 ± 0,527	P=0,402; Kruskal-Wallis test
Globalna klinička procjena akatizije	0,509 ± 0,879	0,413 ± 0,807	0,233 ± 0,527	P=0,367; Kruskal-Wallis test

Tablica 22. Broj bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR1A* rs6295 genotipova

ESRS ocjenska ljestvica	***HTR1A rs6295* genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD)	**CC**	**CG**	**GG**	
I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja	5,346 ± 4,554	5,000 ± 4,688	4,953 ± 5,318	P=0,773; Kruskal-Wallis test
II Uvid u parkinsonizam i akatiziju-pregled liječnika				
Izraženi nevoljni pokreti (lice/govor)	0,788 ± 1,073	0,822 ± 1,071	0,791 ± 1,226	P=0,881; Kruskal-Wallis test
Bradikinezija	0,808 ± 0,971	0,897 ± 1,140	0,884 ± 1,331	P=0,910; Kruskal-Wallis test
Rigidnost	3,000 ± 4,029	3,009 ± 4,268	3,395 ± 4,772	P=0,973; Kruskal-Wallis test
Hod i držanje	0,942 ± 1,178	0,832 ± 1,161	0,791 ± 1,226	P=0,749; Kruskal-Wallis test
Tremor	3,096 ± 4,607	3,710 ± 5,500	3,233 ± 5,669	P=0,731; Kruskal-Wallis test
Akatizija	0,769 ± 1,337	0,505 ± 0,984	0,302 ± 0,741	P=0,335; Kruskal-Wallis test
Sialoreja	1,096 ± 1,524	1,131 ± 1,608	1,000 ± 1,380	P=0,960; Kruskal-Wallis test
Posturalna stabilnost	0,442 ± 0,752	0,421 ± 0,813	0,442 ± 0,959	P=0,735; Kruskal-Wallis test
III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija	1,481 ± 3,676	1,664 ± 4,718	1,651 ± 5,380	P=0,942; Kruskal-Wallis test
VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma	1,981 ± 1,777	2,224 ± 1,949	1,837 ± 1,851	P=0,326; Kruskal-Wallis test
VII Klinička globalna procjena težine distonije	0,904 ± 1,923	0,888 ± 1,890	0,744 ± 1,774	P=0,744; Kruskal-Wallis test
VIII Stupanj parkinsonizma	1,423 ± 1,289	1,551 ± 1,319	1,395 ± 1,400	P=0,708; Kruskal-Wallis test

4.6.2 *HTR1A* rs878567 polimorfizam

Kao što je prikazano u Tablici 23., kada je uspoređen broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR1A* rs878567 genotipova, Kruskal-Wallis testom nisu utvrđene značajne razlike u akutnim EPS-ovima kao što su abnormalno držanje (P=0,775), padanje ruku (P=0,319), trešnja ramenima (P=0,145), rigidnost lakta (P=0,143), rigidnost zapešća (P= 0,102), okretanje glave (P=0,217), kuckanje po glabeli (P=0,499), tremor (P=0,668), salivacija (P=0,538) i akatizija (P= 0,872).

U oboljelih liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR1A* rs878567 genotipova, Kruskal-Wallis testom također nisu pronađene značajne razlike u broju bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice (Tablica 24.) poput objektivne ocjene (P=0,687), subjektivne ocjene – svijest o nemiru (P=0,832), subjektivne ocjene – nevolje vezane uz nemir (P=0,780) i globalne kliničke procjene akatizije (P=0,722).

Nadalje, nije bilo značajnih razlika u broju bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice, kada su bolesnici liječeni haloperidolom podijeljeni na nositelje različitih *HTR1A* rs878567 genotipova (Tablica 25). Naime, Kruskal-Wallis test nije utvrdio značajne razlike u ESRS broju bodova za točku I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja (P=0,442), kao ni za akutne EPS-ove: izraženi nevoljni pokreti (P=0,560), bradikinezija (P=0,760), rigidnost (P=0,598), hod i držanje (P=0,364), tremor (P=0,767), akatizija (P=0,708), sialoreja (P=0,547) i posturalna stabilnost (P=0,397). Također, nije bilo značajnih razlika u broju ESRS bodova za točku III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija (P=0,356), VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma (P=0,287), VII Klinička globalna procjena težine distonije (P=0,744) i VIII Stupanj parkinsonizma (P=0,767) (Tablica 25).

Tablica 23. Broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR1A* rs878567 genotipova

SAS ocjenska ljestvica	***HTR1A* rs878567 genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD	**AA**	**AG**	**GG**	
Abnormalno držanje	0,701 ± 0,966	0,585 ± 0,860	0,633 ± 1,066	P= 0,775; Kruskal-Wallis test
Padanje ruku	0,506 ± 0,745	0,372 ± 0,703	0,467 ± 0,860	P= 0,319; Kruskal-Wallis test
Trešnja ramenima	0,437 ± 0,803	0,255 ± 0,655	0,300 ± 0,750	P= 0,145; Kruskal-Wallis test
Rigidnost lakta	0,540 ± 0,775	0,362 ± 0,731	0,500 ± 0,900	P= 0,143; Kruskal-Wallis test
Rigidnost zapešća	0,529 ± 0,760	0,340 ± 0,712	0,500 ± 0,900	P= 0,102; Kruskal-Wallis test
Okretanje glave	0,540 ± 0,832	0,415 ± 0,835	0,433 ± 0,935	P= 0,217; Kruskal-Wallis test
Kuckanje po glabeli	0,261 ± 0,532	0,189 ± 0,468	0,267 ± 0,691	P= 0,499; Kruskal-Wallis test
Tremor	0,826 ± 1,145	0,958 ± 1,279	0,733 ± 1,112	P= 0,668; Kruskal-Wallis test
Salivacija	0,804 ± 1,197	0,874 ± 1,169	0,567 ± 0,971	P= 0,538; Kruskal-Wallis test
Akatizija	0,391 ± 0,770	0,453 ± 0,848	0,400 ± 0,855	P= 0,872; Kruskal-Wallis test

Tablica 24. Broj bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR1A* rs878567 genotipova

BARS ocjenska ljestvica	***HTR1A* rs878567 genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD	**AA**	**AG**	**GG**	
Objektivna ocjena	0,348 ± 0,686	0,453 ± 0,848	0,267 ± 0,583	P=0,687; Kruskal-Wallis test
Subjektivna ocjena – svijest o nemiru	0,359 ± 0,720	0,453 ± 0,896	0,300 ± 0,651	P=0,832; Kruskal-Wallis test
Subjektivna ocjena – nevolje vezane uz nemir	0,348 ± 0,718	0,453 ± 0,896	0,267 ± 0,583	P=0,780; Kruskal-Wallis test
Globalna klinička procjena akatizije	0,380 ± 0,754	0,447 ± 0,837	0,267 ± 0,583	P=0,722; Kruskal-Wallis test

Tablica 25. Broj bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR1A* rs878567 genotipova

ESRS ocjenska ljestvica	***HTR1A* rs878567 genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD	**AA**	**AG**	**GG**	
I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja	5,356 ± 4,730	5,106 ± 4,685	4,467 ± 5,575	P=0,442; Kruskal-Wallis test
II Uvid u parkinsonizam i akatiziju-pregled liječnika				
Izraženi nevoljni pokreti (lice/govor)	0,839 ± 1,119	0,808 ± 1,029	0,700 ± 1,264	P=0,560; Kruskal-Wallis test
Bradikinezija	0,908 ± 1,106	0,840 ± 1,100	0,867 ± 1,408	P=0,760; Kruskal-Wallis test
Rigidnost	3,471 ± 4,518	2,681 ± 4,017	3,533 ± 4,918	P=0,598; Kruskal-Wallis test
Hod i držanje	1,000 ± 1,210	0,766 ± 1,121	0,767 ± 1,278	P=0,364; Kruskal-Wallis test
Tremor	2,920 ± 4,504	3,681 ± 5,495	3,733 ± 6,411	P=0,767; Kruskal-Wallis test
Akatizija	0,563 ± 1,138	0,521 ± 0,992	0,367 ± 0,850	P=0,708; Kruskal-Wallis test
Sialoreja	1,092 ± 1,582	1,170 ± 1,563	0,767 ± 1,278	P=0,547; Kruskal-Wallis test
Posturalna stabilnost	0,483 ± 0,819	0,372 ± 0,776	0,467 ± 1,042	P=0,397; Kruskal-Wallis test
III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija	2,023 ± 4,565	1,500 ± 4,704	1,633 ± 6,037	P=0,356; Kruskal-Wallis test
VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma	2,034 ± 1,907	2,245 ± 1,888	1,733 ± 1,999	P=0,287; Kruskal-Wallis test
VII Klinička globalna procjena težine distonije	1,103 ± 2,040	0,808 ± 1,874	0,633 ± 1,712	P=0,215; Kruskal-Wallis test
VIII Stupanj parkinsonizma	1,471 ± 1,354	1,532 ± 1,284	1,333 ± 1,470	P=0,767; Kruskal-Wallis test

4.6.3 *HTR1B* rs13212041 polimorfizam

Kada je uspoređen broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR1B* rs13212041 genotipova, Kruskal-Wallis testom nisu utvrđene značajne razlike u akutnim EPS-ovima kao što su abnormalno držanje (P=0,217), padanje ruku (P=0,275), trešnja ramenima (P=0,154), rigidnost lakta (P=0,318), rigidnost zapešća (P= 0,393), okretanje glave (P=0,297), kuckanje po glabeli (P=0,319), tremor (P=0,568), salivacija (P=0,319). Međutim, između nositelja

različitih *HTR1B* rs13212041 genotipova utvrđena je značajna razlika u broju bodova za akatiziju (P= 0,008, Kruskal-Wallis test) na SAS ocjenskoj ljestvici. Nositelji TT genotipa *HTR1B* rs13212041 polimorfizma imali su značajno viši broj SAS bodova za akatiziju (0,519 ± 0,862) u odnosu na CT nositelje (0,203 ± 0,619; P=0,006; Dunnov post hoc test), kao i u usporedbi s nositeljima C alela (0,215 ± 0,634; P=0,002; Mann Whitney test) (Tablica 26.).

U nositelja različitih *HTR1B* rs13212041 genotipova, Kruskal-Wallis testom pronađene su značajne razlike u broju bodova BARS ocjenske ljestvice (Tablica 27.) za točke objektivne ocjene (P=0,010), subjektivne ocjene – svijest o nemiru (P=0,012), subjektivne ocjene – nevolje vezane uz nemir (P=0,016) i globalne kliničke procjene akatizije (P=0,007). Značajne razlike u broju BARS bodova između TT i CT nositelja potvrđene su Dunnovim post hoc testom za objektivnu ocjenu (P=0,007), subjektivnu ocjenu – svijest o nemiru (P=0,009), subjektivnu ocjenu – nevolje vezane uz nemir (P=0,013) i globalnu kliničku procjenu akatizije (P=0,005).

U nositelja različitih *HTR1B* rs13212041 genotipova (Tablica 28.), Kruskal-Wallis test nije utvrdio značajne razlike u ESRS broju bodova za izražene nevoljne pokrete (P=0,205), bradikineziju (P=0,089), rigidnost (P=0,126), hod i držanje (P=0,165), tremor (P=0,683), sialoreju (P=0,272) i posturalnu stabilnost (P=0,386). Nije bilo značajnih razlika u broju ESRS bodova za točku III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija (P=0,515), VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma (P=0,150), VII Klinička globalna procjena težine distonije (P=0,671) i VIII Stupanj parkinsonizma (P=0,195) (Tablica 28.). No, za točku I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja (P=0,031), kao i za akutnu akatiziju (P=0,011) Kruskal-Wallis test utvrdio je značajnu razliku u broju ESRS bodova u nositelja različitih genotipova. Dunnov post hoc test utvrdio je da se CT i TT nositelji značajno razlikuju u broju bodova za točku I (P=0,027) i akatiziju (P=0,009). Nositelji TT genotipa imali su značajno viši broj ESRS bodova za akatiziju (0,661 ± 1,163) od nositelja CT genotipa (0,222 ± 0,676), te nositelja C alela (0,221 ± 0,661; P=0,003; Mann Whitney test).

Tablica 26. Broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR1B* rs13212041 genotipova

SAS ocjenska ljestvica	***HTR1B* rs13212041 genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD	**CC**	**CT**	**TT**	
Abnormalno držanje	1,000 ± 1,000	0,500 ± 0,822	0,709 ± 0,993	P= 0,217; Kruskal-Wallis test
Padanje ruku	0,800 ± 0,837	0,347 ± 0,632	0,457 ± 0,784	P= 0,275; Kruskal-Wallis test
Trešnja ramenima	0,000 ± 0,000	0,222 ± 0,537	0,417 ± 0,811	P= 0,154; Kruskal-Wallis test
Rigidnost lakta	0,600 ± 0,894	0,319 ± 0,624	0,504 ± 0,834	P= 0,318; Kruskal-Wallis test
Rigidnost zapešća	0,600 ± 0,894	0,319 ± 0,624	0,472 ± 0,805	P= 0,393; Kruskal-Wallis test
Okretanje glave	0,800 ± 1,095	0,306 ± 0,597	0,528 ± 0,933	P= 0,297; Kruskal-Wallis test
Kuckanje po glabeli	0,000 ± 0,000	0,162 ± 0,371	0,282 ± 0,611	P= 0,319; Kruskal-Wallis test
Tremor	1,400 ± 1,342	0,811 ± 1,143	0,893 ± 1,229	P= 0,568; Kruskal-Wallis test
Salivacija	0,600 ± 0,894	0,689 ± 1,109	0,924 ± 1,213	P= 0,319; Kruskal-Wallis test
Akatizija	0,400 ± 0,894	0,203 ± 0,619	0,519 ± 0,862	P=0,008; Kruskal-Wallis test*

**CT vs. TT nositelji P= 0,006, Dunnov test multiple komparacije*

Tablica 27. Broj bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR1B* rs13212041 genotipova

BARS ocjenska ljestvica	***HTR1B* rs13212041 genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD	**CC**	**CT**	**TT**	
Objektivna ocjena	0,200 ± 0,447	0,189 ± 0,589	0,481 ± 0,798	P=0,010[a] , Kruskal-Wallis test
Subjektivna ocjena – svijest o nemiru	0,200 ± 0,447	0,203 ± 0,619	0,481 ± 0,844	P=0,012[b,] Kruskal-Wallis test
Subjektivna ocjena – nevolje vezane uz nemir	0,200 ± 0,447	0,203 ± 0,619	0,473 ± 0,844	P=0,016[c,] Kruskal-Wallis test
Globalna klinička procjena akatizije	0,200 ± 0,447	0,189 ± 0,589	0,500 ± 0,828	P=0,007[d,] Kruskal-Wallis test

[a]P=0,007, [b]P=0,009, [c]P=0,013, [d]P=0,005, Dunnov test multiple komparacije, TT vs. CT nositelji

Tablica 28. Broj bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR1B* rs13212041 genotipova

ESRS ocjenska ljestvica	***HTR1B* rs13212041 genotipovi**			**Statistika analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD	**CC**	**CT**	**TT**	
I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja	4,000 ± 3,162	3,806 ± 3,811	5,906 ± 5,226	P=0,031[a]; Kruskal-Wallis test
II Uvid u parkinsonizam i akatiziju-pregled liječnika				
Izraženi nevoljni pokreti (lice/govor)	0,400 ± 0,894	0,653 ± 1,009	0,898 ± 1,133	P=0,205; Kruskal-Wallis test
Bradikinezija	0,800 ± 1,095	0,625 ± 0,956	1,000 ± 1,222	P=0,089; Kruskal-Wallis test
Rigidnost	4,000 ± 4,243	2,278 ± 3,758	3,543 ± 4,641	P=0,126; Kruskal-Wallis test
Hod i držanje	1,400 ± 1,673	0,667 ± 1,061	0,929 ± 1,203	P=0,165; Kruskal-Wallis test
Tremor	4,800 ± 4,604	3,278 ± 5,033	3,504 ± 5,492	P=0,683; Kruskal-Wallis test
Akatizija	0,200 ± 0,447	0,222 ± 0,676	0,661 ± 1,163	P=0,011[b]; Kruskal-Wallis test
Sialoreja	0,800 ± 1,095	0,903 ± 1,493	1,252 ± 1,583	P=0,272; Kruskal-Wallis test
Posturalna stabilnost	1,000 ± 1,414	0,333 ± 0,732	0,409 ± 0,800	P=0,386; Kruskal-Wallis test
III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija	0,800 ± 1,789	0,958 ± 2,672	2,276 ± 5,836	P=0,515; Kruskal-Wallis test
VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma	1,800 ± 1,789	1,722 ± 1,848	2,315 ± 1,926	P=0,150; Kruskal-Wallis test
VII Klinička globalna procjena težine distonije	0,800 ± 1,789	0,694 ± 1,607	1,047 ± 2,108	P=0,671; Kruskal-Wallis test
VIII Stupanj parkinsonizma	1,600 ± 1,517	1,250 ± 1,308	1,622 ± 1,345	P=0,195; Kruskal-Wallis test

[a]P=0,031, [b]P=0,011, Dunnov test multiple komparacije, TT vs. CT nositelji

4.6.4 *HTR2A* rs6313 polimorfizam

Kao što je prikazano u Tablici 29., kada je uspoređen broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR2A* rs6313 genotipova, Kruskal-Wallis testom nisu utvrđene značajne razlike u akutnim EPS-ovima kao što su abnormalno držanje (P=0,224), padanje ruku (P=0,162), trešnja ramenima (P=0,288), rigidnost lakta (P=0,074), rigidnost zapešća (P=0,113), kuckanje po glabeli (P=0,151), tremor (P=0,156), salivacija (P=0,692) i akatizija (P=0,624). Između nositelja različitih *HTR2A* rs6313 genotipova značajna razlika utvrđena je u broju SAS bodova za akutni EPS okretanje glave (P=0,027; Kruskal-Wallis test), međutim značajnost ove razlike nije potvrđena Dunnovim post hoc testom.

Nadalje, u bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR2A* rs6313 genotipova, Kruskal-Wallis testom također nisu pronađene značajne razlike u broju bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice (Tablica 30.) poput objektivne ocjene (P=0,912), subjektivne ocjene – svijest o nemiru (P=0,736), subjektivne ocjene – nevolje vezane uz nemir (P=0,849) i globalne kliničke procjene akatizije (P=0,894).

Kao što se može vidjeti iz Tablice 31., nije bilo značajnih razlika u broju bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice, kada su bolesnici liječeni haloperidolom podijeljeni na nositelje različitih *HTR2A* rs6313 genotipova. Naime, Kruskal-Wallis test nije utvrdio značajne razlike u ESRS broju bodova za točku I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija - upitnik i ljestvica ponašanja (P=0,146), kao ni za akutne EPS-ove: izraženi nevoljni pokreti (P=0,111), bradikinezija (P=0,127), tremor (P=0,207), akatizija (P=0,567), i sialoreja (P=0,795). Također, nije bilo značajnih razlika u broju ESRS bodova za točku III Distonija-pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija (P=0,677), VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma (P=0,113), VII Klinička globalna procjena težine distonije (P=0,652) i VIII Stupanj parkinsonizma (P=0,218) (Tablica 31.). S druge strane, utvrđene su značajne razlike u broju ESRS bodova između nositelja različitih *HTR2A* rs6313 genotipova za akutne EPS-ove: rigidnost (P=0,028), hod i držanje (P=0,041) i posturalna stabilnost (P=0,031). Međutim, Dunnov post hoc test potvrdio je samo značajnu razliku između CC i CT nositelja *HTR2A* rs6313 polimorfizma u broju ESRS bodova za akutnu nuspojavu rigidnost (P=0,0482).

Tablica 29. Broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR2A* rs6313 genotipova

SAS ocjenska ljestvica	***HTR2A* rs6313 genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD)	**CC**	**CT**	**TT**	
Abnormalno držanje	0,538 ± 0,907	0,741 ± 0,980	0,528 ± 0,845	P=0,224; Kruskal-Wallis test
Padanje ruku	0,359 ± 0,683	0,556 ± 0,846	0,306 ± 0,577	P=0,162; Kruskal-Wallis test
Trešnja ramenima	0,256 ± 0,612	0,435 ± 0,836	0,222 ± 0,591	P=0,288; Kruskal-Wallis test
Rigidnost lakta	0,333 ± 0,696	0,583 ± 0,878	0,361 ± 0,639	P=0,074; Kruskal-Wallis test
Rigidnost zapešća	0,333 ± 0,696	0,546 ± 0,836	0,361 ± 0,639	P=0,113; Kruskal-Wallis test
Okretanje glave	0,372 ± 0,791	0,620 ± 0,944	0,194 ± 0,401	P=0,027; Kruskal-Wallis test
Kuckanje po glabeli	0,165 ± 0,465	0,297 ± 0,581	0,179 ± 0,451	P=0,151; Kruskal-Wallis test
Tremor	0,683 ± 1,081	0,955 ± 1,261	1,051 ± 1,191	P=0,156; Kruskal-Wallis test
Salivacija	0,886 ± 1,209	0,766 ± 1,136	0,667 ± 1,084	P=0,692; Kruskal-Wallis test
Akatizija	0,329 ± 0,693	0,432 ± 0,870	0,461 ± 0,790	P=0,624; Kruskal-Wallis test

Tablica 30. Broj bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR2A* rs6313 genotipova

BARS ocjenska ljestvica	***HTR2A* rs6313 genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD)	**CC**	**CT**	**TT**	
Objektivna ocjena	0,329 ± 0,674	0,405 ± 0,802	0,333 ± 0,662	P=0,912; Kruskal-Wallis test
Subjektivna ocjena – svijest o nemiru	0,316 ± 0,690	0,387 ± 0,800	0,461 ± 0,884	P=0,736; Kruskal-Wallis test
Subjektivna ocjena – nevolje vezane uz nemir	0,316 ± 0,690	0,387 ± 0,800	0,410 ± 0,850	P=0,849; Kruskal-Wallis test
Globalna klinička procjena akatizije	0,342 ± 0,714	0,409 ± 0,816	0,359 ± 0,668	P=0,894; Kruskal-Wallis test

Tablica 31. Broj bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR2A* rs6313 genotipova

ESRS ocjenska ljestvica	***HTR2A* rs6313 genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD	**CC**	**CT**	**TT**	
I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja	4,744 ± 5,082	5,583 ± 4,783	3,917 ± 3,835	P=0,146; Kruskal-Wallis test
II Uvid u parkinsonizam i akatiziju-pregled liječnika				
Izraženi nevoljni pokreti (lice/govor)	0,692 ± 1,073	0,944 ± 1,151	0,583 ± 0,937	P=0,111; Kruskal-Wallis test
Bradikinezija	0,782 ± 1,202	1,000 ± 1,176	0,611 ± 0,838	P=0,127; Kruskal-Wallis test
Rigidnost	2,462 ± 4,164	3,815 ± 4,539	2,222 ± 3,758	P=0,028[a]; Kruskal-Wallis test
Hod i držanje	0,654 ± 1,055	1,083 ± 1,312	0,583 ± 0,906	P=0,041; Kruskal-Wallis test
Tremor	2,513 ± 4,288	3,843 ± 5,817	3,889 ± 4,909	P=0,207; Kruskal-Wallis test
Akatizija	0,410 ± 0,986	0,518 ± 1,009	0,611 ± 1,103	P=0,567; Kruskal-Wallis test
Sialoreja	1,141 ± 1,518	1,019 ± 1,541	0,972 ± 1,502	P=0,795; Kruskal-Wallis test
Posturalna stabilnost	0,282 ± 0,682	0,583 ± 0,948	0,250 ± 0,604	P=0,031; Kruskal-Wallis test
III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija	1,603 ± 4,812	1,972 ± 5,278	0,972 ± 2,299	P=0,677; Kruskal-Wallis test
VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma	1,795 ± 1,840	2,324 ± 1,937	1,944 ± 1,897	P=0,113; Kruskal-Wallis test
VII Klinička globalna procjena težine distonije	0,820 ± 1,878	0,991 ± 1,993	0,639 ± 1,588	P=0,652; Kruskal-Wallis test
VIII Stupanj parkinsonizma	1,321 ± 1,344	1,630 ± 1,337	1,333 ± 1,287	P=0,218; Kruskal-Wallis test

[a]*P=0,0482 Dunnov test multiple komparacije, CC vs. CT nositelji*

4.6.5 HTR2A rs6314 polimorfizam

Kao što se može vidjeti u Tablici 32, kada je uspoređen broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR2A* rs6314 genotipova, Mann Whitney testom nisu utvrđene značajne razlike u akutnim EPS-ovima kao što su abnormalno držanje (P=0,807), padanje ruku (P=0,706), trešnja ramenima (P=0,659), rigidnost lakta (P=0,445), rigidnost zapešća (P=0,456), okretanje glave (P=0,897), kuckanje po glabeli (P=0,807), tremor (P=0,983), salivacija (P=0,500) i akatizija (P=0,334).

U bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR2A* rs6314 genotipova, Mann Whitney testom također nisu pronađene značajne razlike u broju bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice (Tablica 33.) poput objektivna ocjene (P=0,505), subjektivne ocjene –svijest o nemiru (P=0,257), subjektivne ocjene – nevolje vezane uz nemir (P=0,418) i globalne kliničke procjene akatizije (P= 0,348).

Također, nije bilo značajnih razlika u broju bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice, kada su bolesnici liječeni haloperidolom podijeljeni na nositelje različitih *HTR2A* rs6314 genotipova (Tablica 34.). Naime, Mann Whitney test nije utvrdio značajne razlike u ESRS broju bodova za točku I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja (P=0,369), kao ni za akutne EPS-ove: izraženi nevoljni pokreti (P=0,732), bradikinezija (P=0,352), rigidnost (P=0,463), hod i držanje (P=0,791), tremor (P=0,993), akatizija (P=0,331), sialoreja (P=0,317) i posturalna stabilnost (P=0,715). Također, nije bilo značajnih razlika u broju ESRS bodova za točku III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija (P= 0,276), VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma (P=0,500), VII Klinička globalna procjena težine distonije (P=0,431) i VIII Stupanj parkinsonizma (P= 0,120) (Tablica 34.).

Tablica 32. Broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR2A* rs6314 genotipova

SAS ocjenska ljestvica	***HTR2A* rs6314 genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD)	**AA**	**AG**	**GG**	
Abnormalno držanje	/	0,606 ± 0,788	0,642 ± 0,958	P= 0,807; Mann Whitney test
Padanje ruku	/	0,333 ± 0,540	0,462 ± 0,781	P= 0,706; Mann Whitney test
Trešnja ramenima	/	0,333 ± 0,645	0,335 ± 0,757	P= 0,659; Mann Whitney test
Rigidnost lakta	/	0,515 ± 0,755	0,445 ± 0,788	P= 0,445; Mann Whitney test
Rigidnost zapešća	/	0,485 ± 0,712	0,433 ± 0,779	P= 0,456; Mann Whitney test
Okretanje glave	/	0,454 ± 0,833	0,474 ± 0,860	P= 0,897; Mann Whitney test
Kuckanje po glabeli	/	0,206 ± 0,410	0,226 ± 0,549	P= 0,807; Mann Whitney test
Tremor	/	0,853± 1,184	0,881 ± 1,207	P= 0,983; Mann Whitney test
Salivacija	/	0,853 ± 1,048	0,814 ± 1,189	P= 0,500; Mann Whitney test
Akatizija	/	0,500 ± 0,826	0,412 ± 0,822	P= 0,334; Mann Whitney test

Tablica 33. Broj bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR2A* rs6314 genotipova

BARS ocjenska ljestvica	***HTR2A* rs6314 genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD)	**AA**	**AG**	**GG**	
Objektivna ocjena	/	0,441 ± 0,746	0,384 ± 0,761	P= 0,505; Mann Whitney test
Subjektivna ocjena – svijest o nemiru	/	0,529 ± 0,929	0,378 ± 0,775	P= 0,257; Mann Whitney test
Subjektivna ocjena – nevolje vezane uz nemir	/	0,500 ± 0,929	0,373 ± 0,766	P= 0,418; Mann Whitney test
Globalna klinička procjena akatizije	/	0,471 ± 0,748	0,392 ± 0,785	P= 0,348; Mann Whitney test

Tablica 34. Broj bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR2A* rs6314 genotipova

ESRS ocjenska ljestvica	***HTR2A* rs6314 genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD	**AA**	**AG**	**GG**	
I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja	/	5,697 ± 4,579	5,052 ± 4,829	P= 0,369; Mann Whitney test
II Uvid u parkinsonizam i akatiziju-pregled liječnika				
Izraženi nevoljni pokreti (lice/govor)	/	0,788 ± 0,960	0,809 ± 1,128	P= 0,732; Mann Whitney test
Bradikinezija	/	0,939 ± 0,998	0,861 ± 1,178	P= 0,352; Mann Whitney test
Rigidnost	/	3,455 ± 4,251	3,064 ± 4,396	P= 0,463; Mann Whitney test
Hod i držanje	/	0,818 ± 1,014	0,884 ± 1,224	P= 0,791; Mann Whitney test
Tremor	/	3,303 ± 5,009	3,434 ± 5,325	P= 0,993; Mann Whitney test
Akatizija	/	0,636 ± 1,084	0,509 ± 1,038	P= 0,331; Mann Whitney test
Sialoreja	/	1,333 ± 1,555	1,058 ± 1,531	P= 0,317; Mann Whitney test
Posturalna stabilnost	/	0,364 ± 0,699	0,451 ± 0,865	P= 0,715; Mann Whitney test
III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija	/	2,273 ± 4,432	1,659 ± 4,978	P= 0,276; Mann Whitney test
VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma	/	2,333 ± 1,762	2,069 ± 1,931	P= 0,500; Mann Whitney test
VII Klinička globalna procjena težine distonije	/	1,242 ± 2,264	0,838 ± 1,848	P= 0,431; Mann Whitney test
VIII Stupanj parkinsonizma	/	1,818 ± 1,310	1,434 ± 1,326	P= 0,120; Mann Whitney test

4.6.6 *HTR2C* rs3813929 polimorfizam

Kada je uspoređen broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR2C* rs3813929 alela, Mann Whitney testom nisu utvrđene značajne razlike u akutnim EPS-ovima kao što su abnormalno držanje (P=0,849), padanje ruku (P=0,861), trešnja ramenima (P=0,705), rigidnost lakta (P=0,551), rigidnost zapešća (P=0,547), okretanje glave (P=0,893), kuckanje po glabeli (P=0,584), tremor (P=0,495), salivacija (P=0,756) i akatizija (P=0,495) (Tablica 35).

Nadalje, u bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR2C* rs3813929 alela, Mann Whitney testom također nisu pronađene značajne razlike u broju bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice (Tablica 36) poput objektivna ocjene (P=0,322), subjektivne ocjene –svijest o nemiru (P=0,344), subjektivne ocjene – nevolje vezane uz nemir (P=0,344) i globalne kliničke procjene akatizije (P=0,281).

Također, nije bilo značajnih razlika u broju bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice, kada su bolesnici liječeni haloperidolom podijeljeni na nositelje različitih *HTR2C* rs3813929 alela (Tablica 37.). Naime, Mann Whitney test nije utvrdio značajne razlike u ESRS broju bodova za točku I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja (P=0,984), kao ni za akutne EPS-ove: izraženi nevoljni pokreti (P=0,795), bradikinezija (P=0,855), rigidnost (P=0,703), hod i držanje (P=0,911), tremor (P=0,733), akatizija (P=0,374), sialoreja (P=0,708) i posturalna stabilnost (P=0,560). Također, nije bilo značajnih razlika u broju ESRS bodova za točku III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija (P=0,510), VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma (P=0,639), VII Klinička globalna procjena težine distonije (P=0,489) i VIII Stupanj parkinsonizma (P= 0,884) (Tablica 37.).

Tablica 35. Broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR2C* rs3813929 alela

SAS ocjenska ljestvica	***HTR2C* rs3813929 aleli**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD)		**C**	**T**	
Abnormalno držanje	/	0,637 ± 0,928	0,628 ± 0,976	P= 0,849; Mann Whitney test
Padanje ruku	/	0,441 ± 0,742	0,465 ± 0,827	P= 0,861; Mann Whitney test
Trešnja ramenima	/	0,341 ± 0,720	0,326 ± 0,778	P=0,705; Mann Whitney test
Rigidnost lakta	/	0,436 ± 0,757	0,558 ± 0,908	P= 0,551; Mann Whitney test
Rigidnost zapešća	/	0,419 ± 0,733	0,535 ± 0,882	P= 0,547; Mann Whitney test
Okretanje glave	/	0,469 ± 0,863	0,442 ± 0,734	P= 0,893; Mann Whitney test
Kuckanje po glabeli	/	0,219 ± 0,499	0,283 ± 0,620	P= 0,584; Mann Whitney test
Tremor	/	0,852 ± 1,174	0,978 ± 1,273	P= 0,495; Mann Whitney test
Salivacija	/	0,798 ± 1,142	0,761 ± 1,196	P= 0,756; Mann Whitney test
Akatizija	/	0,421 ± 0,814	0,326 ± 0,732	P= 0,495; Mann Whitney test

Tablica 36. Broj bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR2C* rs3813929 alela

BARS ocjenska ljestvica	***HTR2C* rs3813929 aleli**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD)		**C**	**T**	
Objektivna ocjena	/	0,393 ± 0,762	0,261 ± 0,612	P= 0,322; Mann Whitney test
Subjektivna ocjena – svijest o nemiru	/	0,399 ±0,798	0,283 ± 0,688	P= 0,344; Mann Whitney test
Subjektivna ocjena – nevolje vezane uz nemir	/	0,393 ± 0,797	0,261 ± 0,648	P= 0,344; Mann Whitney test
Globalna klinička procjena akatizije	/	0,407 ± 0,786	0,261 ± 0,612	P=0,281; Mann Whitney test

Tablica 37. Broj bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR2C* rs3813929 aleli

ESRS ocjenska ljestvica	***HTR2C* rs3813929 aleli**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD		**C**	**T**	
I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja	/	5,006 ± 4,759	5,070 ± 4,891	P= 0,984; Mann Whitney test
II Uvid u parkinsonizam i akatiziju-pregled liječnika				
Izraženi nevoljni pokreti (lice/govor)	/	0,810 ± 1,106	0,744 ± 1,071	P= 0,795; Mann Whitney test
Bradikinezija	/	0,866 ± 1,139	0,837 ± 1,174	P= 0,855; Mann Whitney test
Rigidnost	/	3,151 ± 4,406	2,791 ± 4,051	P= 0,703; Mann Whitney test
Hod i držanje	/	0,855 ± 1,186	0,837 ± 1,194	P= 0,911; Mann Whitney test
Tremor	/	3,402 ± 5,098	3,302 ± 5,655	P= 0,733; Mann Whitney test
Akatizija	/	0,520 ± 1,035	0,395 ± 0,929	P= 0,374; Mann Whitney test
Sialoreja	/	1,067 ± 1,498	1,000 ± 1,633	P= 0,708; Mann Whitney test
Posturalna stabilnost	/	0,425 ± 0,813	0,419 ± 0,880	P= 0,560; Mann Whitney test
III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija	/	1,771 ± 4,992	1,302 ± 3,563	P= 0,510; Mann Whitney test
VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma	/	2,050 ± 1,897	2,186 ± 1,955	P= 0,639; Mann Whitney test
VII Klinička globalna procjena težine distonije	/	0,922 ± 1,936	0,674 ± 1,686	P= 0,489; Mann Whitney test
VIII Stupanj parkinsonizma	/	1,480 ± 1,330	1,442 ± 1,368	P= 0,884; Mann Whitney test

4.6.7 HTR2C rs518147 polimorfizam

Kao što je prikazano u Tablici 38., kada je uspoređen broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR2C* rs518147 alela, Mann Whitney testom nisu utvrđene značajne razlike u akutnim EPS-ovima kao što su abnormalno držanje (P=0,355), padanje ruku (P=0,526), trešnja ramenima (P=0,266), rigidnost lakta (P=0,966), rigidnost zapešća (P=0,922), okretanje glave (P=0,672), kuckanje po glabeli (P=0,987), tremor (P=0,691), salivacija (P=0,477) i akatizija (P=0,244) (Tablica 38.).

Nadalje, u bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR2C* rs518147 alela, Mann Whitney testom također nisu pronađene značajne razlike u broju bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice (Tablica 39.) poput objektivne ocjene (P=0,139), subjektivne ocjene –svijest o nemiru (P=0,255), subjektivne ocjene – nevolje vezane uz nemir (P=0,158) i globalne kliničke procjene akatizije (P=0,194).

Također, nije bilo značajnih razlika u broju bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice, kada su bolesnici liječeni haloperidolom podijeljeni na nositelje različitih *HTR2C* rs518147 alela (Tablica 40.). Naime, Mann Whitney test nije utvrdio značajne razlike u ESRS broju bodova za točku I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja (P=0,691), kao ni za akutne EPS-ove: izraženi nevoljni pokreti (P=0,651), bradikinezija (P=0,534), rigidnost (P=0,719), hod i držanje (P=0,661), tremor (P=0,555), akatizija (P=0,320), sialoreja (P=0,425) i posturalna stabilnost (P=0,494). Također, nije bilo značajnih razlika u broju ESRS bodova za točku III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija (P=0,398), VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma (P=0,413), VII Klinička globalna procjena težine distonije (P=0,327) i VIII Stupanj parkinsonizma (P=0,301) (Tablica 40.).

Tablica 38. Broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR2C* rs518147 alela

SAS ocjenska ljestvica	***HTR2C* rs518147 aleli**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD)		**C**	**G**	
Abnormalno držanje	/	0,564 ± 0,916	0,676 ± 0,942	P=0,355; Mann Whitney test
Padanje ruku	/	0,403 ± 0,735	0,462 ± 0,755	P=0,526; Mann Whitney test
Trešnja ramenima	/	0,274 ± 0,705	0,372 ± 0,754	P=0,266; Mann Whitney test
Rigidnost lakta	/	0,468 ± 0,804	0,455 ± 0,773	P=0,966; Mann Whitney test
Rigidnost zapešća	/	0,452 ± 0,782	0,441 ± 0,763	P=0,922; Mann Whitney test
Okretanje glave	/	0,403 ± 0,712	0,503 ± 0,906	P=0,672; Mann Whitney test
Kuckanje po glabeli	/	0,234 ± 0,556	0,230 ± 0,523	P=0,987; Mann Whitney test
Tremor	/	0,844 ± 1,198	0,919 ± 1,215	P=0,691; Mann Whitney test
Salivacija	/	0,734 ± 1,158	0,858 ± 1,178	P=0,477; Mann Whitney test
Akatizija	/	0,328 ± 0,736	0,466 ± 0,852	P=0,244; Mann Whitney test

Tablica 39. Broj bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR2C* rs518147 alela

BARS ocjenska ljestvica	***HTR2C* rs518147 aleli**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD)		**C**	**G**	
Objektivna ocjena	/	0,281 ± 0,654	0,439 ± 0,793	P=0,139; Mann Whitney test
Subjektivna ocjena – svijest o nemiru	/	0,312 ± 0,710	0,439 ± 0,835	P=0,255; Mann Whitney test
Subjektivna ocjena – nevolje vezane uz nemir	/	0,281 ± 0,678	0,439 ± 0,835	P=0,158; Mann Whitney test
Globalna klinička procjena akatizije	/	0,297 ± 0,659	0,449 ± 0,821	P=0,194; Mann Whitney test

Tablica 40. Broj bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR2C* rs518147 alela

ESRS ocjenska ljestvica	***HTR2C* rs518147 aleli**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD		**C**	**G**	
I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja	/	5,016 ± 4,901	5,248 ± 4,802	P=0,691; Mann Whitney test
II Uvid u parkinsonizam i akatiziju-pregled liječnika				
Izraženi nevoljni pokreti (lice/govor)	/	0,758 ± 1,082	0,848 ± 1,114	P=0,651; Mann Whitney test
Bradikinezija	/	0,806 ± 1,128	0,917 ± 1,164	P=0,534; Mann Whitney test
Rigidnost	/	2,968 ± 4,219	3,255 ± 4,466	P=0,719; Mann Whitney test
Hod i držanje	/	0,823 ± 1,167	0,876 ± 1,172	P=0,661; Mann Whitney test
Tremor	/	3,226 ± 5,445	3,593 ± 5,226	P=0,555; Mann Whitney test
Akatizija	/	0,419 ± 0,933	0,572 ± 1,085	P=0,320; Mann Whitney test
Sialoreja	/	0,984 ± 1,573	1,152 ± 1,529	P=0,425; Mann Whitney test
Posturalna stabilnost	/	0,403 ± 0,839	0,448 ± 0,841	P=0,494; Mann Whitney test
III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija	/	1,290 ± 3,522	1,910 ± 5,325	P=0,398; Mann Whitney test
VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma	/	1,919 ± 1,927	2,207 ± 1,893	P=0,413; Mann Whitney test
VII Klinička globalna procjena težine distonije	/	0,693 ± 1,723	0,993 ± 2,005	P=0,327; Mann Whitney test
VIII Stupanj parkinsonizma	/	1,355 ± 1,356	1,572 ± 1,322	P=0,301; Mann Whitney test

4.6.8 *HTR6* rs1805054 polimorfizam

Kada je uspoređen broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR6* rs1805054 genotipova, Kruskal-Wallis testom nisu utvrđene značajne razlike u akutnim EPS-ovima kao što su abnormalno držanje (P=0,619), trešnja ramenima (P=0,356), rigidnost lakta (P=0,123), rigidnost zapešća (P=0,085), okretanje glave (P=0,865), kuckanje po glabeli (P=0,716), salivacija (P=0,357) i akatizija (P=0,564) (Tablica 41.). U bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje *HTR6* rs1805054 genotipova liječenih haloperidolom, značajne razlike Kruskal-Wallis testom utvrđene su u broju bodova SAS ocjenske ljestvice za padanje ruku

(P=0.036;) i tremor (P=0,012), no samo u slučaju tremora značajne razlike između nositelja CC i TT genotipova potvrđene su post-hoc Dunnovim testom multiple komparacije (P=0,037).

U bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje različitih *HTR6* rs1805054 genotipova, Kruskal-Wallis testom također nisu pronađene značajne razlike u broju bodova na točkama BARS ocjenske ljestvice (Tablica 42.), poput objektivne ocjene (P=0,546), subjektivne ocjene –svijest o nemiru (P=0,488), subjektivne ocjene – nevolje vezane uz nemir (P=0,555) i globalne kliničke procjene akatizije (P=0,520).

Nije bilo značajnih razlika u broju bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice, kada su bolesnici liječeni haloperidolom podijeljeni na nositelje različitih *HTR6* rs1805054 genotipova (Tablica 43.). Kruskal-Wallis test nije utvrdio značajne razlike u ESRS broju bodova za točku I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja (P=0,972), kao ni za akutne EPS-ove: izraženi nevoljni pokreti (P=0,816), bradikinezija (P=0,302), hod i držanje (P=0,241), akatizija (P=0,320), sialoreja (P=0,603) i posturalna stabilnost (P=0,413). Također, nije bilo značajnih razlika u broju ESRS bodova za točku III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija (P=0,755), VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma (P=0,232), VII Klinička globalna procjena težine distonije (P=0,795) i VIII Stupanj parkinsonizma (P=0,199) (Tablica 43.). Kruskal-Wallis testom u bolesnika liječenih haloperidolom podijeljenih na nositelje *HTR6* rs1805054 genotipova utvrđene su značajne razlike u broju ESRS bodova za akutne EPS-ove: rigidnost (P=0,032) i tremor (P=0,012), no značajne razlike potvrđene su Dunnovim testom multiple komparacije između nositelja CC i TT genotipova samo u slučaju tremora (P=0,033) (Tablica 43.).

Tablica 41. Broj bodova na pojedinim točkama SAS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR6* rs1805054 genotipova

SAS ocjenska ljestvica	***HTR6* rs1805054 genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD)	**CC**	**CT**	**TT**	
Abnormalno držanje	0,561 ± 0,890	0,667 ± 0,964	0,750 ± 0,886	P=0,619; Kruskal-Wallis test
Padanje ruku	0,333 ± 0,661	0,500 ± 0,769	0,750 ± 0,707	P=0.036; Kruskal-Wallis test
Trešnja ramenima	0,276 ± 0,644	0,375 ± 0,795	0,625 ± 1,061	P=0,356; Kruskal-Wallis test
Rigidnost lakta	0,358 ± 0,691	0,500 ± 0,787	0,875 ± 1,126	P=0,123; Kruskal-Wallis test
Rigidnost zapešća	0,333 ± 0,661	0,500 ± 0,787	0,875 ± 1,126	P=0,085; Kruskal-Wallis test
Okretanje glave	0,431 ± 0,811	0,472 ± 0,903	0,500 ± 0,756	P=0,865; Kruskal-Wallis test
Kuckanje po glabeli	0,195 ± 0,487	0,233 ± 0,541	0,375 ± 0,744	P=0,716; Kruskal-Wallis test
Tremor	0,687 ± 1,128	1,014 ± 1,230	1,750 ± 1,165	P=0,012; Kruskal-Wallis test[a]
Salivacija	0,883 ± 1,195	0,616 ± 1,022	0,875 ± 1,246	P=0,357; Kruskal-Wallis test
Akatizija	0,422 ± 0,780	0,370 ± 0,842	0,625 ± 1,188	P=0,564; Kruskal-Wallis test

[a]*P=0,037 Dunnov test multiple komparacije CC vs. TT*

Tablica 42. Broj bodova na pojedinim točkama BARS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR6* rs1805054 genotipova

BARS ocjenska ljestvica	***HTR6 rs1805054* genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD)	**CC**	**CT**	**TT**	
Objektivna ocjena	0,398 ± 0,735	0,329 ± 0,746	0,500 ± 1,069	P=0,546; Kruskal-Wallis test
Subjektivna ocjena – svijest o nemiru	0,414 ± 0,789	0,315 ± 0,743	0,500 ± 1,069	P=0,488; Kruskal-Wallis test
Subjektivna ocjena – nevolje vezane uz nemir	0,398 ± 0,777	0,315 ± 0,743	0,500 ± 1,069	P=0,555; Kruskal-Wallis test
Globalna klinička procjena akatizije	0,402 ± 0,727	0,356 ± 0,823	0,500 ± 1,069	P=0,520; Kruskal-Wallis test

Tablica 43. Broj bodova na pojedinim točkama ESRS ocjenske ljestvice u bolesnika liječenih haloperidolom, nositelja različitih *HTR6* rs1805054 genotipova

ESRS ocjenska ljestvica	***HTR6* rs1805054 genotipovi**			**Statistička analiza**
Broj bodova (srednja vrijednost ± SD	**CC**	**CT**	**TT**	
I Parkinsonizam, distonija, diskinezija i akatizija- upitnik i ljestvica ponašanja	4,935 ± 4,665	5,194 ± 5,054	4,875 ± 4,518	P=0,972; Kruskal-Wallis test
II Uvid u parkinsonizam i akatiziju-pregled liječnika				
Izraženi nevoljni pokreti (lice/govor)	0,756 ± 1,066	0,861 ± 1,130	0,875 ± 1,246	P=0,816; Kruskal-Wallis test
Bradikinezija	0,732 ± 0,992	1,014 ± 1,250	1,250 ± 1,581	P=0,302; Kruskal-Wallis test
Rigidnost	2,439 ± 3,922	3,833 ± 4,696	4,250 ± 4,200	P=0,032; Kruskal-Wallis test
Hod i držanje	0,724 ± 1,081	0,986 ± 1,261	1,000 ± 1,069	P=0,241; Kruskal-Wallis test
Tremor	2,659 ± 4,792	3,833 ± 4,945	7,125 ± 6,621	P=0,012[a]; Kruskal-Wallis test
Akatizija	0,585 ± 1,093	0,417 ± 0,975	0,250 ± 0,463	P=0,320; Kruskal-Wallis test
Sialoreja	1,154 ± 1,579	0,931 ± 1,447	0,875 ± 1,246	P=0,603; Kruskal-Wallis test
Posturalna stabilnost	0,350 ± 0,735	0,528 ± 0,934	0,250 ± 0,463	P=0,413; Kruskal-Wallis test
III Distonija- pregled liječnika – 1. akutna torzijska distonija	1,837 ± 4,741	1,903 ± 5,472	0,375 ± 1,061	P=0,755; Kruskal-Wallis test
VI Klinička globalna procjena težine parkinsonizma	1,862 ± 1,861	2,292 ± 1,960	2,625 ± 1,768	P=0,232; Kruskal-Wallis test
VII Klinička globalna procjena težine distonije	0,967 ± 1,958	0,944 ± 2,006	0,500 ± 1,414	P=0,795; Kruskal-Wallis test
VIII Stupanj parkinsonizma	1,317 ± 1,326	1,639 ± 1,325	1,875 ± 1,246	P=0,199; Kruskal-Wallis test

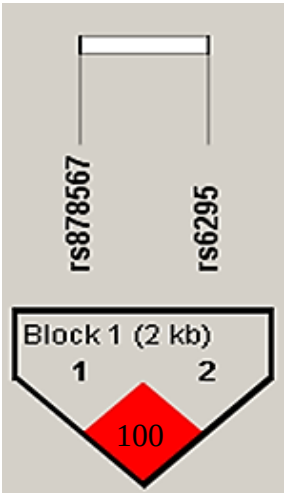
[a] *CC vs. TT P= 0,0332 Dunnov test multiple komparacije*

4.7 Raspodjela haplotipova genskih polimorfizama i razvoj značajnih akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava bolesnika

S obzirom da su u studiji istraživana po dva genska polimorfizma u genima *HTR1A*, *HTR2A* i *HTR2C* za polimorfizme rs6295 i rs878567 gena *HTR1A*, polimorfizme rs6314 i rs6313 gena *HTR2A* i polimorfizme rs3813929 i rs518147 gena *HTR2C* napravljena je haplotipska analiza.

4.7.1. Raspodjela haplotipova *HTR1A* rs6295 i rs878567 polimorfizama

Struktura haplotipskog bloka između rs6295 i rs878567 polimorfizama gena *HTR1A* istražena je pomoću programa Haploview (438). Za navedene polimorfizme utvrđen je visok stupanj neravnoteže udruživanja (engl. *linkage disequilibrium*, LD) (slika 15). Naime, LD vrijednost u istraživanom uzorku iznosila je 100 (D' = 1), što upućuje da se ova dva polimorfizma vrlo vjerojatno nasljeđuju zajedno u bloku.



Slika 15. Prikaz LD vrijednosti između polimorfizama rs6295 i rs878567 gena *HTR1A* dobivene pomoću programa Haploview (izvorna slika)

Stoga je za ova dva polimorfizma napravljena daljnja haplotipska analiza, a raspodjela haplotipova uspoređena je između skupine bolesnika koji jesu i koji nisu razvili značajne akutne EPS-ove nakon monoterapije haloperidolom. Programima Haploview i PLINK utvrđena su tri najčešća haplotipa u ispitivanom uzorku, a frekvencije pojedinih haplotipova nisu bile značajno različite između skupine bolesnika koji jesu i koji nisu razvili akutne EPS-ove nakon liječenja

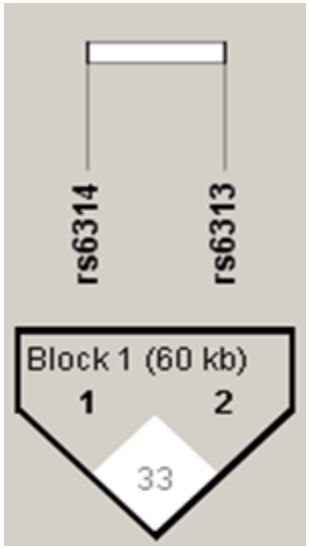
haloperidolom (Tablica 44.). Raspodjela svih haplotipova nije se značajno razlikovala između skupine bolesnika sa i bez akutnih EPS-ova nakon terapije haloperidolom ($\chi 2$=3,656; P=0,161).

Tablica 44. Frekvencije haplotipova za polimorfizme rs6295 i rs878567 gena *HTR1A* u bolesnika sa i bez akutnih EPS-ova nakon liječenja haloperidolom

Haplotip	Svi	Bolesnici bez akutnih EPS-ova	Bolesnici s akutnim EPS-ovima	$\chi 2$; P
CA	0.529	0.505	0.555	$\chi 2$=1,038; P=0,308
GG	0.361	0.357	0.365	$\chi 2$=0,027; P=0,868
GA	0.110	0.138	0.080	$\chi 2$=3,538; P=0,060

4.7.2 Raspodjela haplotipova *HTR2A* rs6314 i rs6313 polimorfizama

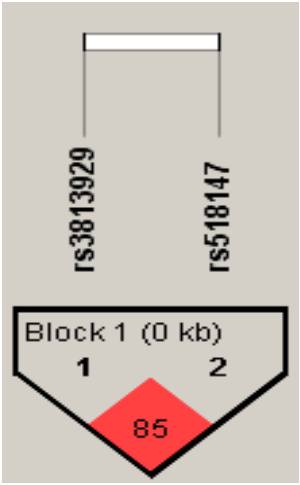
Struktura haplotipskog bloka između rs6314 i rs6313 polimorfizama gena *HTR2A* istražena je pomoću programa Haploview. Za navedene polimorfizme utvrđen je nizak stupanj neravnoteže udruživanja (LD) (slika 16). Naime, LD vrijednost u istraživanom uzorku iznosila je 33, što upućuje da se ova dva polimofizma vjerojatno ne nasljeđuju zajedno u bloku. Stoga za ova dva polimorfizma nije napravljena daljnja haplotipska analiza.



Slika 16. Prikaz LD vrijednosti između polimorfizama rs6314 i rs6313 gena *HTR2A* dobivene pomoću programa Haploview (izvorna slika)

4.7.3 Raspodjela haplotipova *HTR2C* rs3813929 i rs518147 polimorfizama

Struktura haplotipskog bloka između rs3813929 i rs518147 polimorfizama gena *HTR2C* istražena je pomoću programa Haploview. Za navedene polimorfizme utvrđen je visok stupanj neravnoteže udruživanja (LD) (slika 17). LD vrijednost u istraživanom uzorku iznosila je 85, što upućuje da se ova dva polimorfizma vrlo vjerojatno nasljeđuju zajedno u bloku.



Slika 17. Prikaz LD vrijednosti između polimorfizama rs3813929 i rs518147 gena *HTR2C* dobivene pomoću programa Haploview (izvorna slika)

Stoga je za ova dva polimorfizma napravljena daljnja haplotipska analiza, a raspodjela haplotipova uspoređena je između skupine bolesnika koji jesu i koji nisu razvili značajne akutne EPS-ove nakon monoterapije haloperidolom. Kao što se može vidjeti u Tablici 45., programima Haploview i PLINK utvrđena su četiri najčešća haplotipa u ispitivanom uzorku, od kojih je haplotip TG bio značajno češći u bolesnika bez akutnih EPS-ova nego u bolesnika koji su razvili akutne EPS-ove nakon terapije haloperidolom. Naime, u bolesnika s akutnim EPS-ovima nije utvrđen niti jedan TG haplotip. Frekvencije ostalih haplotipova nisu bile značajno različite između skupine bolesnika koji jesu i koji nisu razvili akutne EPS-ove nakon liječenja haloperidolom (Tablica 45.). Ukupno, raspodjela svih haplotipova nije se značajno razlikovala između skupine bolesnika sa i bez akutnih EPS-ova nakon terapije haloperidolom ($\chi 2=4,932$; $P=0,177$).

Tablica 45. Frekvencije haplotipova za polimorfizme rs3813929 i rs518147 gena *HTR2C* u bolesnika sa i bez akutnih EPS-ova nakon liječenja haloperidolom

Haplotip	**Svi**	**Bolesnici bez akutnih EPS-ova**	**Bolesnici s akutnim EPS-ovima**	**χ2; P**
CG	0.679	0.620	0.740	χ2=3,503; P=0,061
TC	0.175	0.194	0.154	χ2=0,606; P=0,436
CC	0.127	0.148	0.106	χ2=0,856; P=0,355
TG	0.019	0.037	0.000	χ2=3,926; P=0,047

5 RASPRAVA

Haloperidol, visoko učinkovit antipsihotik prve generacije, jedan je od najčešćih propisanih antipsihotika u Europi i SAD-u, a često se koristi u kliničkim istraživanjima kao komparativni lijek (439). Zbog vrlo snažnog antagonističkog djelovanja na dopaminske D_2 receptore u mezolimbičnom dopaminskom putu (440), haloperidol ima jako antipsihotično djelovanje i neophodan je lijek na popisu Svjetske zdravstvene organizacije (441). Međutim, kao što je to slučaj i s drugim tipičnim antipsihoticima, liječenje haloperidolom povezano je s razvojem akutnih i kroničnih ekstrapiramidalnih nuspojava (442), zbog blokade D_2 receptora u nigrostriatalnom putu (300). Upravo su akutni EPS-ovi, koji se razvijaju u bolesnika sa shizofrenijom uslijed terapije haloperidolom, izabrani kao tema ovog istraživanja.

EPS-ovi su dobro poznati i česti motorički poremećaji izazvani terapijom antipsihoticima (443). Uključuju akutne EPS-ove poput akatizije, akutne distonije i parkinsonizma koji se mogu javiti nekoliko dana ili tjedana nakon početka liječenja, kao i kronične EPS-ove kao što je tardivna diskinezija koja se razvija više mjeseci ili godina nakon antipsihotičke terapije (444). Ove ozbiljne negativne nuspojave često dovode do smanjenja suradljivosti pacijenta i čak prekida terapije te mogu predstavljati velika ograničenja u terapiji (445).

Pokazano je da se tipični antipsihotici "čvrsto" vežu na D_2 dopaminske receptore i polako disociraju (446), pri čemu zauzetost D_2 receptora veća od 80 %, značajno doprinosi riziku od EPS-a (447). Noviju, drugu generaciju antipsihotika prati manje EPS-ova (~15 %) u odnosu na prvu generaciju (50-75 %) (304, 375, 446), ali su češće povezane sa štetnim metaboličkim učincima (300). Kao i tipični antipsihotici, i atipični antipsihotici također blokiraju D_2 receptore, ali osim toga, pokazuju aktivnost na nekoliko serotoninskih (5-HT) receptora (444).

Različiti podaci sugeriraju važnu ulogu 5-HT sustava, uključujući različite 5-HT receptore, u modulaciji dopaminergičke funkcije i posljedično razvoju EPS-a nakon liječenja antipsihoticima (413, 448, 449). Moguće je da molekularna podloga 5-HT sustava doprinosi interindividualnim razlikama u razvoju EPS-a kao posljedici liječenja tipičnim antipsihoticima. Stoga je cilj ovog rada bio istražiti predstavljaju li varijante gena za pojedine 5-HT receptore rizični čimbenik za razvoj akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava nakon primjene antipsihotika haloperidola.

Pored vrste antipsihotika i njegovog afiniteta za dopaminske D_2 receptore u kombinaciji s afinitetom za 5-HT receptore (450), na razvoj akutnih EPS-ova mogu djelovati i drugi čimbenici koji uključuju mlađu dob, muški spol, duže trajanje liječenja, visoku dozu, psihijatrijsku dijagnozu (poput poremećaja raspoloženja) i prethodnu povijest EPS-ova (447, 451-453).

U ovom istraživanju svi su ispitanici bili muškog spola, što znači da bi u određenoj mjeri trebali biti predisponirani razvoju akutnih EPS-ova. Međutim, to nisu potvrdili rezultati prethodnih studija koje su obuhvaćale ispitanike oba spola (375, 454). Mlađa životna dob također se povezuje s većom učestalošću razvoja akutnih EPS-ova. U ovom istraživanju prosječna životna dob je bila 36,49 ± 10,40 godina, što znači da su ispitanici u prosjeku bili srednje dobi koja u znatnijoj mjeri ne bi trebala utjecati na razvoj akutnih EPS-ova. Nadalje, trajanje terapije haloperidolom u uobičajenoj i učinkovitoj dozi 15 mg/dan bilo je relativno kratko (2 tjedna) jer se željelo istražiti puno manje istražene akutne EPS-ove. Kako je poznato da osim etničke i rasna komponenta također interferira s ishodom ovakvih studija, u istraživanje su bili uključeni isključivo ispitanici bijele rase i hrvatskog podrijetla.

Bolesnici sa shizofrenijom su u trenutku istraživanja u prosijeku bili prekomjerne težine, s prosječnim indeksom tjelesne mase (ITM) 26,54 ± 9,182. To nije neočekivano s obzirom da su rezultati ranijih studija pokazali da su bolesnici sa shizofrenijom skloniji prekomjernoj tjelesnoj težini (455) i da imaju nekoliko puta veći rizik za obolijevanje od šećerne bolesti i kardiovaskularnih bolesti u odnosu na opću populaciju (456, 457), te da kod njih prevalencija metaboličkog sindroma iznosi približno 32 % (458). Također je pokazano da bolesnici sa shizofrenijom imaju visoku prevalenciju nezdravih prehrambenih navika (459) i da su skloni sjedećem načinu života, što može doprinijeti njihovoj prekomjernoj težini.

Nadalje, analizom prethodnog liječenja, ustanovljeno je da je većina bolesnika uključena u ovu studiju prethodno liječena antipsihoticima (89,52 %) i to uglavnom kombinacijom tipičnih i atipičnih antipsihotika (69,00 %), dok je 10,04 % uzimalo samo atipične antipsihotike. S obzirom da je poznato da atipični antipsihotici u odnosu na tipične antipsihotike imaju veći rizik za pojavu pretilosti kao i za različite kardiometaboličke posljedice i metaboličke nuspojave (458, 460), moguće je da je povećani ITM djelomično posljedica i prethodne terapije antipsihoticima druge generacije.

Manji udio bolesnika (15,28 %) je u trenutku istraživanja bio zaposlen, dok su preostali bili nezaposleni ili umirovljeni (79,04 %) ili u procesu školovanja (5,58 %). Ovi podaci u skladu su s visokom stopom nezaposlenosti oboljelih od shizofrenije koja je uočena u prethodnim studijama (461-463). Naime, nezaposlenost je jedan od najvećih problema s kojim se oboljeli od shizofrenije suočavaju tijekom života. Sam tijek bolesti koji je progresivan, s povremenim intenziviranjem simptoma (tzv. relapsi bolesti), onemogućava bolesnike da se zaposle ili da zadrže radno mjesto.

Brojni čimbenici povezani su s nezaposlenošću bolesnika sa shizofrenijom kao što su težina negativnih simptoma (464, 465), kognitivna disfunkcija (466, 467), starija dob (468), premorbidna razina školskog i socijalnog funkcioniranja (467), naobrazba (465, 469), razina funkcioniranja (462), veći broj i dužina prethodnih hospitalizacija (468, 469), kao i prisutnost komorbiditetnih psihičkih poremećaja (465).

S druge strane, bolesnici s boljim socijalnim okruženjem i većim brojem prijatelja te boljom podrškom imaju veću stopu zaposlenosti (470). Veliku ulogu imaju i razni egzogeni čimbenici. Tako stigma, diskriminacija, negativan stav poslodavaca i strah od gubitka beneficija predstavljaju glavne čimbenike u formiranju negativnog stava oboljelih sa shizofrenijom prema traženju i pronalasku posla (461, 471). Međutim, nisu pronađene nikakve razlike u radnom statusu oboljelih od shizofrenije liječenih atipičnim i tipičnim antipsihoticima poput haloperidola (471).

Nadalje, dugotrajan tijek bolesti s osiromašenjem osobnosti, emocionalnog doživljaja, kognitivnih i voljno nagonskih funkcija kao i nemogućnost samostalnog življenja i brige o samom sebi i svojim potrebama često dovodi do ranijeg umirovljenja u odnosu na zdrave osobe. Navedeni podaci u skladu su s činjenicom da je shizofrenija, svojim ranim početkom u mlađoj dobi, kroničnim tijekom, relapsima bolesti s posljedičnim hospitalnim liječenjima i stigmom koja prati bolesnike, onesposobljavajuća i teška bolest koja dovodi do radne i profesionalne nesposobnosti.

Većina bolesnika imala je srednju stručnu spremu (71,18 %), sa značajno manje bolesnika s nižom stručnom spremom (21,40 %), dok je najmanje bilo ispitanika s visokom stručnom spremom (7,42 %). Dobiveni podaci o pretežno srednjoškolskom obrazovanju ne iznenađuju. Naime, poznato je da se shizofrenija javlja u adolescentno doba i kod većeg dijela bolesnika onemogućava daljnje školovanje ili završetak ranije započetog studija.

Mali udio bolesnika sa shizofrenijom, u trenutku ispitivanja, bilo je u braku dok je većina ispitanika bila neoženjena ili rastavljena. Također, velika većina bolesnika nije imala djecu (83,84 %). Ovi rezultati podudaraju se s podacima koji pokazuju da su bolesnici sa shizofrenijom češće samci, i to ne samo zbog stigme same bolesti, nego i zbog emocionalnog osiromašenja i opće društvene disfunkcionalnosti. S obzirom da se shizofrenija pojavljuje kod muškaraca ranije nego kod žena, sama bolest, kao i česta bolnička liječenja i relapsi bolesti, često onemogućavaju bolesnicima stvaranje vlastite obitelji.

U ovom istraživanju, veći udio ispitanika predstavljali su pušači (67,25 %), dok je konzumacija alkohola zabilježena u 48,47 % bolesnika. Manji udio bolesnika sa shizofrenijom također je ranije konzumirao ilegalne psihoaktivne tvari. Navedeni rezultati u skladu su s podacima o čestom komorbiditetu shizofrenije i ovisnosti. Velik broj studija pokazao je visok udio pušača u bolesnika sa shizofrenijom (472-473).

Razlozi visoke prevalencije pušača među bolesnicima sa shizofrenijom nisu jasni (473), ali postoje brojne hipoteze koje to pokušavaju objasniti. Pokazano je da pušenje i shizofrenija međusobno dijele genetsku vulnerabilnost (474) i da dopamin ima ključnu ulogu u tom odnosu (473). Pušenje, odnosno nikotin, podiže koncentraciju dopamina u strijatumu, a istovremeno inhibira enzime monoamin-oksidazu tipa A i B (MAO-A i MAO-B) i tako smanjuje razgradnju dopamina.

S druge strane, visoka učestalost pušenja u oboljelih sa shizofrenijom objašnjava se antidepresivnim učincima nikotina i njegovom sposobnošću da smanjuje ekstrapiramidalne nuspojave antipsihotika, te tako djeluje na bihevioralne osobine oboljelih od shizofrenije (473). Stoga je jedna od hipoteza da pušenje u bolesnika sa shizofrenijom može predstavljati samomedikaciju radi ublažavanja simptoma anksioznosti, uznemirenosti i tzv. pozitivnih simptoma koji izazivaju anksioznost.

Naravno, konzumacija alkohola i različitih psihoaktivnih supstanci kod oboljelih od shizofrenije, može biti posljedica navika stečenih kroz odrastanje ili naučeno ponašanje iz obitelji.

Mnoga istraživanja pokazala su da zlouporaba sredstava ovisnosti obično nagovještava početak psihotičnih simptoma (475-477), naročito u slučaju marihuane. Naime, zlouporaba sredstava ovisnosti vrlo je česta među oboljelima od prve psihoze i ima potencijalni učinak na psihopatologiju (475-479). Međutim, iako je mali broj bolesnika ranije konzumirao ilegalne supstance, u ovoj studiji ovisnost o ilegalnim psihoaktivnim tvarima je bila isključni kriterij pa iz tog razloga nije niti mogla utjecati na rezultate istraživanja.

Podaci o ukupnom broju bodova na PANSS ljestvici, kao i bodovima na podljestvicama PANSS skale, upućuju da su u trenutku uključivanja u istraživanje, osobe sa shizofrenijom bile „osrednje do teško“ bolesne (431) odnosno da imaju relativno tešku psihopatologiju, zbog čega su i hospitalizirane.

Analizom prethodnog liječenja, ustanovljeno je većina bolesnika prethodno liječena antipsihoticima (89,52 %), dok 10,48 % bolesnika nije primalo prethodnu terapiju. Kontinuitet uzimanja antispihotika neophodan je za poboljšanje odnosno stišavanje simptoma shizofrenije. Međutim, bolesnici sa shizofrenijom često prestaju s uzimanjem lijekova, zbog nedovoljnog uvida i kritičnosti prema bolesti, komorbiditetne ovisnosti o alkoholu ili drogama i općenito neprijateljskog stava prema liječniku psihijatru i samom liječenju (480), ali i zbog pojave neugodnih nuspojava terapije antipsihoticima kao što su EPS-ovi (445).

Analizom suicidalnog ponašanja utvrđeno je da je 24,89 % bolesnika sa shizofrenijom uključeno u ovo istraživanje pokušalo suicid tijekom života. Iako su podaci prevalencije suicida kod bolesnika sa shizofrenijom vrlo različiti, brojna istraživanja pokazala su da oboljeli od shizofrenije imaju veći rizik za suicidalno ponašanje i počinjenje suicida. Tako, neke studije pokazuju da je stopa suicida među bolesnicima sa shizofrenijom između 10-13 % (481), dok noviji podaci govore o stopi od 4,9 % (482).

Smatra se da je rizik suicida u bolesnika sa shizofrenijom viši nakon pojave prvih psihotičnih simptoma i tijekom prvih 5-10 godina liječenja (482, 483) dok se najvećim rizikom za suicid smatraju boravak na bolničkom liječenju i 6 mjeseci nakon otpusta s bolničkog liječenja (483, 484). Nadalje, nije iznenađujuće da je povećani rizik od suicida utvrđen u mlađih

muškaraca sa shizofrenijom koji su neoženjeni, nezaposleni, depresivni te socijalno izolirani (485, 486) kao i kod onih koji nemaju odgovarajuću obiteljsku i socijalnu potporu (487).

Općenito, suicid se povezuje s promjenama u različitim neurotransmitorskim i neuroendokrinim sustavima (488), a osim neurobiološke i genetske osnove, ostali čimbenici rizika za suicidalno ponašanje su mlađa dob, nezaposlenost, manja stručna sprema, poremećaji raspoloženja i ponašanja, bolesti ovisnosti kao i shizofrenija (489).

Vezano za prethodni tijek bolesti, 17,03 % bolesnika postiglo je potpunu, a 69,89 % djelomičnu remisiju, dok je 13,10 % bolesnika bilo rezistentno na terapiju. Postotak bolesnika rezistentnih na terapiju u ovom istraživanju nešto je manji od podataka iz literature. Naime, usprkos dostupnosti i primjeni različitih antipsihotika u liječenju shizofrenije, prema nekim studijama oko 30 % bolesnika sa shizofrenijom refrakterno je na terapiju (490, 491) dok su neka istraživanja utvrdila postotak terapijski rezistentnih bolesnika sa shizofrenijom od čak 42 % (492).

Ukupno 66,81 % bolesnika sa shizofrenijom prijavilo je pojavu nekog oblika akutnih EPS-ova tijekom monoterapije haloperidolom i tu u prosjeku već u roku od 5 dana. Prema ocjenskoj ljestvici SAS, u 48,03 % ispitanika primjećeni su značajni akutni EPS-ovi (broj SAS bodova > 3). Učestalost i težina akutnih EPS-ova donekle se razlikovala ovisno o primijenjenoj ocjenskoj ljestvici, međutim najčešći akutni EPS-ovi bili su parkinsonizam odnosno tremor, bradikinezija, poremećaji u ravnoteži i držanju odnosno abnormalno držanje i problemi u posturalnoj stabilnosti, te rigidnost uključujući rigidnost lakta i zapešća. S druge strane, srednje učestali bili su simptomi sialoreje, kao i izraženi nevoljni pokreti poput padanja ruku, okretanja glave, trešnje ramenima, kuckanja po glabeli, akutne torzijske distonije, te akatizije koja je prema svim ocjenskim ljestvicama zabilježena u 23-25 % ispitanika nakon monoterapije haloperidolom.

Frekvencija razvoja akutnih EPS-ova, kao i učestalost pojedinačnih nuspojava, vrlo je varijabilna između različitih istraživanja (493). Primjećena varijabilnost uglavnom se objašnjava primjenom različitih metoda dijagnoze i evaluacije akutnih EPS-ova, raznim čimbenicima prije liječenja, primjenom različite vrste i doze antipsihotika, dužinom trajanja liječenja, konkomitantnom terapijom, prethodnim liječenjem, suradljivošću bolesnika, kao i razlikama u spolu i dobi bolesnika (494). Svi ovi čimbenici mogu u znatnoj mjeri mogu utjecati

na ishod farmakogenetskih studija u psihofarmakologiji pa tako i na razvoj ukupnih akutnih EPS-ova, odnosno pojedinih nuspojava.

Usprkost varijabilnosti, učestalost pojave akutnih EPS-ova u provedenom istraživanju nakon monoterapije haloperidolom uglavnom je u skladu s incidencijom razvoja akutnih EPS-ova uzrokovanih antipsihoticima prve generacije koja se kreće u rasponu od 50-70 % (366, 375). Međutim, u raspodjeli pojedinih nuspojava postoji veća raznolikost među istraživanjima. Tako je, slično ovom istraživanju, u studiji Guzey i suradnika (2007) (366) parkinsonizam bio najčešća nuspojava. Također, u istraživanju Lafuente i suradnika (2008) (375) u skladu s rezultatima ove studije najučestalije su bile bradikinezija, rigidnost, međutim za razliku od ove studije, tremor je bio najrjeđi akutni EPS.

S obzirom da se u novije vrijeme sve više istražuju genetski čimbenici uključeni u razvoj EPS-ova izazvanih primjenom antipsihotika, kao što su oni povezani s metabolizmom antipsihotskih lijekova i uklanjanjem slobodnih radikala (366, 495), kao i varijante gena koji kodiraju različite komponente dopaminergičkog sustava (366, 368, 375) u ovom radu istražene su odabrane varijante gena za pojedine 5-HT receptore. Stoga je određena raspodjela genotipova i alela polimorfizama rs878567 (*HTR1A*), rs6295 (*HTR1A*), rs13212041 (*HTR1B*), rs6313 (*HTR2A*), rs6314 (*HTR2A*), rs518147 (*HTR2C*), rs3813929 (*HTR2C*) i rs1805054 (*HTR6*) u 229 osoba oboljelih od shizofrenije. Raspodjela genotipova u bolesnika oboljelih od shizofrenije za sve istraživane genske polimorfizme bila je u skladu s Hardy-Weinbergovom ravnotežom (HWE) što upućuje da u istraživanom uzorku ispitanika postoji konstantnost udjela određenih genotpova i tipova alela. Nadalje, kada su bolesnici sa shizofrenijom podijeljeni na one koji su razvili i one koji nisu razvili značajne akutne EPS-ove nakon monoterapije haloperidolom (broj bodova na SAS ocjenskoj ljestvici >3), nije primjećena značajna razlika u raspodjeli genotipova ili alela istraživanih polimorfizama.

I prethodna farmakogenetička istraživanja analizirala su povezanost razvoja EPS-ova i genetičkih biljega u genima kandidatima koji su uključeni u 5-HT neurotransmisiju (366, 338, 496, 497). Međutim, glavnina tih studija fokusirala se na kronične EPS-ove kao što je tardivna diskinezija (418, 423, 424, 496), dok su samo neke istraživale razvoj akutnih EPS-ova (338, 380, 419). Ta istraživanja utvrdila su povezanost razvoja EPS-ova s polimorfizmima u genima *HTR2A* i *HTR2C*. Naime, pokazano je da su aleli 102C kod polimorfizma 102T/C u genu *HTR2A,* alel -697C kod polimorfizma −697G/C i alel 23Ser kod polimorfizma u genu *HTR2C* češći u ispitanika s akutnim EPS-ovima kao što je parkinsonizam i akatizija u usporedbi s ispitanicima bez EPS-ova (338, 418). U svom istraživanju Knol predlaže da prisustvo alela -759 T u genu *HTR2C* može imati protektivnu ulogu kod razvoja parkinsonizma u starijih ispitanica tijekom liječenja haloperidolom (419). Nadalje, utvrđeno je da polimorfizam rs9567733 u genu *HTR2A* značajno doprinosi riziku razvoja EPS-ova (parkinsonizam, akutna distonija, akatizija) nakon liječenja antipsihoticima (380). U suprotnosti s navedenim studijama, ovo istraživanje nije utvrdilo značajnu razliku između bolesnika koji su razvili značajne akutne EPS-ove nakon liječenja haloperidolom (SAS broj bodova > 3) i onih bez značajnih akutnih EPS-ova (SAS broj bodova ≤ 3) u raspodjeli genotipova i alela istraživanih polimorfizama gena *HTR1A, HTR2A, HTR2C* i *HTR6*.

Međutim, ako se usporedi ukupan broj bodova SAS, BARS i ESRS ocjenskih ljestvica između bolesnika, nositelja različitih genotipova ili alela za istraživane genske polimorfizme uočava se značajna povezanost *HTR1B* rs13212041 polimorfizma s ukupnim brojem bodova na BARS ocjenskoj ljestvici. Naime, istraživani bolesnici sa shizofrenijom koji su liječeni haloperidolom, a nositelji su TT genotipa *HTR1B* rs13212041 polimorfizma, imali su značajno viši ukupan broj bodova na BARS ocjenskoj ljestvici koja evaluira akatiziju u usporedbi s nositeljima CT genotipa i nositeljima C alela.

Nadalje, nakon analize ukupnog broja bodova napravljena je i detaljna analiza svih pojedinačnih točaka ocjenskih ljestvica SAS, BARS i ESRS u bolesnika tretiranih haloperidolom podijeljenih prema nositeljima različitih genotipova ili alela istraživanih genskih polimorfizama. Ovom analizom utvrđena je značajna razlika između nositelja CC i CT genotipova *HTR2A* rs6313 polimorfizma u broju ESRS bodova za akutnu nuspojavu rigidnost, te značajne razlike između nositelja CC i TT genotipova *HTR6* rs1805054 polimorfizma u broju bodova SAS i ESRS ocjenskih ljestvica za akutnu nuspojavu tremor. U ranijim studijama kod antipsihoticima liječenih bolesnika sa shizofrenijom utvrđena je povezanost *HTR2A* rs6313 polimorfizma s razvojem akutnih EPS-ova poput parkinsonizma i akatizije (338), te kroničnih

EPS-ova poput tardivne diskinezije (391, 423), međutim ne i s pojavom rigidnosti. Također, koliko nam je poznato, do sada nije prijavljena povezanost *HTR6* rs1805054 polimorfizma s razvojem tremora nakon akutne primjene antipsihotika.

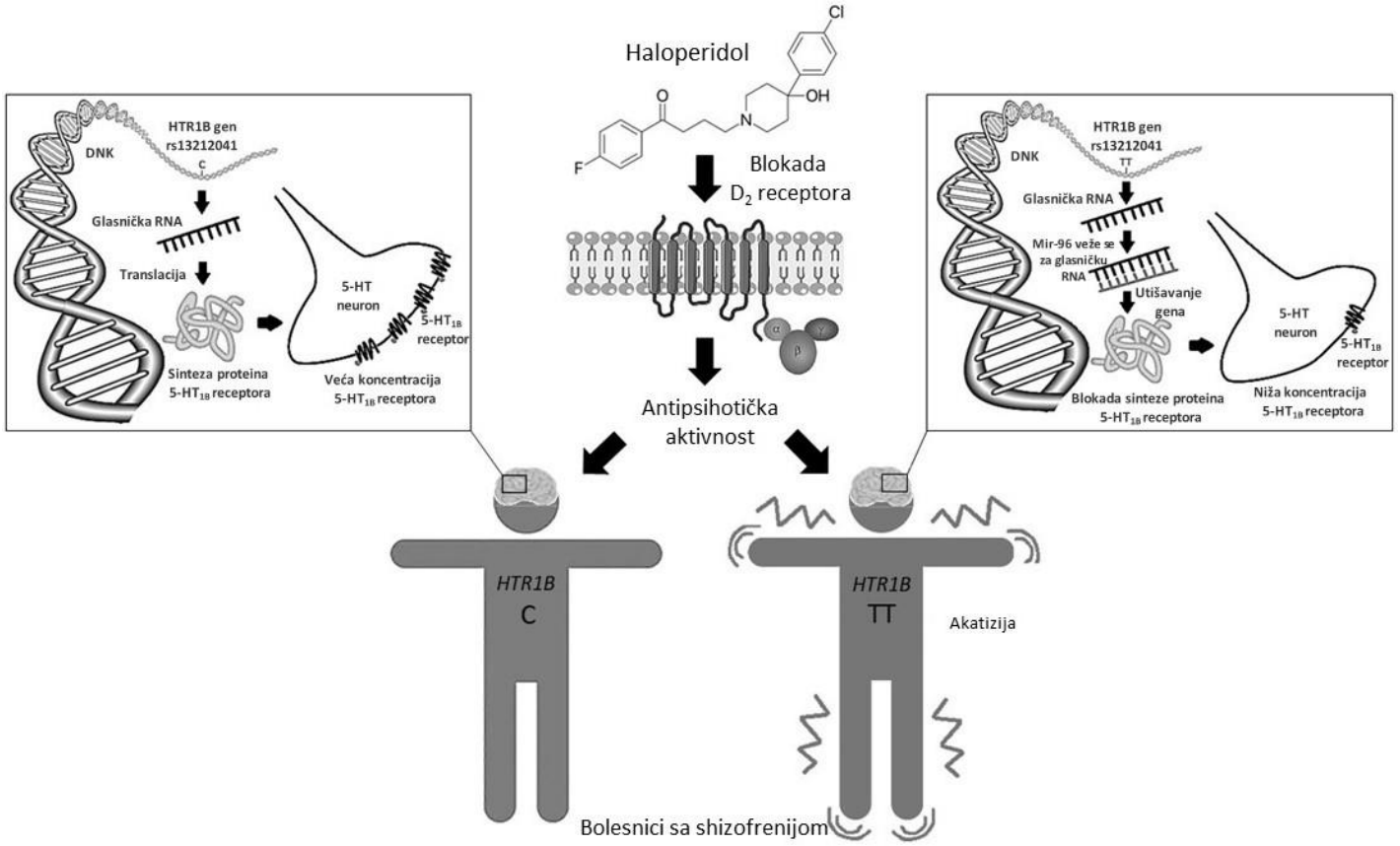
Međutim, najznačajniji pronalazak predstavlja rezultat da su nositelji *HTR1B* TT genotipa imali značajno već broj bodova na SAS, BARS i ESRS ocjenskim ljestvicama za akatiziju u usporedbi s nositeljima CT genotipa kao i s nositeljima C alela. Daljnjom analizom pokazano je da su nositelji TT genotipa polimorfizma *HTR1B* rs13212041 imali značajno veći broj bodova za svaku pojedinačnu točku na BARS ocjenskoj ljestvici koja evaluira akatiziju u usporedbi s pacijenatima koji su imali CT genotip. Primjenom SAS, BARS i ESRS ocjenskih ljestvica također je utvrđen značajno veći broj nositelja TT genotipa u haloperidolom liječenih ispitanika sa shizofrenijom koji su razvili simptome akatizije nego u skupini bez simptoma akatizije.

Akatizija je česta i ozbiljna nuspojava koja se obično postepeno razvija nekoliko dana do nekoliko tjedana nakon početka liječenja antipsihoticima. Karakterizirana je osjećajem unutarnjeg nemira i nemogućnosti mirovanja te se sastoji od subjektivne (unutarnji osjećaj nemira i nagon na kretanje) i objektivne komponente (ljuljanje tijekom stajanja ili sjedenja, podizanje nogu poput stupanja na mjestu) (498). Razvoj ozbiljnijih simptoma akatizije može dovesti do slabe suradljivosti bolesnika, egzacerbacije psihijatrijskih simptoma, kao i do pojave agresije, nasilnosti i suicida (499). U ovom istraživanju, razvoj akatizije zabilježen je u 23-25 % ispitanika, što je u skladu sa zabilježenom učestalošću (5-75 %) (500, 501) i prosječnom prevalencijom od 20-35 % (502).

Prema objavljenim podacima, ovo je prvo istraživanje koje je pokazalo povezanost polimorfizma rs13212041 u genu *HTR1B* s razvojem akutne ekstrapiramidalne nuspojave akatizije izazvane primjenom antipsihotika. Ovaj rezultat potvrđuje blisku vezu između molekularnih čimbenika koji utječu na 5-HT sustav i genetičke sklonosti za razvoj akutnih EPS-ova izazvanih primjenom antipsihotika.

Polimorfizam rs13212041 (A1997G) smješten je na distalnoj 3′-netranslantiranoj regiji (engl. *untranslational region*, UTR) *HTR1B* glasničke RNA te ometa vezno mjesto mikroRNA, miR-96, posljedično utječući na ekspresiju 5-HT_{1B} receptora (503). Ekspresija miR-96 utvrđena je u mozgu (504), te može biti modulirana raznim okolišnim čimbenicima (503) uključujući i antipsihotike. Nositelji A alela pokazuju smanjenu ekspresiju gena *HTR1B* u usporedbi s

nositeljima G alela (503). Stoga se može pretpostaviti da ispitanici sa shizofrenijom liječeni haloperiolom koji su nositelji TT genotipa ovog polimorfizma, te koji učestalije i u težem obliku razvijaju akatiziju, imaju niže razine 5-HT_{1B} receptora nego nositelji C alela (slika 18).



Slika 18. Polimorfizam rs13212041 (A1997G) smješten u distalnoj 3′-netranslantiranoj regiji (engl. *untranslational region*, UTR) *HTR1B* glasničke RNA ometa vezno mjesto mikroRNA, miR-96, posljedično utječući na ekspresiju 5-HT_{1B} receptora. Ispitanici sa shizofrenijom liječeni haloperiolom koji nose TT genotip, učestalije i u težem obliku razvijaju akatiziju nego nositelji C alela. Preuzeto i prilagođeno iz Grubor i sur. 2020. (437)

Takvi epigenetski mehanizmi modulacije funkcije 5-HT sustava i ekspresije gena potkrijepljeni su nedavnim istraživanjima koja su utvrdila značajnu povezanost između uzorka DNA metilacije u promotorskim regijama nekih 5-HT gena i odgovora na antipsihotike (505). Haloperidol inducira ukupno povećanje metilacije DNA (506, 507), fosfo-acetilaciju histona 3 (508) kao i ekspresiju različitih epigenetičkih modifikatora uključenih u proces metilacije DNA (506). Pored toga, razne studije utvrdile su promjene mikroRNA tijekom liječenja haloperidolom. Naime, miR-128a, miR-128b i miR-199a imale su veću ekspresiju, dok je ekspresija miR-22, miR-434-5p i miR-29b smanjena pod utjecajem haloperidola (506, 509, 510). Nadalje, liječenje haloperidolom povezano je s izmjenama u ekspresiji različitih gena (511) od kojih neki mogu biti uključeni u razvoj EPS-ova (512).

Nadalje, s obzirom da su u studiji istraživana po dva genska polimorfizma u genima *HTR1A, HTR2A* i *HTR2C* za polimorfizme rs6295 i rs878567 gena *HTR1A*, polimorfizme rs6314 i rs6313 gena *HTR2A* i polimorfizme rs3813929 i rs518147 gena *HTR2C* napravljena je haplotipska analiza. Kako je za rs6314 i rs6313 polimorfizme gena *HTR2A* utvrđen nizak stupanj neravnoteže udruživanja (LD) što upućuje da se oni vjerojatno ne nasljeđuju zajedno u bloku, za ova dva polimorfizma nije napravljena daljnja haplotipska analiza.

Međutim, za rs6295 i rs878567 polimorfizme gena *HTR1A*, kao i za rs3813929 i rs518147 polimorfizme gena *HTR2C* utvrđen je visok stupanj neravnoteže udruživanja (LD) što upućuje da se ovi polimorfizmi vrlo vjerojatno nasljeđuju zajedno u bloku, te su za njih utvrđeni najčešći haplotipovi u ispitivanom uzorku.

Frekvencije pojedinih haplotipova gena *HTR1A* nisu bile značajno različite između skupine bolesnika koji jesu i koji nisu razvili akutne EPS-ove nakon liječenja haloperidolom, no u slučaju gena *HTR2C* haplotip TG bio je značajno češći u bolesnika bez akutnih EPS-ova nego u bolesnika koji su razvili akutne EPS-ove nakon terapije haloperidolom. Ovi podaci upućuju na povezanost rs3813929 i rs518147 polimorfizama gena *HTR2C* s razvojem akutnih EPS-ova u bolesnika sa shizofrenijom liječenih haloperidolom.

Gunes i suradnici također su primjetili povezanost EPS-ova s *HTR2C* haplotipom koji je uključio ova dva polimorfizma. Naime, bolesnici s EPS-ovima imali su značajno višu učestalost haplotipa koji je uključio *HTR2C* alele -997G, -759C, -697C i 23Ser (P=0,04) od ispitanika bez EPS-ova i zdravih ispitanika (496).

Molekulski mehanizmi putem kojih su 5-HT receptori uključeni u razvoj haloperidolom izazvanih EPS-ova još nisu u potpunosti razjašnjeni. Rjeđi razvoj EPS-ova primjenom antipsihotika druge generacije primarno je objašnjen njihovim većim afinitetom prema 5-HT_{2A} receptorima nego prema D_2 receptorima (513). Stoga se smatra da antagonizam 5-HT_{2A} receptora smanjuje pojavnost ekstrapiramidalnih nuspojava (514). Inicijalno se smatralo da je to povezano s povećanjem endogenog dopamina u strijatumu, pri tome uklanjajući antipsihotik s D_2 veznih mjesta u strijatumu (515), no daljnja istraživanja pokazala su da antagonizam 5-HT_{2A} receptora može ukloniti katalepsiju izazvanu haloperidolom u štakora, bez utjecaja na otpuštanje dopamina u strijatumu (516). Također je predloženo da antagonizam 5-HT_{2A} receptora može smanjiti pojavnost EPS-ova modulacijom kolinergičnih ili GABA-ergičnih mehanizama bez izravnog utjecaja na okupiranost D_2 receptora (515). Međutim, u kliničkoj praksi pokazalo se da su antipsihotici druge generacije, pri dozama koje zauzimaju preko 80 % veznih mjesta D_2 receptora, izazvali EPS-ove unatoč maksimalnoj blokadi 5-HT_{2A} receptora.

Smatra se da agonizam 5-HT_{1A} receptora, svojstvo antipsihotika druge generacije, također smanjuje pojavu EPS-ova, što vjerojatno nije povezano s učinkom na otpuštanje dopamina u strijatumu (516). Kortikalni učinak 5-HT_{2A} antagonizma i 5-HT_{1A} agonizma, kao mehanizam djelovanja antipsihotika, vjerojatno je od većeg značaja (448, 517, 518). 5-HT_{2C} receptori mogu imati inhibicijski učinak na nigrostrijatalne dopaminske puteve u nekim (519-522), ali ne svim uvjetima (449), (523), (524). Težina EPS-ova kod primjene antipsihotika prve generacije povezana je s njihovim manjim afinitetom prema 5-HT_{2C} receptorima (525, 526), no mehanizam još uvijek nije u potpunosti razjašnjen (449). Nadalje, zabilježeno je da antagonizam 5-HT_6 receptora ublažava EPS-ove izazvane antipsihoticima inhibirajući kolinergičku aktivnost u strijatumu (527).

Velika većina antipsihotika djeluje kao antagonisti 5-HT_{1B} receptora, i obično pokazuju svojstva inverznih agonista (528, 529). Stoga razlika u potentnosti različitih antipsihotika na 5-HT_{1B} receptorskim veznim mjestima u odnosu na D_2 receptore, može utjecati na razvoj EPS-ova. Podaci vezani za ulogu 5-HT_{1B} receptora na otpuštanje dopamina u strijatumu su kontradiktorni (413, 416, 530). Smatra se da 5-HT_{1B} receptori moduliraju učinak nigrostrijatalnog dopamina na stanice u strijatumu neovisno o ukupnom učinku na otpuštanje dopamina (448, 531). To je u skladu sa zaključcima da stimulacija 5-HT_{1B} receptora smanjuje diskineziju uzrokovanu agonistima dopaminskih receptora (532, 533). Važno je naglasiti kako rs13212041 polimorfizam u genu *HTR1B*, utječući na ekspresiju 5-HT_{1B} receptora, može posljedično utjecati na 5-HT neurotransmisiju. 5-HT_{1B} receptori djeluju kao inhibicijski

autoreceptori ili heteroreceptori na serotoninskim, ali i ne-serotoninskim neuronima i moduliraju 5-HT aktivnost (534).

Intervencije usmjerene na modulaciju serotoninske transmisije privukle su velik interes u liječenju akatizije (500, 535). Naime, antagonisti 5-$HT_{2A/C}$ receptora, mianserin (536), mirtazapin (537), ritanserin (538) i ciproheptadin (539) pokazali su učinkovitost kod liječenja akutne akatizije. Rezultati ovog istraživanja sugeriraju da bi agonisti 5-HT_{1B} receptora, kao što je zolmitriptan, mogli također biti učinkoviti u liječenju akatizije izazvane antipsihoticima (540).

U ovom istraživanju, svi ispitanici liječeni su haloperidolom (15 mg/dan) kao monoterapijom (diazepam je bio samo kao konkomitantna terapija po potrebi) tijekom dva tjedna kako bi se isključile moguće interakcije između različitih lijekova. Međutim, nisu mjerene koncentracije haloperidola u plazmi koja izravno utječe na zaposjednutost D_2 receptora i potencijal stvaranja EPS-ova i nije napravljena *CYP2D6* genotipizacija. Naime, haloperidol karakterizira velika razlika u farmakokinetici koja je najčešće posljedica metaboličke aktivnosti genetski reguliranog CYP2D6 enzima (349). S obzirom da je koncentracija antipsihotika dobro poznat rizični čimbenik za razvoj EPS-ova, moguće je da bolesnici koji su spori CYP2D6 metabolizatori imaju povećani rizik od razvoja EPS-ova izazvanih haloperidolom (495).

Ostali nedostatci ove studije jesu dizajn presječnog istraživanja koji onemogućava uzročno-posljedično povezivanje i nedostatak kontrolne skupine. Također nisu prikupljani podaci o tjelesnoj aktivnosti, apetitu i prehrambenim navikama bolesnika. Ovi se podaci ne mogu primijeniti na žene oboljele od shizofrenije, pacijente u vanbolničkom tretmanu koji su u stabilnoj remisiji bolesti, kao i na pacijente sa značajnim komorbiditetnim bolestima. Još jedna od limitacija ove studije je nemogućnost ponavljanja rezultata u neovisnom uzorku.

Uz prikladan broj ispitanika odnosno veličinu uzorka i odgovarajuću statističku snagu, prednost ovog istraživanja je da je obuhvatila etnički homogenu skupinu srednjovječnih muškaraca sa shizofrenijom u akutnoj fazi bolesti koji su u trenutku uključivanja bili na bolničkom liječenju.

Iako je točna patofiziologija akatizije i dalje nepoznata, poznati su različiti čimbenici rizika, uključujući vrstu i dozu antipsihotičkih lijekova (498). Akatizija se češće pojavljuje kod korištenja visoko potentnih antipsihotika prve generacije, kao što je haloperidol (15 %-40 %), iako je razvoj akatizije primijećen i kod pojedinih antipsihotika druge generacije (541, 542).

Rezultati ovog istraživanja posebno su važni ako se uzme u obzir da pojava akatizije nije ograničena samo na antipsihotike. Antidepresivi, posebice inhibitori selektivne pohrane serotonina (engl. *selective serotonin reuptake inhibitors*, SSRI) (543), inhibitori monoamin-oksidaze (MAOI) (544) i triciklički antidepresivi (545), također su povezani s razvojem akatizije. Ovi podaci potkrijepljuju važnost 5-HT sustava u regulaciji ekstrapiramidalnih motoričkih funkcija (546). Rezultati ovog istraživanja istaknuli su polimorfizam *HTR1B* gena kao molekularnu determinantu za razvoj akatizije. Stoga su potrebne daljnje studije kako bi se potvrdili rezultati ovoga rada i kako bi se dodatno proširilo razumijevanje individualne podložnosti bolesnika za razvoj EPS-ova izazvanih antipsihoticima.

O brojnim mehanizmima uključenim u etiopatogenezu akutnih EPS-ova relativno se malo zna. Ovim istraživanjem uloge 5-HT sustava rasvjetljen je samo mali dio biologijske podloge akutnih EPS-ova u koju su uključeni i drugi neurotransmiterski i neuromodulacijski sustavi, a koji ovdje nisu istraživani, kao i brojni geni sukladno činjenici da je shizofrenija poligena kompleksna bolest. Naravno, potrebno je uzeti u obzir i razne okolišne čimbenike, koji u interakciji s genetskim varijantama, imaju znatan utjecaj na samu prirodu bolesti, pa tako i na njezino liječenje i razvoj nuspojava, a što je u ovom istraživanju obuhvaćeno samo jednim manjim dijelom.

6 ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja moguće je zaključiti sljedeće:

- Studija je obuhvatila 229 srednjovječnih bijelih muškaraca hrvatskog podrijetla, s dijagnozom shizofrenije. Bolesnici sa shizofrenijom uglavnom su imali srednju stručnu spremu, nisu bili zaposleni niti u braku, te većinom nisu imali djece. Većina ispitanika bili su pušači i imali su prekomjernu težinu, dok je oko polovice ispitanika konzumiralo alkohol, a tek manji dio ilegalne psihoaktivne tvari.

- Relativno visok ukupan broj bodova na PANSS ljestvici, kao i broj bodova na podljestvicama PANSS skale, upućuju da su u trenutku uključivanja u istraživanje, osobe sa shizofrenijom bile „osrednje do teško" bolesne, odnosno da su imale relativno tešku psihopatologiju, zbog čega su i hospitalizirane. Većina bolesnika prethodno je liječena antipsihoticima i to uglavnom kombinacijom tipičnih i atipičnih antipsihotika, te je ostvarila prethodnu parcijalnu ili potpunu remisiju bolesti. Usprkos tome, gotovo 25 % ispitanika sa shizofrenijom uključenih u studiju pokušalo je suicid tijekom života.

- Ukupno 66,81 % bolesnika sa shizofrenijom prijavilo je pojavu nekog oblika akutnih ekstrapiramidalnih nuspojava i to u prosjeku nakon 5 dana monoterapije haloperidolom, dok su kod 48,03 % ispitanika primjećene značajni akutni EPS-ovi (broj bodova SAS ocjenske ljestvice > 3).

- Učestalost i težina pojedinih akutnih EPS-ova donekle se razlikovala ovisno o primjenjenoj ocjenskoj ljestvici, međutim najčešći akutni EPS-ovi bili su parkinsonizam uključujući tremor, bradikinezija, poremećaji u ravnoteži i držanju odnosno abnormalno držanje i problemi u posturalnoj stabilnosti, te rigidnost uključujući rigidnost lakta i zapešća. S druge strane, srednje učestali bili su simptomi sialoreje, kao i izraženi nevoljni pokreti poput padanja ruku, okretanja glave, trešnje ramenima, kuckanja po glabeli, akutne torzijske distonije, te akatizije koja je prema SAS, BARS i ESRS ocjenskim ljestvicama zabilježena nakon monoterapije haloperidolom u 23-25 % bolesnika sa shizofrenijom.

- Raspodjela genotipova u bolesnika oboljelih od shizofrenije za polimorfizme rs6295 i rs878567 u genu *HTR1A*, polimorfizam rs13212041 u genu *HTR1B*, polimorfizme rs6313 i rs6314 u genu *HTR2A*, polimorfizme rs3813929 i rs518147 u genu *HTR2C* i polimorfizam rs1805054 u genu *HTR6* bila je u skladu s Hardy-Weinbergovom ravnotežom (HWE).

- Nije utvrđena značajna razlika u raspodjeli genotipova i alela između bolesnika sa shizofrenijom koji su razvili značajne akutne EPS-ove (broj SAS bodova >3) i onih koji nisu razvili značajne akutne EPS-ove (broj SAS bodova ≤ 3) za niti jedan od istraživanih polimorfizama u genima za 5-HT receptore.

- Kada se usporedio ukupan broj bodova SAS, BARS i ESRS ocjenskih ljestvica između bolesnika, nositelja različitih genotipova ili alela za istraživane genske polimorfizme, utvrđena je značajna povezanost *HTR1B* rs13212041 polimorfizma s ukupnim brojem bodova na BARS ocjenskoj ljestvici. Naime, istraživani bolesnici sa shizofrenijom koji su liječeni haloperidolom, a nositelji su TT genotipa *HTR1B* rs13212041 polimorfizma, imali su značajno viši ukupan broj bodova na BARS ocjenskoj ljestvici u usporedbi s nositeljima CT genotipa i nositeljima C alela.

- Detaljna analiza pojedinačnih točaka ocjenskih ljestvica SAS, BARS i ESRS u bolesnika tretiranih haloperidolom i podijeljenih prema nositeljima različitih genotipova ili alela istraživanih genskih polimorfizama utvrdila je značajnu razliku između nositelja CC i CT genotipova *HTR2A* rs6313 polimorfizma u broju ESRS bodova za akutnu nuspojavu rigidnost, te značajne razlike između nositelja CC i TT genotipova *HTR6* rs1805054 polimorfizma u broju bodova SAS i ESRS ocjenskih ljestvica za akutnu nuspojavu tremor.

- Međutim, najznačajniji pronalazak analize pojedinačnih točaka ocjenskih ljestvica predstavlja rezultat koji pokazuje da su nositelji *HTR1B* TT genotipa imali značajno veći broj bodova na SAS, BARS i ESRS ocjenskim ljestvicama za akatiziju u usporedbi s nositeljima CT genotipa kao i s nositeljima C alela. Nositelji TT genotipa *HTR1B* rs13212041 polimorfizma imali su također značajno veći broj bodova za svaku pojedinačnu točku na BARS ocjenskoj ljestvici koja evaluira akatiziju, u usporedbi s pacijenatima koji su imali CT genotip.

- Primjenom SAS, BARS i ESRS ocjenskih ljestvica također je utvrđen značajno veći broj nositelja TT genotipa *HTR1B* rs13212041 polimorfizma u haloperidolom liječenih ispitanika sa shizofrenijom koji su razvili simptome akatizije, nego u skupini bez simptoma akatizije. Zajedno ovi podaci upućuju na potencijalnu uključenost 5-HT_{1B} receptora u razvoju akatizije u bolesnika liječenih haloperidolom.

- Za polimorfizme rs6295 i rs878567 gena *HTR1A*, polimorfizme rs6314 i rs6313 gena *HTR2A* i polimorfizme rs3813929 i rs518147 gena *HTR2C* napravljena je haplotipska

analiza. Za dva polimorfizma gena *HTR1A*, kao i za dva polimorfizma gena *HTR2C*, ali ne i za 2 polimorfizma gena *HTR2A*, utvrđen je visok stupanj neravnoteže udruživanja (LD), što upućuje da se ovi polimorfizmi vrlo vjerojatno nasljeđuju zajedno u bloku. Stoga je za polimorfizme gena *HTR1A* i polimorfizme gena *HTR2C* dalje istražena učestalost pojedinih haplotipova.

- Frekvencije pojedinih haplotipova gena *HTR1A* nisu bile značajno različite između skupine bolesnika koji jesu i onih koji nisu razvili akutne EPS-ove nakon liječenja haloperidolom, no u slučaju gena *HTR2C* haplotip TG bio je značajno češći u bolesnika bez akutnih EPS-ova nego u bolesnika koji su razvili akutne EPS-ove nakon terapije haloperidolom.

- Dobiveni rezultati u skladu su s podacima iz literature koji upućuju na povezanost polimorfizama *HTR2A* i *HTR2C* gena s akutnim EPS-ovima izazvanim primjenom antipsihotika, no prema objavljenim podacima, ovo je prva studija koja je uputila na moguću ulogu varijanti *HTR1B* i *HTR6* gena.

- Kako polimorfizam rs13212041 utječe na regulaciju ekspresije *HTR1B* gena putem mikroRNA, ovi podaci također upućuju na uključenost epigenetskih mehanizama u 5-HT modulaciji povezanoj s akutnim EPS-ovima izazvanim primjenom antipsihotika.

- Ovakvi farmakogenetski prediktori EPS-ova mogli bi biti od pomoći u boljem odabiru antipsihotičkih lijekova i smanjenju EPS-ova, što može rezultirati boljom suradljivošću i kvalitetom života bolesnika. Za oboljele od shizofrenije za koje haloperidol ostaje važna opcija liječenja, agonisti 5-HT_{1B} receptora mogli bi predstavljati koristan terapijski pristup u liječenju akatizije.

7 POPIS LITERATURE

1. Tandon R, Gaebel W, Barch DM, Bustillo J, Gur RE, Heckers S, et al. Definition and description of schizophrenia in the DSM-5. Schizophr Res. 2013;150(1):3–10.
2. Saha S, Chant D, McGrath J. A Systematic Review of Mortality in Schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 2007;64(10):1123.
3. Bray NJ, Leweke FM, Kapur S, Meyer-Lindenberg A. The neurobiology of schizophrenia: New leads and avenues for treatment. Curr Opin Neurobiol. 2010;20(6):810–5.
4. Tamminga CA, Holcomb HH. Phenotype of schizophrenia: A review and formulation. Mol Psychiatry. 2005;10(1):27–39.
5. Mueser KT, Gingerich S. An Overview of Schizophrenia. In: The complete family guide to Schizophrenia. The Guilford Press; 2006. p. 3–90.
6. Jablensky A. The diagnostic concept of schizophrenia: its history, evolution, and future prospects. Dialogues Clin Neurosci. 2010;12(3):271–87.
7. Berry N, Jobanputra V, Pal H. Molecular genetics of schizophrenia: A critical review. J Psychiatry Neurosci. 2003;28(6):415–29.
8. van Os J, Kapur S. Schizophrenia. www.thelancet.com. 2009;374:635–45.
9. Suzana Vlatković. Neuroimunomodulatorni učinak Toxoplasme Gondii u shizofreniji. Prirodoslovno-matematički fakultet; 2018.
10. Altamura C, Fagiolini A, Galderisi S, Rocca P, Rossi A. Schizophrenia today: epidemiology, diagnosis, course and models of care La schizofrenia oggi: epidemiologia, diagnosi, decorso e modelli di cura. Orig Artic J Psychopathol. 2014;20:223–43.
11. McGrath JJ, Susser ES. New directions in the epidemiology of schizophrenia. Vol. 190, Medical Journal of Australia. 2009. p. 7–9.
12. Jakovljević M. Shizofrenija u teoriji i praksi. Etiopatogeneza i klinička slika. Pro Mente - Zagreb; 2011. 376 p.
13. Silobrčić Radić M, Vrbanec I. Mentalni poremećaji u Republici Hrvatskoj. 2018.
14. Association AP. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder (DSM-5). Vol. Fifth Edit, American Psichiatric Publishing. 2013.
15. Linscott RJ, Allardyce J, van Os J. Seeking verisimilitude in a class: A systematic review of evidence that the criterial clinical symptoms of schizophrenia are taxonic. Schizophr Bull. 2010;36(4):811–29.
16. Heckers S, Barch DM, Bustillo J, Gaebel W, Gur R, Malaspina D, et al. Structure of

the psychotic disorders classification in DSM-5. Schizophr Res. 2013;150(1):11–4.

17. Elsworth JD, Roth RH. Biogenic Amine Neurotransmitters. In: Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P, editors. Kaplan and Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry. Tenth edit. Wolters Kluwer; 2017. p. 254–90.
18. Mihaljević-Peleš A, Šagud M. Antipsihotici u kliničkoj praksi. Medicinska naklada; 2010. 145 p.
19. Kaur T, Cadenhead KS. Treatment implications of the schizophrenia prodrome. Curr Top Behav Neurosci. 2010;4:97–121.
20. Angeles L, Horn JD Van. Reviewing the ketamine model for schizophrenia. J Psychopharmacol. 2014;28(4):287–302.
21. Tandon R, Nasrallah HA, Keshavan MS. Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. Schizophr Res. 2009;110(1–3):1–23.
22. Stefan M, Travis M, Murray RM. An Atlas of Schizophrenia. The Parthenon Publishing Group. 2002.
23. Veague HB. Psychological Disorders: Schizophrenia. Chelsea House Publishers;
24. Noll R. The encyclopedia of schizophrenia and other psychotic disorders. 2007. 409 p.
25. Jenkins JH, Barrett RJ. Schizophrenia, Culture, and Subjectivity. Jenkins JH, Barrett RJ, editors. Cambridge University Press; 2004.
26. Buchanan RW. Persistent negative symptoms in schizophrenia: An overview. Schizophr Bull. 2007;33(4):1013–22.
27. Peralta V, Cuesta MJ, Martinez-Larrea A, Serrano JF. Differentiating Primary From Secondary Negative Symptoms in Schizophrenia: A Study of Neuroleptic- Naive Patients Before and After Treatment. Am J Psychiatry. 2000;9(157):1461–6.
28. Arndt S, Andreasen NC, Flaum M, Miller D, Nopoulos P. A Longitudinal Study of Symptom Dimensions in Schizophrenia. 1995;(52):352–60.
29. Carpenter WT, Heinrichs DW, Wagman AMI. Deficit and Nondeficit Forms of Schizophrenia: The Concept. Psychiatry Interpers Biol Process. :578–83.
30. Carpenter WT, Heinrichs DW, Alphs LD. Treatment of negative symptoms. Schizophr Bull. 1985;11(3):440–52.
31. Kelley ME, Van Kammen DP, Allen DN. Empirical validation of primary negative symptoms: Independence from effects of medication and psychosis. Am J Psychiatry. 1999;156(3):406–11.
32. Castle D, Wykes T. Cognitive dysfunction in schizophrenia. In: Castle D, Wykes T, Copolov D, editors. Pharmacological and Psychosocial Treatments in Schizophrenia.

Martin Dunitz Ltd.; 2004. p. 49–62.

33. Keefe RSE, McEvoy JP. Negative Symptom and Cognitive Deficit Treatment Response in Schizophrenia. American Psychiatric Press, Inc.; 2001.
34. Berenbaum H, Rotter A. The Relationship Between Spontaneous Facial Expressions of Emotion and Voluntary Control of Facial Muscles. J Nonverbal Behav. 1992;16(3):179–90.
35. Berenbaum SA, Abrams R, Rosenberg S, Taylor MA. The nature of emotional blunting: A factor-analytic study. Psychiatry Res. 1987;20(1):57–67.
36. Kring AM, Neale JM. Do schizophrenic patients show a disjunctive relationship among expressive, experiential and psychophysiological components of emotion? J Abnorm Psychol. 1996;105(2):249–57.
37. Berenbaum H, Oltmanns TF. Emotional Experience and Expression in Schizophrenia and Depression. J Abnorm Psychol. 1992;101(1):37–44.
38. Horan WP, Blanchard JJ, Clark LA, Green MF. Affective traits in schizophrenia and schizotypy. Schizophr Bull. 2008;34(5):856–74.
39. Steiner J. Vocal Alternations in Schizophrenic Speech. J Nerv Ment Dis. 1993;181(1):59–62.
40. Gorwood P. Neurobiological mechanisms of anhedonia. Dialogues Clin Neurosci. 2008;10(3):291–9.
41. Corrigan PW, Penn DL. Social Cognition and Schizophrenia. American Psychological Association; 2001. 353 p.
42. Spaulding WD, Storms L, Goodrich V, Sullivan M. Applications of Experimental Psychopathology in Psychiatric Rehabilitation. Schizophr Bull. 1986;12(4):560–77.
43. Liberman RP, Mueser KT, Wallace CJ, Jacobs HE, Eckman T, Massel HK. Training skills in the psychiatrically disabled. Schizophr Bull. 1986;12(4):631–647.
44. Tripathi A, Kar SK, Shukla R. Cognitive deficits in schizophrenia: Understanding the biological correlates and remediation strategies. Clin Psychopharmacol Neurosci. 2018;16(1):7–17.
45. Heinrichs R., Zakzanis K. Neurocognitive deficit in schizophrenia: A quantitative review of the evidence. Neuropsychology. 1998;12(4):426–45.
46. Keefe RSE, Eesley CE, Poe MP. Defining a cognitive function decrement in schizophrenia. Biol Psychiatry. 2005;57(6):688–91.
47. Davidson L, McGlashan TH. The varied outcomes of schizophrenia. Can J Psychiatry. 1997;42(1):34–43.

48. Hyde TM, Nawroz S, Goldberg TE, Bigelow LB, Strong D, Ostrem JL, et al. Is There Cognitive Decline in Schizophrenia - a Cross-Sectional Study. Br J Psychiatry. 1994;164:494–500.
49. Roy M, DeVriendt X. Positive and negative symptoms in schizophrenia: a current overview. Can J Psychiatry. 1994;39(7):407–14.
50. Mcgrath JJ, Feron FP, Burne THJ, Mackay-Sim A. The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia : a review of recent developments. Ann Med. 2003;35:86–93.
51. van de Leemput J, Hess JL, Glatt SJ, Tsuang MT. Genetics of Schizophrenia: Historical Insights and Prevailing Evidence. Vol. 96, Advances in Genetics. Elsevier Ltd; 2016. 99-141 p.
52. Patel KR, Cherian J, Gohil K, Atkinson D. Schizophrenia: overview and treatment options. P T. 2014;39(9):638–45.
53. Multani PK, Saini N, Kaur R, Sharma P. Biomarkers for drugs of abuse and neuropsychiatric disorders: Models and mechanisms. Biomarkers in Toxicology. Elsevier Inc.; 2014. 983-1001 p.
54. Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a Complex Trait. Arch Gen Psychiatry. 2003;60(12):1187.
55. Fatemi SH, Folsom TD. The Neurodevelopmental Hypothesis of Schizophrenia , Revisited. Schizophr Bull. 2009;35(3):528–48.
56. Petronis A. The origin of schizophrenia: Genetic thesis, epigenetic antithesis, and resolving synthesis. Biol Psychiatry. 2004;55(10):965–70.
57. Lewis CM, Levinson DF, Wise LH, DeLisi LE, Straub RE, Hovatta I, et al. Genome Scan Meta-Analysis of Schizophrenia and Bipolar Disorder, Part II: Schizophrenia. Am J Hum Genet. 2003;73(1):34–48.
58. Hakak Y, Walker JR, Li C, Wong WH, Davis KL, Buxbaum J, et al. Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. Proc Natl Acad Sci USA. 2001;98(8):4746–51.
59. Mirnics K, Middleton FA, Marquez A, Lewis DA, Levitt P. Molecular characterization of schizophrenia viewed by microarray analysis of gene expression in prefrontal cortex. Neuron. 2000;28(1):53–67.
60. Chung C, Tallerico T, Seeman P. Schizophrenia hippocampus has elevated expression of chondrex glycoprotein gene. Synapse. 2003;50(1):29–34.
61. Vawter MP, Crook JM, Hyde TM, Kleinman JE, Weinberger DR, Becker KG, et al.

Microarray analysis of gene expression in the prefrontal cortex in schizophrenia: a preliminary study. Schizophr Res. 2002;58:11–20.

62. Hashimoto T, Volk DW, Eggan SM, Mirnics K, Pierri JN, Sun Z, et al. Gene Expression Deficits in a Subclass of GABA Neurons in the Prefrontal Cortex of Subjects with Schizophrenia. J Neurosci. 2003;23(15):6315–26.
63. Marcotte ER, Srivastava LK, Quirion R. cDNA microarray and proteomic approaches in the study of brain diseases: Focus on schizophrenia and Alzheimer's disease. Pharmacol Ther. 2003;100(1):63–74.
64. Hossein Fatemi S, Stary JM, Earle JA, Araghi-Niknam M, Eagan E. GABAergic dysfunction in schizophrenia and mood disorders as reflected by decreased levels of glutamic acid decarboxylase 65 and 67 kDa and Reelin proteins in cerebellum. Schizophr Res. 2005;72(2–3):109–22.
65. Benes FM, Berretta S. GABAergic interneurons: Implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder. Neuropsychopharmacology. 2001;25(1):1–27.
66. Brown AS. The environment and susceptibility to schizophrenia. Prog Neurobiol. 2011;93(1):23–58.
67. Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. Proc Natl Acad Sci. 2008;105(44):17046–9.
68. Kero T. Epigenetske promjene u depresiji , shizofreniji i bipolarnom poremećaju Epigenetske promjene u depresiji , shizofreniji i bipolarnom poremećaju. University of Zagreb, School of Medicine; 2015.
69. Buka SL, Cannon TD, Torrey EF, Yolken RH. Maternal Exposure to Herpes Simplex Virus and Risk of Psychosis Among Adult Offspring. Biol Psychiatry. 2008;63(8):809–15.
70. Babulas V, Factor-Litvak P, Goetz R, Schaefer CA, Brown AS. Prenatal exposure to maternal genital and reproductive infections and adult schizophrenia. Am J Psychiatry. 2006;163(5):927–9.
71. Suvisaari J, Haukka J, Tanskanen A, Hovi T, Lönnqvist J. Association between prenatal exposure to poliovirus infection and adult schizophrenia. Am J Psychiatry. 1999;156(7):1100–2.
72. Brown AS, Cohen P, Harkavy-Friedman J, Babulas V, Malaspina D, Gorman JM, et al. Prenatal rubella, premorbid abnormalities, and adult schizophrenia. Biol Psychiatry. 2001;49(6):473–86.

73. Mednick S, Huttunen MO, Machón RA. Prenatal influenza infections and adult schizophrenia. Schizophr Bull. 1994;20(2):263–7.
74. Brown AS, Lau FS. A Review of the Epidemiology of Schizophrenia. Vol. 23, Handbook of Behavioral Neuroscience. Elsevier; 2016. 17-30 p.
75. Joyce E. Origins of cognitive dysfunction in schizophrenia: Clues from age at onset. Br J Psychiatry. 2005;186(FEB.):93–5.
76. Brown AS, Derkits EJ. Prenatal infection and schizophrenia: A review of epidemiologic and translational studies. Am J Psychiatry. 2010;167(3):261–80.
77. Van Os J, Kenis G, Rutten BPF. The environment and schizophrenia. Nature. 2010;468(7321):203–12.
78. Van Os J, Rutten BPF, Poulton R. Gene-environment interactions in schizophrenia: Review of epidemiological findings and future directions. Schizophr Bull. 2008;34(6):1066–82.
79. Arnsten AFT. Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure and function. Nat Rev Neurosci. 2009;10(6):410–22.
80. Walters JTR, Rujescu D, Franke B, Giegling I, Vásquez AA, Hargreaves A, et al. The Role of the Major Histocompatibility Complex Region in Cognition and Brain Structure: A Schizophrenia GWAS Follow-Up. Am J Psychiatry. 2013;(August):877–85.
81. McAllister AK. Major histocompatibility complex i in brain development and schizophrenia. Biol Psychiatry. 2014;75(4):262–8.
82. Stephan KE, Baldeweg T, Friston KJ. Synaptic Plasticity and Dysconnection in Schizophrenia. Biol Psychiatry. 2006;59(10):929–39.
83. Kannan G, Sawa A, Pletnikov M V. Mouse models of gene-environment interactions in schizophrenia. Neurobiol Dis. 2013;57:5–11.
84. Brown AS, Begg MD, Gravenstein S, Schaefer CA, Wyatt RJ, Bresnahan M, et al. Serologic evidence of prenatal influenza in the etiology of schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 2004;61(8):774–80.
85. Siegel M, Fuerst HT, Guinee VF. Rubella Epidemicity and Embryopathy. 2015;
86. Whitley RJ. Herpes simplex virus infections. In: J S Remington, J O Klein, C B Wilson, & C J Baker (Eds), Infectious diseases of the fetus and newborn infant (6th ed). 2006. p. 425–46.
87. Buka SL, Tsuang MT, Torrey EF, Klebanoff MA, Bernstein D, Yolken RH. Maternal infections and subsequent psychosis among offspring. Arch Gen Psychiatry.

2001;58(11):1032–7.

88. Brown AS, Hooton J, Schaefer CA, Zhang H, Petkova E, Babulas V, et al. Elevated Maternal Interleukin-8 Levels and Risk of Schizophrenia in Adult Offspring. Am J Psychiatry. 2004;161(5):889–95.
89. Buka SL, Tsuang MT, Torrey EF, Klebanoff MA, Wagner RL, Yolken RH. Maternal cytokine levels during pregnancy and adult psychosis. Brain Behav Immun. 2001;15(4):411–20.
90. Schaefer CA, Brown AS, Wyatt RJ, Kline J, Begg MD, Bresnahan MA, et al. Maternal prepregnant body mass and risk of schizophrenia in adult offspring. Schizophr Bull. 2000;26(2):275–86.
91. Cannon M, Jones PB, Murray RM. Obstetric complications andCannon, M., Jones, P.B. & Murray, R.M., 2002. Obstetric complications and schizophrenia: Historical and meta-analytic review. American Journal of Psychiatry, 159(7), pp.1080–1092. schizophrenia: Historical and meta-analytic revi. Am J Psychiatry. 2002;159(7):1080–92.
92. Bresnahan M, Schaefer CA, Brown AS, Susser ES. Prenatal determinants of schizophrenia: What we have learned thus far? Epidemiol Psichiatr Soc. 2005;14(4):194–7.
93. Brown AS, Schaefer CA, Quesenberry CP, Liu L, Babulas VP, Susser ES. Maternal exposure to toxoplasmosis and risk of schizophrenia in adult offspring. Am J Psychiatry. 2005;162(4):767–73.
94. Mortensen PB, Nørgaard-Pedersen B, Waltoft BL, Sørensen TL, Hougaard D, Torrey EF, et al. Toxoplasma gondii as a Risk Factor for Early-Onset Schizophrenia: Analysis of Filter Paper Blood Samples Obtained at Birth. Biol Psychiatry. 2007;61(5):688–93.
95. Blomström Å, Karlsson H, Wicks S, Yang S, Yolken RH, Dalman C. Maternal antibodies to infectious agents and risk for non-affective psychoses in the offspring-a matched case-control study. Schizophr Res. 2012;140(1–3):25–30.
96. Šandrk E, Šagud M, Vlatković S, Sviben M. Toxoplasma gondii u psihijatrijskim poremećajima / Toxoplasma gondii in psychiatric disorders. 2016;44:152–72.
97. Hoek HW, Brown AS, Susser E. The Dutch Famine and schizophrenia spectrum disorders. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol. 1998;33(8):373–9.
98. Susser E, Neugebauer R, Hoek HW, Brown AS, Lin S, Labovitz D, et al. Schizophrenia After Prenatal Famine. Arch Gen Psychiatry. 1996;53:25–31.
99. Brown AS, van OS J, Driessens C, Hoek HW, Susser ES. Further Evidence of Relation

Between Prenatal Famine and Maj... : Obstetrical & Gynecological Survey. 2000;55(9).

100. Penner JD, Brown AS. Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia. Expert Rev Neurother. 2007;7(7):797–805.
101. Picker JD, Coyle JT. Do maternal folate and homocysteine levels play a role in neurodevelopmental processes that increase risk for schizophrenia? Harv Rev Psychiatry. 2005;13(4):197–205.
102. McGrath J, Eyles D, Mowry B, Yolken R, Buka S. Low maternal vitamin D as a risk factor for schizophrenia: A pilot study using banked sera. Schizophr Res. 2003;63(1–2):73–8.
103. Insel B, Schaefer C, McKeague I, Susser E, Brown A. Maternal iron deficiency and the risk of schizophrenia in offspring. Arch Gen Psychiatry. 2008;65(10):1136–44.
104. Sørensen HJ, Nielsen PR, Pedersen CB, Mortensen PB. Association between prepartum maternal iron deficiency and offspring risk of schizophrenia: Population-based cohort study with linkage of danish national registers. Schizophr Bull. 2011;37(5):982–7.
105. Harvey L, Boksa P. Additive effects of maternal iron deficiency and prenatal immune activation on adult behaviors in rat offspring. Brain Behav Immun. 2014;40:27–37.
106. Bao Y, Ibram G, Blaner WS, Quesenberry CP, Shen L, McKeague IW, et al. Low maternal retinol as a risk factor for schizophrenia in adult offspring. Schizophr Res. 2012;137(1–3):159–65.
107. McClellan JM, Susser E, King M-C. Maternal Famine, De Novo Mutations and Schizophrenia. JAMA. 2006;296(5):582–4.
108. Wu L ling, Zhang L, Shao J, Qin Y feng, Yang R wang, Zhao Z yan. Effect of perinatal iron deficiency on myelination and associated behaviors in rat pups. Behav Brain Res. 2008;188(2):263–70.
109. Grigoriadis A, Trulsson M. Excitatory drive of masseter muscle during mastication with dental implants. Sci Rep. 2018;8(1).
110. Zhang R, He J, Zhu S, Zhang H, Wang H, Adilijiang A, et al. Myelination deficit in a phencyclidine-induced neurodevelopmental model of schizophrenia. Brain Res. 2012;1469:136–43.
111. Malaspina D, Harlap S, Fennig S, Heiman D, Nahon D, Feldman D, et al. Advancing paternal age and the risk of schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 2001;58(4):361–7.
112. Brown AS, Schaefer CA, Wyatt RJ, Begg MD, Goetz R, Bresnahan MA, et al. Paternal age and risk of schizophrenia in adult offspring. Am J Psychiatry. 2002;159(9):1528–

33.

113. Dalman C, Allebeck P. Paternal age and schizophrenia: further support for an association. Am J Psychiatry. 2002;420(Table 1):1591–2.
114. Tsuchiya KJ, Takagai S, Kawai M, Matsumoto H, Nakamura K, Minabe Y, et al. Advanced paternal age associated with an elevated risk for schizophrenia in offspring in a Japanese population. Schizophr Res. 2005;76(2–3):337–42.
115. Kong A, Frigge ML, Masson G, Besenbacher S, Sulem P, Magnusson G, et al. Rate of de novo mutations and the importance of father-s age to disease risk. Nature. 2012;488(7412):471–5.
116. Merikangas AK, Segurado R, Cormican P, Heron EA, Anney RJL, Moore S, et al. The phenotypic manifestations of rare CNVs in schizophrenia. Schizophr Res. 2014;158(1–3):255–60.
117. Luo X, Huang L, Han L, Luo Z, Hu F, Tieu R, et al. Systematic prioritization and integrative analysis of copy number variations in schizophrenia reveal key schizophrenia susceptibility genes. Schizophr Bull. 2014;40(6):1285–99.
118. Zammit S, Allebeck P, Andreasson S, Lundberg I, Lewis G. Self reported cannabis use as a risk factor for historical cohort study. Br Med J. 2002;325(November):1–5.
119. Fergusson DM, Horwood LJ, Swain-Campbell NR. Cannabis dependence and psychotic symptoms in young people. Psychol Med. 2003;33(1):15–21.
120. Giordano GN, Ohlsson H, Sundquist K, Sundquist J, Kendler KS. The association between cannabis abuse and subsequent schizophrenia: A Swedish national co-relative control study. Psychol Med. 2015;45(2):407–14.
121. Cantor-Graae E, Selten J-P. Schizophrenia and Migration: A Meta-Analysis and Review. Am J Psychiatry. 2005;162(1):12934–40.
122. Selten J-P, Cantor-Graae E, Kahn RS. Migration and schizophrenia. Curr Opin Psychiatry. 2007;20:111–5.
123. March D, Hatch SL, Morgan C, Kirkbride JB, Bresnahan M, Fearon P, et al. Psychosis and place. Epidemiol Rev. 2008;30(1):84–100.
124. Bondy B, Spellmann I. Pharmacogenetics of antipsychotics: Useful for the clinician? Curr Opin Psychiatry. 2007;20(2):126–30.
125. Sariaslan A, Larsson H, D'Onofrio B, Långström N, Fazel S, Lichtenstein P. Does Population Density and Neighborhood Deprivation Predict Schizophrenia? A Nationwide Swedish Family-Based Study of 2.4 Million Individuals. Schizophr Bull. 2015;41(2):494–502.

126. Giusti-Rodríguez P, Sullivan PF. The genomics of schizophrenia: Update and implications. J Clin Invest. 2013;123(11):4557–63.
127. Morgan C, Fisher H. Environment and schizophrenia: Environmental factors in schizophrenia: Childhood trauma - A critical review. Schizophr Bull. 2007;33(1):3–10.
128. Sheffield JM, Williams LE, Blackford JU, Heckers S. Childhood sexual abuse increases risk of auditory hallucinations in psychotic disorders. Compr Psychiatry. 2013;54(7):1098–104.
129. Owen MJ, Donovan MCO, Thapar A, Craddock N, Owen MJ, Donovan MCO, et al. Neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. Br J Psychiatry. 2011;198:173–5.
130. Piper M, Beneyto M, Burne THJ, Eyles DW, Lewis DA, McGrath JJ. The Neurodevelopmental Hypothesis of Schizophrenia. Convergent Clues from Epidemiology and Neuropathology. Psychiatr Clin North Am. 2012;35(3):571–84.
131. Lawrie SM, Abukmeil SS. Brain abnormality in schizophrenia. Br J Psychiatry. 1998;172:110–20.
132. Wright IC, Rabe-Hesketh S, Woodruff PWR, David AS, Murray RM, Bullmore ET. Meta-Analysis of Regional Brain Volumes in Schizophrenia. 2000;(January).
133. Harrison PJ, Freemantle N, Geddes JR. Meta-analysis of brain weight in schizophrenia. 2003;64:25–34.
134. Nelson MD, Saykin AJ, Flashman LA, Riordan HJ. Hippocampal volume reduction in schizophrenia as assessed by magnetic resonance imaging: a meta-analytic study. Arch Gen Psychiatry. 1998;55:433–40.
135. Heckers S. Neuroimaging Studies of the Hippocampus in Schizophrenia. 2016;(October 2001).
136. Davidson LL, Heinrichs RW. Quantification of frontal and temporal lobe brain-imaging findings in schizophrenia : a meta-analysis. 2003;122:69–87.
137. Konick LC, Friedman L. Meta-Analysis of Thalamic Size in Schizophrenia. 2001;3223(00).
138. Csernansky JG, Wang L, Jones D, Posener JA, Heydebrand G, Miller JP, et al. Hippocampal Deformities in Schizophrenia Characterized by High Dimensional Brain Mapping. Am J Psychiatry. 2002;159:2000–6.
139. Crow TJ, Ball J, Bloom SR, Brown R, Bruton CJ, Colter N, et al. Schizophrenia as an Anomaly of Cerebral Asymmetry Development Schizophreni a. 2015;
140. Luchins DJ, Weinberger DR, Wyatt RJ. Schizophrenia Evidence of a Subgroup With Reversed Cerebral Asymmetry. Arch Gen Psychiatry. 1979;36(12):1309–11.

141. Harrison PJ. The neuropathology of schizophrenia A critical review of the data and their interpretation. Brain. 1999;122:593–624.
142. Stefan M, Travis M, Murray RM. An Atlas of Schizofrenia. The Parthenon Publishing Group; 2002. 98 p.
143. Harrison PJ. Postmortem studies in schizophrenia. Dialogues Clin Neurosci. 2000;2(4):349–57.
144. BD P. Schizophrenia and viral infection during neurodevelopment: a focus on mechanisms. Mol Psychiatry. 2001;6:634–46.
145. Schmidt WJ, Reith ME. Dopamine and Glutamate in Psychiatric Disorders. Humana Press Totowa, New Jersy; 2005. 586 p.
146. Lewis DA, Gonzalez-burgos G. Proceedings of the Human Cerebral Cortex : From Gene to Structure and Function Intrinsic excitatory connections in the prefrontal cortex and the pathophysiology of schizophrenia. Brain Res. 2000;52(5):309–17.
147. Carmichael ST, Price JL. Architectonic subdivision of the orbital and medial prefrontal cortex in the macaque monkey. J Comp Neurol. 1994;346(3):366–402.
148. Goldman-Rakic PS. The physiological approach: Functional architecture of working memory and disordered cognition in schizophrenia. Biol Psychiatry. 1999;46(5):650–61.
149. Goldman-Rakic PS. Circuitry of Primate Prefrontal Cortex and Regulation of Behavior by Representational Memory. Handbook o. Vol. 5, Comprehensive Physiology. 2011.
150. Price JL, Carmichael ST, Drevets WC. The Emotional Motor System. Prog Brain Res. 1996;107:523–36.
151. Price JL, Amaral D. An autoradiographic study of the projections of the central nucleus of the monkey amygdala. J Neurosci. 1981;1(11):1242–9.
152. Ghashghaei HT, Barbas H. Pathways for emotion: Interactions of prefrontal and anterior temporal pathways in the amygdala of the rhesus monkey. Neuroscience. 2002;115(4):1261–79.
153. Watanabe M. The prefrontal cortex as an executive, emotional, and social brain. The Prefrontal Cortex as an Executive, Emotional, and Social Brain. 2017. 1-276 p.
154. Rempel-Clower NL, Barbas H. Topographic organization of connections between the hypothalamus and prefrontal cortex in the rhesus monkey. J Comp Neurol. 1998;398(3):393–419.
155. Tsai G, Coyle JT. Glutamatergic Mechanisms in Schizoprenia. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2002;42:165–79.

156. Gaur N, Gautam S, Gaur M, Sharma P, Dadheech G, Mishra S. The biochemical womb of schizophrenia: A review. Indian J Clin Biochem. 2008;23(4):307–27.
157. Coyle JT, Goff D. The Emerging Role of Glutamate in the Pathophysiology and Treatment of Schizophrenia. Am J Psychiatry. 2011;158(16):1367–77.
158. Abi-Dargham A, Guillin O. Integrating the Neurobiology of Schyzophrenia. International review of Neurobiology Volume 78; 2007. 476 p.
159. Bylund DB, Enna S., Mcewen BS, Hollenberg MD, Snyder SH. The Ionotropic Glutamate Receptors The Receptors Series Editor. Humana Press Totowa, New Jersy; 1997.
160. Collingridge GL, Kehl SJ, McLennan H. Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. J Physiol. 1983;334(1):33–46.
161. Stringer JL, Guyenet PG. Elimination of long-term potentiation in the hippocampus by phencyclidine and ketamine. Brain Res. 1983;258(1):159–64.
162. Henry SA, Lehmann-Masten V, Gasparini F, Geyer MA, Markou A. The mGluR5 antagonist MPEP, but not the mGluR2/3 agonist LY314582, augments PCP effects on prepulse inhibition and locomotor activity. Neuropharmacology. 2002;43(8):1199–209.
163. Kinney GG, Burno M, Campbell UC, Hernandez LM, Rodriguez D, Bristow LJ, et al. Metabotropic Glutamate Subtype 5 Receptors Modulate Locomotor Activity and Sensorimotor Gating in Rodents. J Pharmacol Exp Ther [Internet]. 2003;306(1):116–23. Available from: http://jpet.aspetjournals.org/cgi/doi/10.1124/jpet.103.048702
164. Maeda J, Tetsuya S, Okauchi T, Semba J. Different roles of group I and group II metabotropic glutamate receptors on phencyclidine-induced dopamine release in the rat prefrontal cortex. Neurosci Lett. 2003;336:171–4.
165. Lorrain DS, Baccei CS, Bristow LJ, Anderson JJ, Varney MA. Effects of ketamine and N-methyl-D-aspartate on glutamate and dopamine release in the rat prefrontal cortex: Modulation by a group II selective metabotropic glutamate receptor agonist LY379268. Neuroscience. 2003;117(3):697–706.
166. Moghaddam B, Adams BW. Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. Science (80-). 1998;281(5381):1349–52.
167. Clark M, Johnson BG, Wright RA, Monn JA, Schoepp DD. Effects of the mGlu2/3 receptor agonist LY379268 on motor activity in phencyclidine-sensitized rats. Pharmacol Biochem Behav. 2002;73(2):339–46.

168. Frohlich J, Van Horn JD. Reviewing the ketamine model for schizophrenia. J Psychopharmacol. 2014;28(4):287–302.
169. Harrison PJ, McLaughlin D, Kerwin RW. Decreased hippocampal expression of a glutamate receptor gene in schizophrenia. Lancet. 1991;337(8739):450–2.
170. Tsai G, Passani LA, Slusher BS, Carter R, Baer L, Kleinman JE, et al. Abnormal Excitatory Neurotransmitter Metabolism in Schizophrenic Brains. Arch Gen Psychiatry. 1995;(52):829–36.
171. Simpson MDC, Slater P, Deakin JFW. Comparison of glutamate and gamma-aminobutyric acid uptake binding sites in frontal and temporal lobes in schizophrenia. Biol Psychiatry. 1998;44(6):423–7.
172. Benes FM. Emerging principles of altered neural circuitry in schizophrenia. Brain Res Rev. 2000;31(2–3):251–69.
173. Moore H, West AR, Grace AA. The regulation of forebrain dopamine transmission: Relevance to the pathophysiology and psychopathology of schizophrenia. Biol Psychiatry. 1999;46(1):40–55.
174. Grace A, Bunney B. The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: burst firing. J Neurosci. 1984;4(11):2877–90.
175. Muras S, Grenhoff J, Chouvet G, Gonon FG, Svensson TH. Prefrontal cortex regulates burst firing and transmitter release in rat mesolimbic dopamine neurons studied in vivo. Neurosci Lett. 1993;157:53–6.
176. Farber NB, Newcomer JW, Olney JW. The glutamate synapse in neuropsychiatric disorders: Focus on schizophrenia and Alzheimer's disease. 1998;116:421–37.
177. Carlsson A, Waters N, Holm-Waters S, Tedroff J, Nilsson M, Carlsson ML. Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in Schizophrenia: New Evidence. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2001;41:237–60.
178. Fritschy JM, Brünig I. Formation and plasticity of GABAergic synapses: Physiological mechanisms and pathophysiological implications. Pharmacol Ther. 2003;98(3):299–323.
179. Enna S., Mohler H. The GABA Receptors. Humana Press Totowa, New Jersy; 2007. 329 p.
180. Egebjerg J, Schousboe A, Krogsgaard-Larsen P. Glutamate and GABA Receptors and Transporters Structure, Function and Pharmacology. Taylor & Francis 11. Taylor & Francis; 2002. 448 p.
181. Walton MK, Schaffner AE, Barker JL, Segal M, Blasi J, Otal R, et al. Sodium

channels, GABAA receptors, and glutamate receptors develop sequentially on embryonic rat spinal cord cells. J Neurosci. 1993;13(5):2068–84.

182. Möhler H. Functions of GABAA-Receptors: Pharmacology and Pathophysiology. In: Möhler H, editor. Pharmacology of GABA and Glycine Neurotransmission Handbook of Experimental Pharmacology. Springer, Berlin, Heidelberg; 2001. p. 101–16.
183. Benarroch EE. Clinical Implications of Neuroscience GABA A receptor heterogeneity , function , and implications for epilepsy. Clin Implic Neurosci Res. 2007;2006–8.
184. Herholz K, Heiss WD. Positron emission tomography in clinical neurology. Mol Imaging Biol. 2004;6(4):239–69.
185. Sperk G, Furtinger S, Schwarzer C, Pirker S. GABA and its receptors in epilepsy. Adv Exp Med Biol. 2004;548:92–103.
186. Coulter A. Epilepsy-associated plasticity in y-aminobutyric acid receptor expression, function, and inhibitory synaptic properties. Int Rev Neurobiol. 2001;45:237–52.
187. Malizia AL. What do brain imaging studies tell us about anxiety disorders ? 1999;13(4):372–8.
188. Kunig G, Leenders KL, Sanchez-Pernaute R, Antonini A, Vonto- bel P, Verhagen A, et al. Benzodiazepine receptor binding in Huntington's disease: [11C]flumazenil uptake measured using positron. Ann Neurol. 2000;47:644–648.
189. Lewis DA. GABAergic local circuit neurons and prefrontal cortical dysfunction in schizophrenia. Brain Res Rev. 2000;31:270–6.
190. Nutt DJ, Malizia AL. New insights into the role of the GABA A - benzodiazepine receptor in psychiatric disorder. Br J Psychiatry. 2001;179:390–4.
191. Blum BP, Mann JJ. The GABAergic system in schizophrenia. 2002;159–79.
192. Lewis DA. Chandelier cells : shedding light on altered cortical circuitry in schizophrenia. Mol Psychiatry. 1998;3:468–71.
193. Shen LH, Liao MH, Tseng YC. Recent advances in imaging of dopaminergic neurons for evaluation of neuropsychiatric disorders. J Biomed Biotechnol. 2012;2012.
194. Creese I, Burt DR, Snyder SH. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. Science (80-). 1976;19:481–3.
195. Seeman P, Lee T. Antipsychotic Drugs: Direct Correlation between Clinical Potency and Presynaptic Action on Dopamine Neurons. Science (80-). 1975;188(4194):1217–9.
196. Angrist B, Kammen DP Van. CNS stimulants as tools in the study of schizophrenia. Trends Neurosci. 1984;7:388–90.

197. Lieberman JA, Kane JM, Alvir J. Psychopharmacology provocative tests with psychostimulant drugs in schizophrenia. Psychopharmacology (Berl). 1987;91:415–33.
198. Stahl S. Stahl's Essential Psychopharmacology Neuroscientific Basis and Practical Application. Fourth edi. Cambridge University Press; 2013.
199. Ayano G. Dopamine: Receptors, Functions, Synthesis, Pathways, Locations and Mental Disorders: Review of Literatures. J Ment Disord Treat. 2016;2(2):2–5.
200. Jones I, Liss B, Roeper J. Article Unique Properties of Mesoprefrontal Neurons within a Dual Mesocorticolimbic Dopamine System. 2008;760–73.
201. Phillips AG, Ahn S, Howland JG. Amygdalar control of the mesocorticolimbic dopamine system : parallel pathways to motivated behavior. 2003;27:543–54.
202. Lips AGP. Mesocorticolimbic Dopamine Systems and Reward. :206–15.
203. Nestler EJ, Hyman SE, Malenka RC. Widely Projecting Systems: Monoamines, Acetylcholine, and Orexin. In: Molecular Neuropharmacology A Foundation for Clinical nuroscience. Second edi. 2009. p. 145–80.
204. Christine CW, Aminoff MJ. Clinical Differentiation of Parkinsonian Syndromes : Prognostic and Therapeutic Relevance. Am J Med. 2004;117:412–9.
205. Bjorklund A, Dunnett SB. Dopamine neuron systems in the brain: an update. 2007;30(5).
206. Paulus W, Schomburg ED. Dopamine and the spinal cord in restless legs syndrome : Does spinal cord physiology reveal a basis for augmentation? Sleep Med Rev. 2006;10:185–96.
207. Romanelli RJ, Williams JT, Neve KA. Dopamine Receptor Signaling: Intracellular Pathways to Behavior. In: The Dopamine receptors. 2nd Editio. 2010. p. 137–73.
208. Beaulieu JM, Gainetdinov RR. The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors. Pharmacol Rev. 2011;63(1):182–217.
209. Grandy DK, Miller GM, Li J. " TAARgeting Addiction "— The Alamo Bears Witness to Another Revolution An Overview of the Plenary Symposium of the 2015 Behavior , Biology and Chemistry Conference. 2016;159:9–16.
210. Beaulieu J, Espinoza S, Gainetdinov RR. Dopamine receptors – IUPHAR Review 13. Br J Pharmacol. 2014;172:1–23.
211. Svenningsson P, Nishi A, Fisone G, Girault J-A, Nairn AC, Greengard P. DARPP-32: An Integrator of Neurotransmission. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2004;44(1):269–96.
212. Beaulieu J-M. Beyond cAMP: the regulation of Akt and GSK3 by dopamine receptors.

Front Mol Neurosci. 2011;4(November):1–13.

213. Beaulieu JM, Sotnikova TD, Marion S, Lefkowitz RJ, Gainetdinov RR, Caron MG. An Akt/β-arrestin 2/PP2A signaling complex mediates dopaminergic neurotransmission and behavior. Cell. 2005;122(2):261–73.
214. Nikhil UM, Snyder JC, Jacobsen JPR, Peterson SM, Caron MG. Deletion of GSK3β in D2R-expressing neurons reveals distinct roles for β-arrestin signaling in antipsychotic and lithium action. Proc Natl Acad Sci. 2012;109(50):20732–7.
215. Hasbi A, Fan T, Alijaniaram M, Nguyen T, Perreault ML, Dowd BFO, et al. Calcium signaling cascade links dopamine D1–D2 receptor heteromer to striatal BDNF production and neuronal growth. Proc Natl Acad Sci. 2009;106(50):21377–82.
216. Kisilevsky AE, Mulligan SJ, Altier C, Iftinca MC, Varela D, Tai C, et al. D1 Receptors Physically Interact with N-Type Calcium Channels to Regulate Channel Distribution and Dendritic Calcium Entry. Neuron. 2008;58(4):557–70.
217. Kisilevsky AE, Zamponi GW. D2 dopamine receptors interact directly with N-type calcium channels and regulate channel surface expression levels. Channels. 2008;2(4):269–77.
218. Hazelwood LA, Free RB, Cabrera DM, Skinbjerg M, Sibley DR. Reciprocal modulation of function between the D1 and D 2 dopamine receptors and the Na+,K+-ATPase. J Biol Chem. 2008;283(52):36441–53.
219. Blom H, Rönnlund D, Scott L, Spicarova Z, Rantanen V, Widengren J, et al. Nearest neighbor analysis of dopamine D1 receptors and Na +-K +-ATPases in dendritic spines dissected by STED microscopy. Microsc Res Tech. 2012;75(2):220–8.
220. Medvedev IO, Ramsey AJ, Masoud ST, Bermejo MK, Urs N, Sotnikova TD, et al. D1 Dopamine Receptor Coupling to PLC Regulates Forward Locomotion in Mice. J Neurosci. 2013;33(46):18125–33.
221. Dell'Anno MT, Pallottino S, Fisone G. MGlu5R promotes glutamate AMPA receptor phosphorylation via activation of PKA/DARPP-32 signaling in striatopallidal medium spiny neurons. Neuropharmacology. 2013;66:179–86.
222. Hobson BD, O'Neill CE, Levis SC, Monteggia LM, Neve RL, Self DW, et al. Adenosine A1and dopamine D1receptor regulation of AMPA receptor phosphorylation and cocaine-seeking behavior. Neuropsychopharmacology. 2013;38(10):1974–83.
223. Song RS, Massenburg B, Wenderski W, Jayaraman V, Thompson L, Neves SR. ERK regulation of phosphodiesterase 4 enhances dopamine-stimulated AMPA receptor membrane insertion. Proc Natl Acad Sci. 2013;110(38):15437–42.

224. Flores-Barrera E, Thomases DR, Heng LJ, Cass DK, Caballero A, Tseng KY. Late adolescent expression of GluN2B transmission in the prefrontal cortex is input-specific and requires postsynaptic protein kinase A and D1 dopamine receptor signaling. Biol Psychiatry. 2014;75(6):508–16.
225. Murphy JA, Stein IS, Lau CG, Peixoto RT, Aman TK, Kaneko N, et al. Phosphorylation of Ser1166 on GluN2B by PKA Is Critical to Synaptic NMDA Receptor Function and Ca 2+ Signaling in Spines. J Neurosci. 2014;34(3):869–79.
226. Jenkins MA, Traynelis SF. PKC phosphorylates GluA1-Ser831 to enhance AMPA receptor conductance. Channels. 2012;6(1).
227. Jenkins MA, Wells G, Bachman J, Snyder JP, Jenkins A, Huganir RL, et al. Regulation of GluA1 -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionic Acid Receptor Function by Protein Kinase C at Serine-818 and Threonine-840. Mol Pharmacol. 2014;85(4):618–29.
228. Li YC, Gao WJ. GSK-3β activity and hyperdopamine-dependent behaviors. Neurosci Biobehav Rev. 2011;35(3):645–54.
229. Li YC, Xi D, Roman J, Huang Y-Q, Gao W-J. Activation of Glycogen Synthase Kinase-3 Is Required for Hyperdopamine and D2 Receptor-Mediated Inhibition of Synaptic NMDA Receptor Function in the Rat Prefrontal Cortex. J Neurosci. 2009;29(49):15551–63.
230. Li YC, Wang MJ, Gao WJ. Hyperdopaminergic modulation of inhibitory transmission is dependent on GSK-3β signaling-mediated trafficking of GABAAreceptors. Vol. 122, Journal of Neurochemistry. Elsevier Inc.; 2012. 308-320 p.
231. Madras BK. History of the discovery of the antipsychotic dopamine D2 receptor: A basis for the dopamine hypothesis of schizophrenia. J Hist Neurosci. 2013;22(1):62–78.
232. Brisch R, Saniotis A, Wolf R, Bielau H, Bernstein HG, Steiner J, et al. The role of dopamine in schizophrenia from a neurobiological and evolutionary perspective: Old fashioned, but still in vogue. Front Psychiatry. 2014;5:1–11.
233. Donnell PO, Qrace AA. Dysfunctions in Multiple Interrelated Systems as the Neurobiological Bases of Schizophrenic Symptom Clusters. Schizophr Bull. 1998;24(2):267–83.
234. Simpson EH, Winiger V, Biezonski DK, Haq I, Kandel ER, Kellendonk C. Selective Overexpression of Dopamine D3 Receptors in the Striatum Disrupts Motivation but not Cognition. Biol Psychiatry. 2013;21–3.
235. da Silva Alves F, Figee M, von Amelsvoort T, Veltman D, Lieuwe de H. The revised

dopamine hypothesis of schizophrenia: Evidence from pharmacological MRI studies with atypical antipsychotic medication. Psychopharmacol Bull. 2008;41:123–32.

236. Pogarell O, Koch W, Karch S, Dehning S, Muller N, Tatsch K, et al. Dopaminergic neurotransmission in patients with schizophrenia in relation to positive and negative symptoms. Pharmacopsychiatry. 2012;45(1):36–41.
237. Brunelin J, Fecteau S, Suaud-Chagny M-F. Abnormal striatal dopamine transmission in schizophrenia. Curr Med Chem. 2013;20(3):397–404.
238. Miyake N, Thompson J, Skinbjerg M, Abi-Dargham A. Presynaptic Dopamine in Schizophrenia. CNS Neurosci Ther. 2011;17(2):104–9.
239. Takahashi H, Higuchi M, Suhara T. The Role of Extrastriatal Dopamine D2 Receptors in Schizophrenia. Biol Psychiatry. 2006;59(10):919–28.
240. Goldman-Rakic PS, Castner SA, Svensson TH, Siever LJ, Williams G V. Targeting the dopamine D1 receptor in schizophrenia: Insights for cognitive dysfunction. Psychopharmacology (Berl). 2004;174(1):3–16.
241. Durstewitz D, Seamans JK. The Dual-State Theory of Prefrontal Cortex Dopamine Function with Relevance to Catechol-O-Methyltransferase Genotypes and Schizophrenia. Biol Psychiatry. 2008;64(9):739–49.
242. Arnsten AFT. The neurobiology of thought: The groundbreaking discoveries of patricia Goldman-Rakic 1937-2003. Cereb Cortex. 2013;23(10):2269–81.
243. Tanaka S. Dopaminergic control of working memory and its relevance to schizophrenia: A circuit dynamics perspective. Neuroscience. 2006;139(1):153–71.
244. Cropley VL, Fujita M, Innis RB, Nathan PJ. Molecular Imaging of the Dopaminergic System and its Association with Human Cognitive Function. Biol Psychiatry. 2006;59(10):898–907.
245. Bilder RM, Volavka J, Lachman HM, Grace AA. The catechol-O-methyltransferase polymorphism: Relations to the tonic-phasic dopamine hypothesis and neuropsychiatric phenotypes. Neuropsychopharmacology. 2004;29(11):1943–61.
246. Lodge DJ, Grace AA. Aberrant Hippocampal Activity Underlies the Dopamine Dysregulation in an Animal Model of Schizophrenia. J Neurosci. 2007;27(42):11424–30.
247. Abi-dargham A, Laruelle M. Mechanisms of action of second generation antipsychotic drugs in schizophrenia : insights from brain imaging studies. 2005;20:15–27.
248. Sershen H, Balla A, Aspromonte JM, Xie S, Cooper TB, Javitt DC. Characterization of interactions between phencyclidine and amphetamine in rodent prefrontal cortex and

striatum : Implications in NMDA / glycine-site-mediated dopaminergic dysregulation and dopamine transporter function. Neurochem Int. 2008;52:119–29.

249. Gao W, Krimer LS, Goldman-rakic PS. Presynaptic regulation of recurrent excitation by D1 receptors in prefrontal circuits. 2001;98(1):295–300.
250. Seutin V. Dopaminergic neurones : much more than dopamine? Br J Pharmacol. 2005;146:167–9.
251. Ohuoha DC, Hyde TM, Kleinman JE. Psychopharmacology The role of serotonin in schizophrenia : an overview of the nomenclature , distribution and alterations of serotonin receptors in the central nervous system. 1993;5–15.
252. Ormsbee HS, Fondacaro JD. Action of Serotonin on the Gastrointestilnal tract. Proc Soc Exp Biol Med. 1985;338(178):333–8.
253. Lavoie B, Lian JB, Mawe GM. Regulation of Bone Metabolism by Serotonin. Adv Exp Med Biol. 2017;1033:35–46.
254. Aghajanian GK, Marek GJ. Serotonin model of schizophrenia : emerging role of glutamate. 2000;(October 1999):302–12.
255. Laruelle M, Aghajanian K, Krystal J. The Role of Serotonin the Pathophysiology and Treatment of Schizophrenia. J Neuropsychiatr. 1996;1–17.
256. Charnay Y, Leger L. Brain serotonergic circuitries. Dialogues Clin Neurosci. 2010;12:471–87.
257. Mück-Šeler D. Serotonin. Period Biol. 2011;113(1):29–41.
258. Ruddell RG, Mann DA, Ramm GA. The function of serotonin within the liver. J Hepatol. 2008;48(4):666–75.
259. Aghajanian G, Liu R. Serotonin (5-Hydroxytryptamine ; 5-HT): CNS Pathways and Neurophysiology. 2009;715–22.
260. Muller CP, Jacobs B. Handbook of the Behavioral Neurobiology of Serotonin. 1st Editio. Academic Press; 2009.
261. Veenstra-VanderWeele J, Anderson GM, Cook EH. Pharmacogenetics and the serotonin system: Initial studies and future directions. Eur J Pharmacol. 2000;410(2–3):165–81.
262. Siegel GJ, Albers RW, Brady S, Price D. Basic Neurochemistry Molecular, Cellular and Medical Aspects. 7th editio. Elsevier Academic Press; 2006.
263. Raote I, Bhattacharya A, Panicker MM. Serotonin 2A (5-HT2A) Receptor Function: Ligand-Dependent Mechanisms and Pathways. In: Chattopadhyay A, editor. Serotonin Receptors in Neurobiology. Boca Raton; 2007.

264. Miner L, Backstrom J, E S-B, Sesack S. Ultrastructural Localizaion Of Sserotonin 2A Receptors in the Middle Layers of the Rat Prelimbic Prefrontal Cortex. Neuroscience. 2003;116:107–17.
265. Xu T, Pandey SC. Cellular localization of serotonin 2A (5HT2A) receptors in the rat brain. Brain Res Bull. 2000;51(6):499–505.
266. Kasper S, Lerman MN, Mcquade RD, Saha A, Carson WH, Ali M, et al. Efficacy and safety of aripiprazole vs . haloperidol for long-term maintenance treatment following acute relapse of schizophrenia. 2003;325–37.
267. Gray JA, Roth BL. Paradoxical trafficking and regulation of 5-HT 2A receptors by agonists and antagonists. 2001;56(5):441–51.
268. Meltzer HY, McGurk SR. The Effects of Clozapine , Risperidone , and Olanzapine on Cognitive Function in Schizophrenia. Schizophr Bull. 1999;25(2):233–56.
269. Thompson A., Lummis SCR. 5-HT3 receptors. Curr Pharm Des. 2006;12(28):3615–30.
270. Eggers AE. A serotonin hypothesis of schizophrenia. Med Hypotheses. 2013;80(6):791–4.
271. Eggers AE. Extending David Horrobin's membrane phospholipid theory of schizophrenia: Overactivity of cytosolic phospholipase A2 in the brain is caused by overdrive of coupled serotonergic 5HT2A/2C receptors in response to stress. Med Hypotheses. 2012;79(6):740–3.
272. Hervé D, Pickel VM, Joh TH, Beaudet A. Serotonin axon terminals in the ventral tegmental area of the rat: fine structure and synaptic input to dopaminergic neurons. Brain Res. 1987;435(1–2):71–83.
273. Nedergaard S, Bolam JP, Greenfield SA. Facilitation of a dendritic calcium conductance by 5-hydroxitryptamine in the substancia nigra. Nature. 1988;333:174–7.
274. Van Bockstaele EJ, Cestari DM, Pickel VM. Synaptic structure and connectivity of serotonin terminals in the ventral tegmental area: potential sites for modulation of mesolimbic dopamine neurons. Brain Res. 1994;647(2):307–22.
275. Broderick PA, Phelix CF. I. Serotonin (5-HT) within dopamine reward circuits signals open-field behavior. II. Basis for 5-HT-DA interaction in cocaine dysfunctional behavior. Neurosci Biobehav Rev. 1997;21(3):227–60.
276. Cameron DL, Wessendorf MW, Williams JT. A subset of ventral tegmental area neurons is inhibited by dopamine, 5-hydroxytryptamine and opioids. Neuroscience. 1997;77(1):155–66.
277. Gervais J, Rouillard C. Modulates Dopaminergic Neurons in the Ventral Tegmental

Area and Substantia Nigra. Synapse. 2000;291(February 1999):281–91.

278. Wright DE, Seroogy KB, Lundgren KH, Davis BM, Jennes L. Comparative Localization of Subtype mRNAs in Rat Brain. Situ. 1995;357373.
279. Wedzony K, Chocyk A, Kolasivwicz W, Mackowiak M. Glutamatergic neurons of rat medial prefrontal cortex innervating the ventral tegmental area are positive of serotonin 5-HT1A receptor protein. J Physiol Pharmacol. 2007;58(4):611–24.
280. Arborelius L, Chergui K, Murase S, Nomikos GG, Hk BB, Chouvet G, et al. Archives of Pharmacology differentially affect the activity of midbrain dopamine neurons. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 1993;347:353–62.
281. Diaz-Mataix L. Involvement of 5-HT1A Receptors in Prefrontal Cortex in the Modulation of Dopaminergic Activity: Role in Atypical Antipsychotic Action. J Neurosci. 2005;25(47):10831–43.
282. Doherty MD, Pickel VM. Ultrastructural localization of the serotonin 2A receptor in dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. Brain Res. 2000;864(2):176–85.
283. Ikemoto K, Nishimura A, Okado N, Mikuni M, Nishi K, Nagatsu I. Human midbrain dopamine neurons express serotonin 2A receptor: An immunohistochemical demonstration. Brain Res. 2000;853(2):377–80.
284. Nocjar C, Roth BL, Pehek E. Localization of 5-HT2A receptors on dopamine cells in subnuclei of the midbrain A10 cell group. Neuroscience. 2002;111(1):163–76.
285. Gobert A, Millan MJ. Serotonin (5-HT)(2A) receptor activation enhances dialysate levels of dopamine and noradrenaline, but not 5-HT, in the frontal cortex of freely-moving rats. Neuropharmacology. 1999;38(2):315–7.
286. Ichikawa J, Dai J, Meltzer HY. DOI, a 5-HT2A/2Creceptor agonist, attenuates clozapine-induced cortical dopamine release. Brain Res. 2001;907(1–2):151–5.
287. Pehek EA, Mcfarlane HG, Maguschak K, Price B, Pluto CP. M100,907, a selective 5-HT antagonist, attenuates dopamine release 2A in the Rat Medial Prefrontal Cortex. Brain Res. 2001;888:51–9.
288. Di Giovanni G, Di Matteo V, Di Mascio M, Esposito E. Preferential modulation of mesolimbic vs. Nigrostriatal dopaminergic function by serotonin(20C/2B) receptor agonists: A combined in vivo electrophysiological and microdialysis study. Synapse. 2000;35(1):53–61.
289. Di Matteo V, Di Giovanni G, Di Mascio M, Esposito E. Biochemical and electrophysiological evidence that RO 60-0175 inhibits mesolimbic dopaminergic function through serotonin(2C) receptors. Brain Res. 2000;865(1):85–90.

290. Peyron C, Pierre-Herve L, Kitahama K, Fort P, Hermann DM, Jouvet M. Origin of the dopaminergic innervation of the rat dorsal raphe nucleus. Neuroreport. 1995;6:2527–31.
291. Martín-Ruiz R, Ugedo L, Honrubia MA, Mengod G, Artigas F. Control of serotonergic neurons in rat brain by dopaminergic receptors outside the dorsal raphe nucleus. J Neurochem. 2001;77(3):762–75.
292. Kane JM. Pharmacologic Treatment of Schizophrenia: A Review. Soc Biol Psychiatry. 1999;1396–408.
293. Kim DH, Stahl SM. Antipsychotic Drug Development. In: Swerdlow NR, editor. Behavioral Neurobiology of Schizophrenia and Its Treatment, Current Topics in Behavioral Neurosciences. Springer, Berlin, Heidelberg; 2010. p. 123–39.
294. Barch DM. Pharmacological Strategies for Enhancing Cognition in Schizophrenia. Behav Neurobiol Schizophr Its Treat Curr Top Behav Neurosci. 2010;15:43–96.
295. Buchanan RW, Freedman R, Javitt DC, Abi-Dargham A, Lieberman JA. Recent advances in the development of novel pharmacological agents for the treatment of cognitive impairments in schizophrenia. Schizophr Bull. 2007;33(5):1120–30.
296. Miyamoto S, Miyake N, Jarskog LF, Fleischhacker WW, Lieberman JA. Pharmacological treatment of schizophrenia: A critical review of the pharmacology and clinical effects of current and future therapeutic agents. Mol Psychiatry. 2012;17(12):1206–27.
297. Zhang J, Malhotra AK. Pharmacogenetics and Antipsychotics: Therapeutic Efficacy and Side Effects Prediction. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2011;7:9–37.
298. Mailman RB, Murthy V. Third generation antipsychotic drugs: partial agonism or receptor functional selectivity? Curr Pharm Des. 2010;16(5):488–501.
299. Rauly-Lestienne I, Boutet-Robinet E, Ailhaud MC, Newman-Tancredi A, Cussac D. Differential profile of typical, atypical and third generation antipsychotics at human 5-HT7a receptors coupled to adenylyl cyclase: Detection of agonist and inverse agonist properties. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2007;376(1–2):93–105.
300. Lally J, MacCabe JH. Antipsychotic medication in schizophrenia: A review. Br Med Bull. 2015;114(1):169–79.
301. Mamo DC, Kapur S. Antipsychotic Drugs. In: Offermanns S, Rosenthal W, editors. Encyclopedia of Molecular Pharmacology, 2nd Edition. 2008. p. 1344.
302. Kapur S, Zipursky R, Remington G. Relationship between dopamine D (2) occupancy , clinical response , and side effects: A Double-Blind PET Study of First-Episode

Schizophrenia. Am J Psychiatry. 2000;157(4):514–20.

303. Tamminga CA. Treatment mechanisms: traditional and new antipsychotic drugs. Dialogues Clin Neurosci. 2000;2(3):281–6.
304. Miyamoto S, Duncan GE, Marx CE, Lieberman JA. Treatments for schizophrenia: A critical review of pharmacology and mechanisms of action of antipsychotic drugs. Mol Psychiatry. 2005;10(1):79–104.
305. Strange PG. Antipsychotic drug action: antagonism, inverse agonism or partial agonism. Trends Pharmacol Sci. 2008;29(6):314–21.
306. Benson KL. Schizophrenia and Its Associated Sleep Disorders. Therapy in Sleep Medicine. Elsevier; 2012. 705-713 p.
307. Kudo S, Ishizaki T. Pharmacokinetics of haloperidol. An update. Clin Pharmacokinet. 1999;37(6):435–56.
308. Peprah K, Zhu XY, Eyunni SVK, Setola V, Roth BL, Y. AS. Multi-receptor drug design: Haloperidol as a scaffold for the design and synthesis of atypical antipsychotic agents Kwakye. Bioorg Med Chem. 2012;20(3):1291–7.
309. Fang J, Baker GB, Silverstone PH, Coutts RT. Involvement of CYP3A4 and CYP2D6 in the metabolism of haloperidol. Cell Mol Neurobiol. 1997;17(2):227–33.
310. Sažetak opisa svojstava lijeka za lijek Haldol 10 mg tablete. Agencija za lijekove i Medicinske proizvode (HALMED), odobreno 22.05.2020.
311. Haddad PM, Das A, Keyhani S, Chaudhry IB. Antipsychotic drugs and extrapyramidal side effects in first episode psychosis: A systematic review of head–head comparisons. J Psychopharmacol. 2012;26:15–26.
312. Bateman DN, Rawlins MD, Simpson JM. Extrapyramidal reactions to prochlorperazine and haloperidol in the united kingdom. Qjm. 1986;59(3):549–56.
313. Addonizio G, Alexopoulos GS. Drug-induced dystonia in young and elderly patients. Am J Psychiatry. 1988;145(7):869–71.
314. Schillevoort I, Boer A De, Herings RMC, Roos RAC. Risk of Extrapyramidal Syndromes with Haloperidol, Risperidone, or Olanzapine Igor. Ann Pharmacother. 2001;35:1517–22.
315. Kurz M, Hummer M, Oberbauer H, Fleischhacker WW. Extrapyramidal side effects of clozapine and haloperidol. Psychopharmacology (Berl). 1995;118(1):52–6.
316. Alvarez G, Skowronski G. Remember the side effects of haloperidol: a case report. Crit Care …. 2003;2031:266–9.
317. Shanmugam VG, Ramesh A, Thulaseedharan A, Kulirankal KG. Haloperidol, Mental

Retardation, Extrapyramidal Symptoms: The Tricky Trio Vijay. J case reports. 2014;4(2):304–7.

318. Kapur S, Seeman P. Does fast dissociation from the dopamine D2 receptor explain the action of atypical antipsychotics?: A new hypothesis. Am J Psychiatry. 2001;158(3):360–9.
319. Di Giovanni G, Strac DS, Sole M, Unzeta M, Tipton KF, Mück-Šeler D, et al. Monoaminergic and histaminergic strategies and treatments in brain diseases. Front Neurosci. 2016;10(11):1–28.
320. Zakon o Lijekovima. Croatia: Hrvatski Sabor; 2013 p. 95.
321. Živković M. Povezanost genskih polimorfizama DRD2 i COMT u oboljelih od shizofrenije s terapijskim odgovorom na antipsihotike i ekstrapiramidnim nuspojavama. University of Zagreb; 2013.
322. DeLong MR, Wichmann T. Circuits and Circuit Disorders of the Basal Ganglia. Neurol Rev. 2007;64:20–4.
323. Gittis AH, Kreitzer AC. Striatal Microcircuitry and Movement Disorders Aryn. Trends Neurosci. 2012;35(9):557–64.
324. Šarac H. Farmakognetika ekstrapitamidalnih sindroma. In: Nada Božina, editor. Farmakogenomika u personaliziraoj medicini, priručnik. Medicinska naklada; 2019. p. 171–90.
325. Herrero MT, Barcia C, Navarro JM. Functional anatomy of thalamus and basal ganglia. Child's Nerv Syst. 2002;18(8):386–404.
326. Graybiel AM. The Basal Ganglia. Curr Biol. 2000;10(14):509–11.
327. Lencz T, Malhotra AK. Pharmacogenetics of antipsychotic-induced side effects. Dialogues Clin Neurosci. 2009;11:405–15.
328. Mihaljević-Peleš A, Šagud M. Psihofarmakologija. In: Gregurek R i sur, editor. Suradna i konzultativna psihijatrija. 2006. p. 193–225.
329. Jesić MP, Jesić A, Filipović JB, Zivanović O. Extrapyramidal syndromes caused by antipsychotics. Med Pregl. 2012;65(11–12):521–6.
330. Shirzadi AA, Ghaemi SN. Side effects of atypical antipsychotics: Extrapyramidal symptoms and the metabolic syndrome. Harv Rev Psychiatry. 2006;14(3):152–64.
331. McCuistion L, Vuljoin-DiMaggio K, Winton MB, Yeager. JJ. Antipsychotics and Anxiolytics. In: Pharmacology: A Patient-Centered Nursing Process Approach. 9th ed. Elsevier; 2018. p. 1850.
332. Bonsi P, Cuomo D, Ding J, Sciamanna G, Ulrich S, Tscherter A, et al. Endogenous

serotonin excites striatal cholinergic interneurons via the activation of 5-HT 2C, 5-HT6, and 5-HT7 serotonin receptors: Implications for extrapyramidal side effects of serotonin reuptake inhibitors. Neuropsychopharmacology. 2007;32(8):1840–54.

333. Lane RM. SSRI-Induced extrapyramidal side-effects and akathisia: implications for treatment. J Psychopharmacol. 1998;12(2):192–214.
334. Millan MJ. Improving the treatment of schizophrenia: focus on serotonin (5-HT)(1A) receptors. J Pharmacol Exp Ther. 2000;295(3):853–61.
335. Wadenberg M. Serotonergic mechanism in neuroleptic-induced catalepsy in the rat. Neurosci Biobehav Rev. 1996;20(2):325–39.
336. Espejo EF, Gil E. Single restraint stress sensitizes acute chewing movements induced by haloperidol, but not if the 5-HT(1A) agonist 8-OH-DPAT is given prior to stress. Brain Res. 1997;755(2):351–5.
337. Casey DE. Neuroleptic drug-induced extrapyramidal syndromes and tardive dyskinesia. Schizophr Res. 1991;4(2):109–20.
338. Gunes A, Scordo MG, Jaanson P, Dahl ML. Serotonin and dopamine receptor gene polymorphisms and the risk of extrapyramidal side effects in perphenazine-treated schizophrenic patients. Psychopharmacology (Berl). 2007;190(4):479–84.
339. Novick D, Haro JM, Bertsch J, Haddad PM. Incidence of extrapyramidal symptoms and tardive dyskinesia in schizophrenia: Thirty-six-month results from the european schizophrenia outpatient health outcomes study. J Clin Psychopharmacol. 2010;30(5):531–40.
340. Mrazek DA. Psychiatric pharmacogenomic testing in clinical practice. Dialogues Clin Neurosci. 2010;12(1):69–76.
341. Mensink KA, Highsmith WE. Basic Concepts in Human Molecular Genetics. In: Coleman WB, Tsongalis GJ, editors. Essential Concepts in Molecular Pathology. Academic Press; 2010. p. 65–76.
342. Pickar D. Pharmacogenomics of psychiatric drug treatment. Psychiatr Clin North Am. 2003;26(2):303–21.
343. Al-Koofee DAF, Shaden MHM. Genetic polymorphisms. In: Çalışkan M, editor. The Recent Topics in Genetic Polymorphisms increase. IntechOpen; 2019. p. 1–15.
344. Mrazek DA. Psychiatric pharmacogenomics. Focus (Madison). 2006;6(3):339–43.
345. Buckley PF, Miller DD, Foster A. Pharmacogenetics of Schizophrenia: Bringing ‘Order to Chaos’ in the Psychopharmacology of Schizophrenia? In: Schwab M, Kaschka WP, Spina E, editors. Pharmacogenomics in Psychiatry. 25th ed. S. Karger

AG; 2010.

346. Jovanović N, Božina N, Lovrić M, Medved V, Jakovljević M. The role of CYP2D6 and ABCB1 pharmacogenetics in drug-naïve patients with first-episode schizophrenia treated with risperidone. Eur J Clin Pharmacol. 2010;66(11):1109–17.
347. Roh HK, Kim CE, Chung WG, Park CS, Svensson JO, Bertilsson L. Risperidone metabolism in relation to CYP2D6*10 allele in Korean schizophrenic patients. Eur J Clin Pharmacol. 2001;57:671–5.
348. Riedel M, Schwarz MJ, Strassnig M, Spellmann I, Müller-Arends A, Weber K, et al. Risperidone plasma levels, clinical response and side-effects. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2005;255(4):261–8.
349. Brockmoller J, Kirchheiner J, Schmider J, Walter S, Sachse C, Muller- Oerlinghausen, B. Roots I. The impact of the CYP2D6 polymorphism on haloperidol pharmacokinetics and on the outcome of haloperidol treatment. Clin Pharmacol Ther. 2002;72:438–452.
350. Mihaljević-Peleš A, Šagud M, Božina N, Živković M, Jovanović N. Pharmacogenetics and antipsychotics in the light of personalized pharmacotherapy. Psychiatr Danub. 2010;22(2):335–7.
351. Van Der Weide K, Van Der Weide J. The influence of the CYP3A4∗22 polymorphism and CYP2D6 polymorphisms on serum concentrations of aripiprazole, haloperidol, pimozide, and risperidone in psychiatric patients. J Clin Psychopharmacol. 2015;35(3):228–36.
352. Crescenti A, Mas S, Gassó P, Parellada E, Bernardo M, Lafuente A. CYP2D6*3, *4, *5 and *6 polymorphisms and antipsychotic-induced extrapyramidal side-effects in patients receiving antipsychotic therapy. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2008;35(7):807–11.
353. Balbuena HR, Teruel MB, González Pal S, Bordado del Toro L, Camayd Viera I, Monzón Benítez G, et al. CYP2D6 genetic polymorphism and genetic ancestry on extrapyramidal side-effects of long-term treatment with classical antipsychotics in cuban patients with schizophrenia. Clin iIvestigation. 2018;9:1–3.
354. Ito T, Yamamoto K, Ohsawa F, Otsuka I, Hishimoto A, Sora I, et al. Association of CYP2D6 polymorphisms and extrapyramidal symptoms in schizophrenia patients receiving risperidone: a retrospective study. J Pharm Heal Care Sci. 2018;4(1):1–6.
355. Kapitany T, Meszaros K, Lenzinger E, Schindler SD, Barnas C, Fuchs K, et al. Genetic polymorphisms for drug metabolism (CYP2D6) and tardive dyskinesia in schizophrenia. Vol. 32, Schizophrenia Research. 1998. p. 101–6.

356. Ohmori O, Suzuki T, Kojima H, Shinkai T, Terao T, Mita T, et al. Tardive dyskinesia and debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D6) genotype in Japanese schizophrenics. Vol. 32, Schizophrenia Research. 1998. p. 107–13.
357. Basile VS, Özdemir V, Masellis M, Walker ML, Meltzer HY, Lieberman JA, et al. A functional polymorphism of the cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) gene: Association with tardive dyskinesia in schizophrenia. Mol Psychiatry. 2000;5(4):410–7.
358. Schulze TG, Schumacher J, Muller DJ, Krauss H, Alfter D, Maroldt A, et al. Lack of association between a functional polymorphism of the cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) gene and tardive dyskinesia in schizophrenia. Am J Med Genet - Neuropsychiatr Genet. 2001;105(6):498–501.
359. Persico AM. Genotypic association between dopamine transporter gene polymorphisms and schizophrenia. Am J Med Genet - Neuropsychiatr Genet. 1997;74(1):53–7.
360. Bilic P, Jukic V, Vilibic M, Savic A, Bozina N. Treatment-resistant schizophrenia and DAT and SERT polymorphisms. Gene. 2014;543(1):125–32.
361. Speca DJ, Rabbee N, Chihara D, Speed TP, Peterson AS. A genetic screen for behavioral mutations that perturb dopaminergic homeostasis in mice. Genes, Brain Behav. 2006;5(1):19–28.
362. Meda SA, Jagannathan K, Gelernter J, Calhoun VD, Liu J, Stevens MC, et al. A pilot multivariate parallel ICA study to investigate differential linkage between neural networks and genetic profiles in schizophrenia. Neuroimage. 2010;53(3):1007–15.
363. Zilles D, Meyer J, Schneider-Axmann T, Ekawardhani S, Gruber E, Falkai P, et al. Genetic polymorphisms of 5-HTT and DAT but not COMT differentially affect verbal and visuospatial working memory functioning. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2012;262(8):667–76.
364. Molero P, Ortuño F, Zalacain M, Patiño-García A. Clinical involvement of catechol-O-methyltransferase polymorphisms in schizophrenia spectrum disorders: Influence on the severity of psychotic symptoms and on the response to neuroleptic treatment. Pharmacogenomics J. 2007;7:418–26.
365. Lafuente A, Bernardo M, Mas S, Crescenti A, Aparici M, Gassó P, et al. Dopamine transporter (DAT) genotype (VNTR) and phenotype in extrapyramidal symptoms induced by antipsychotics. Schizophr Res. 2007;90(1–3):115–22.
366. Güzey C, Scordo MG, Spina E, Landsem VM, Spigset O. Antipsychotic-induced extrapyramidal symptoms in patients with schizophrenia: Associations with dopamine and serotonin receptor and transporter polymorphisms. Eur J Clin Pharmacol.

2007;63(3):233–41.

367. Gassó P, Mas S, Crescenti A, Álvarez S, Parramon G, Garcia-Rizo C, et al. Lack of association between antipsychotic-induced extrapyramidal symptoms and polymorphisms in dopamine metabolism and transport genes. Psychiatry Res. 2010;175(1–2):173–5.
368. Zivković M, Mihaljević-Peles A, Bozina N, Sagud M, Nikolac-Perkovic M, Vuksan-Cusa B, et al. The association study of polymorphisms in DAT, DRD2, and COMT genes and acute extrapyramidal adverse effects in male schizophrenic patients treated with haloperidol. J Clin Psychopharmacol. 2013;33(5):593–9.
369. Xu M, Xing Q, Li S, Zheng Y, Wu S, Gao R, et al. Pharacogenetic effects of dopamine transporter gene polymorphisms on response to chlorpromazine and clozapine and on extrapyramidal syndrome in schizophrenia. Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry. 2010;34(6):1026–32.
370. Srivastava V, Varma PG, Prasad S, Semwal P, Nimgaonkar VL, Lerer B, et al. Genetic susceptibility to tardive dyskinesia among schizophrenia subjects: IV. Role of dopaminergic pathway gene polymorphisms. Pharmacogenet Genomics. 2006;16(2):111–7.
371. Matsumoto C, Shinkai T, Hori H, Ohmori O, Nakamura J. Polymorphisms of dopamine degradation enzyme (COMT and MAO) genes and tardive dyskinesia in patients with schizophrenia. Psychiatry Res. 2004;127(1–2):1–7.
372. Herken H, Erdal ME, Böke Ö, Savaş HA. Tardive dyskinesia is not associated with the polymorphisms of 5-HT2A receptor gene, serotonin transporter gene and catechol-o-methyltransferase gene. Eur Psychiatry. 2003;18(2):77–81.
373. Lai IC, Wang YC, Lin CC, Bai YM, Liao DL, Yu SC, et al. Negative association between Catechol-O-methyltransferase (COMT) gene Val158Met polymorphism and persistent tardive dyskinesia in schizophrenia. J Neural Transm. 2005;112(8):1107–13.
374. Tybura P, Trześniowska-Drukała B, Bienkowski P, Beszlej A, Frydecka D, Mierzejewski P, et al. Pharmacogenetics of adverse events in schizophrenia treatment: Comparison study of ziprasidone, olanzapine and perazine. Psychiatry Res. 2014;219(2):261–7.
375. Lafuente A, Bernardo M, Mas S, Crescenti A, Aparici M, Gasso P, et al. Polymorphism of dopamine D2 receptor (TaqIA, TaqIB, and-141C Ins/Del) and dopamine degradation enzyme (COMT G158A, A-278G) genes and extrapyramidal symptoms in patients with schizophrenia and bipolar disorders. Psychiatry Res. 2008;161(2):131–41.

376. Zhang JP, Lencz T, Malhotra AK. D2 receptor genetic variation and clinical response to antipsychotic drug treatment: A meta-analysis. Am J Psychiatry. 2010;167(7):763–72.
377. Ma L, Zhang X, Xiang Q, Zhou S, Zhao N, Xie Q, et al. Association between dopamine receptor gene polymorphisms and effects of risperidone treatment: A systematic review and meta-analysis. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2019;124(1):94–104.
378. de Matos LPR, Santana CVN, Souza RP. Meta-analysis of dopamine receptor D1 rs4532 polymorphism and susceptibility to antipsychotic treatment response. Psychiatry Res. 2015;229(1–2):586–8.
379. Terzic T, Kastelic M, Dolžan V, Plesnicar BK. Genetic polymorphisms in dopaminergic system and treatment-resistant schizophrenia. Psychiatr Danub. 2016;28(2):127–31.
380. Mas S, Gassó P, Lafuente A, Bioque M, Lobo A, Gonzàlez-Pinto A, et al. Pharmacogenetic study of antipsychotic induced acute extrapyramidal symptoms in a first episode psychosis cohort: Role of dopamine, serotonin and glutamate candidate genes. Pharmacogenomics J. 2016;16(5):439–45.
381. Hedenmalm K, Güzey C, Dahl ML, Tue QY, Spigset O. Risk factors for extrapyramidal symptoms during treatment with selective serotonin reuptake inhibitors, including cytochrome P-450 enzyme, and serotonin and dopamine transporter and receptor polymorphisms. J Clin Psychopharmacol. 2006;26(2):192–7.
382. Nakazono Y, Abe H, Murakami H, Koyabu N, Isaka Y, Nemoto Y, et al. Association between neuroleptic drug-induced extrapyramidal symptoms and dopamine D2-receptor polymorphisms in Japanese schizophrenic patients. Int J Clin Pharmacol Ther. 2005;43(4):163–71.
383. Dolžan V, Plesničar BK, Serretti A, Mandelli L, Zalar B, Koprivšek J, et al. Polymorphisms in dopamine receptor DRD1 and DRD2 genes and psychopathological and extrapyramidal symptoms in patients on long-term antipsychotic treatment. Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet. 2007;144(6):809–15.
384. Murphy DL, Lerner A, Rudnick G, Lesch K-P. Serotonin Transporter: Gene, Genetic Disorders, and Pharmacogenetics. Mol Interv. 2004;4(2):109–23.
385. Fan JB, Sklar P. Meta-analysis reveals association between serotonin transporter gene STin2 VNTR polymorphism and schizophrenia. Mol Psychiatry. 2005;10(10):928–38.
386. Kaiser R, Tremblay PB, Schmider J, Henneken M, Dettling M, Müller-Oerlinghausen

B, et al. Serotonin transporter polymorphisms: No association with response to antipsychotic treatment, but associations with the schizoparanoid and subtypes of schizophrenia. Mol Psychiatry. 2001;6(2):179–85.

387. Lee HY, Kim DJ, Lee HJ, Choi JE, Kim YK. No association of serotonin transporter polymorphism (5-HTTVNTR and 5-HTTLPR) with characteristics and treatment response to atypical antipsychotic agents in schizophrenic patients. Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry. 2009;33(2):276–80.
388. Kohlrausch FB, Salatino-Oliveira A, Gama CS, Lobato MI, Belmonte-de-Abreu P, Hutz MH. Influence of serotonin transporter gene polymorphisms on clozapine response in Brazilian schizophrenics. J Psychiatr Res. 2010;44(16):1158–62.
389. Arranz MJ, Bolonna AA, Munro J, Curtis CJ, Collier DA, Kerwin RW. The serotonin transporter and clozapine response. Mol Psychiatry. 2000;5(2):124–5.
390. Dolžan V, Serretti A, Mandelli L, Koprivšek J, Kastelic M, Plesničar BK. Acute antipyschotic efficacy and side effects in schizophrenia: Association with serotonin transporter promoter genotypes. Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry. 2008;32(6):1562–6.
391. Segman RH, Goltser T, Heresco-Levy U, Finkel B, Shalem R, Schlafman M, et al. Association of dopaminergic and serotonergic genes with tardive dyskinesia in patients with chronic schizophrenia. Pharmacogenomics J. 2003;3(5):277–83.
392. Arranz MJ, De Leon J. Pharmacogenetics and pharmacogenomics of schizophrenia: A review of last decade of research. Mol Psychiatry. 2007;12(8):707–47.
393. Hoyer D. Serotonin receptors nomenclature. In: The Serotonin System: History, Neuropharmacology, and Pathology. Elsevier Inc.; 2019. p. 63–93.
394. Arranz MJ, Munro J, Sham P, Kirov G, Murray RM, Collier DA, et al. Meta-analysis of Studies on Genetic Variation in 5-HT2A Receptors and Clozapine Response. Schizophr Res. 1998;32(2):93–9.
395. Arranz MJ, Munro J, Owen MJ, Spurlock G, Sham PC, Zhao J, et al. Evidence for association between polymorphisms in the promoter and coding regions of the 5-HT(2A) receptor gene and response to clozapine. Mol Psychiatry. 1998;3(1):61–6.
396. Arranz M, Collier D, Sodhi M, Ball D, Roberts G, Price J, et al. Association Between Clozapine Response and Allelic Variation in 5-HT2A Receptor Gene. Lancet. 1995;346(8970):281–2.
397. Nöthen MM, Rietschel M, Erdmann J, Oberländer H, Möller HJ, Nober D, et al. Genetic Variation of the 5-HT2A Receptor and Response to Clozapine. Lancet.

1995;346(8979):908–9.

398. Malhotra AK, Goldman D, Ozaki N, Breier A, Buchanan R, Pickar D. Lack of Association Between Polymorphisms in the 5-HT2A Receptor Gene and the Antipsychotic Response to Clozapine. Am J Psychiatry. 1996;153(8):1092–4.
399. Myers RL, Airey DC, Manier DH, Shelton RC, Sanders-Bush E. Polymorphisms in the Regulatory Region of the Human Serotonin 5-HT2A Receptor Gene (HTR2A) Influence Gene Expression. Biol Psychiatry. 2007;61(2):167–73.
400. Sodhi MS, Arranz MJ, Curtis D, Ball DM, Sham P, Roberts GW, et al. Association Between Clozapine Response and Allelic Variation in the 5-HT2C Receptor Gene. Neuroreport. 1995;7(1):169–72.
401. Malhotra AK, Goldman D, Ozaki N, Rooney W, Clifton A, Buchanan RW, et al. Clozapine Response and the 5HT2C Cys23Ser Polymorphism. Neuroreport. 1996;7(13):2100–2.
402. Li J, Hashimoto H, Meltzer HY. Association of serotonin2C receptor polymorphisms with antipsychotic drug response in schizophrenia. Front Psychiatry. 2019;10(2):1–11.
403. Yu YWY, Tsai SJ, Lin CH, Hsu CP, Yang KH, Hong CJ. Serotonin-6 receptor variant (C267T) and clinical response to clozapine. Neuroreport. 1999;10(6):1231–3.
404. Lane HY, Lin CC, Huang CH, Chang YC, Hsu SK, Chang WH. Risperidone response and 5-HT6 receptor gene variance: Genetic association analysis with adjustment for nongenetic confounders. Schizophr Res. 2004;67(1):63–70.
405. Masellis M, Basile VS, Meltzer HY, Lieberman JA, Sevy S, Goldman DA, et al. Lack of association between the T→C 267 serotonin 5-HT6 receptor gene (HTR6) polymorphism and prediction of response to clozapine in schizophrenia. Schizophr Res. 2001;47(1):49–58.
406. Takekita Y, Fabbri C, Kato M, Nonen S, Sakai S, Sunada N, et al. HTR1A gene polymorphisms and 5-HT1A receptor partial agonist antipsychotics efficacy in Schizophrenia. J Clin Psychopharmacol. 2015;35(3):220–7.
407. Lemonde S, Turecki G, Bakish D, Du L, Hrdina PD, Bown CD, et al. Impaired repression at a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism associated with major depression and suicide. J Neurosci. 2003;23(25):8788–99.
408. Reynolds GP, Arranz B, Templeman LA, Fertuzinhos S, San L. Effect of 5-HT1A receptor gene polymorphism on negative and depressive symptom response to antipsychotic treatment of drug-naive psychotic patients. Am J Psychiatry. 2006;163(10):1826–9.

409. Takekita Y, Fabbri C, Kato M, Koshikawa Y, Tajika A, Kinoshita T, et al. HTR1A polymorphisms and clinical efficacy of antipsychotic drug treatment in schizophrenia: A meta-analysis. Int J Neuropsychopharmacol. 2016;19(5):1–10.
410. Jensen KP, Covault J, Conner TS, Tennen H, Kranzler HR, Furneaux HM. A common polymorphism in serotonin receptor 1B mRNA moderates regulation by miR-96 and associates with aggressive human behaviors. Mol Psychiatry. 2009;14(4):381–9.
411. Strac DS, Erjavec GN, Perkovic MN, Nenadic-Sviglin K, Konjevod M, Grubor M, et al. The association between HTR1B gene rs13212041 polymorphism and onset of alcohol abuse. Neuropsychiatr Dis Treat. 2019;15:339–47.
412. Xia X, Ding M, Xuan JF, Xing JX, Pang H, Wang BJ, et al. Polymorphisms in the human serotonin receptor 1B (HTR1B) gene are associated with schizophrenia: A case control study. BMC Psychiatry. 2018;18(1):1–11.
413. Alex KD, Pehek EA. Pharmacologic mechanisms of serotonergic regulation of dopamine neurotransmission. Pharmacol Ther. 2007;113(2):296–320.
414. O'Neill MF, Heron-Maxwell CL, Shaw G. 5-HT2 receptor antagonism reduces hyperactivity induced by amphetamine, cocaine, and MK-801 but not D1 agonist C-APB. Pharmacol Biochem Behav. 1999;63(2):237–43.
415. Lucas G, Bonhomme N, Deurwaerdère P De, Le M. Reverse Haloperidol-Induced Catalepsy in Rats Independently of Striatal Dopamine Release. 1997;57–63.
416. Navailles S, De Deurwaerdère P. Presynaptic control of serotonin on striatal dopamine function. Psychopharmacology (Berl). 2011;213(2–3):213–42.
417. Reynolds GP, Templeman LA, Zhang ZJ. The role of 5-HT2C receptor polymorphisms in the pharmacogenetics of antipsychotic drug treatment. Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry. 2005;29(6):1021–8.
418. Al Hadithy AFY, Ivanova SA, Pechlivanoglou P, Semke A, Fedorenko O, Kornetova E, et al. Tardive dyskinesia and DRD3, HTR2A and HTR2C gene polymorphisms in Russian psychiatric inpatients from Siberia. Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry [Internet]. 2009;33(3):475–81. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.01.010
419. Knol W, Van Marum RJ, Jansen PAF, Strengman E, Al Hadithy AFY, Wilffert B, et al. Genetic variation and the risk of haloperidol-related parkinsonism in elderly patients: A candidate gene approach. J Clin Psychopharmacol. 2013;33(3):405–10.
420. Ivanova SA, Loonen AJ, Bakker PR, Freidin MB, ter Woerds NJ, Al Hadithy AF, et al. Likelihood of mechanistic roles for dopaminergic, serotonergic and glutamatergic

receptors in tardive dyskinesia: A comparison of genetic variants in two independent patient populations. SAGE Open Med. 2016;4:1–9.

421. Polesskaya OO, Sokolov BP. Differential expression of the “C” and “T” alleles of the 5-HT2A receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. J Neurosci Res. 2002;67(6):812–22.
422. Basile VS, Ozdemir V, Masellis M, Meltzer HY, Lieberman JA, Potkin SG, et al. Lack of association between serotonin-2A receptor gene (HTR2A) polymorphisms and tardive dyskinesia in schizophrenia. Mol Psychiatry. 2001;6(2):230–4.
423. Lerer B, Segman RH, Tan EC, Basile VS, Cavallaro R, Aschauer HN, et al. Combined analysis of 635 patients confirms an age-related association of the serotonin 2A receptor gene with tardive dyskinesia and specificity for the non-orofacial subtype. Int J Neuropsychopharmacol. 2005;8(3):411–25.
424. Zhang ZJ, Zhang XB, Sha WW, Zhang XB, Reynolds GP. Association of a polymorphism in the promoter region of the serotonin 5-HT2C receptor gene with tardive dyskinesia in patients with schizophrenia. Mol Psychiatry. 2002;7:670–1.
425. Messina D, Annesi G, Serra P, Nicoletti G, Pasqua A, Annesi F, et al. Association of the 5-HT6 receptor gene polymorphism C267T with Parkinson’s disease. Neurology. 2002;58(5):828–9.
426. Ohmori O, Shinkai T, Hori H, Nakamura J. Genetic association analysis of 5-HT6 receptor gene polymorphism (267C/T) with tardive dyskinesia. Psychiatry Res. 2002;110(2):97–102.
427. Åberg K, Adkins DE, Bukszár J, Webb BT, Caroff SN, Miller DD, et al. Genomewide Association Study of Movement-Related Adverse Antipsychotic Effects. Biol Psychiatry [Internet]. 2010;67(3):279–82. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.08.036
428. Alkelai A, Greenbaum L, Rigbi A, Kanyas K, Lerer B. Genome-wide association study of antipsychotic-induced parkinsonism severity among schizophrenia patients. Psychopharmacology (Berl). 2009;206(3):491–9.
429. Drago A, Crisafulli C, Serretti A. The genetics of antipsychotic induced tremors: A genome-wide pathway analysis on the STEP-BD SCP sample. Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet. 2011;156(8):975–86.
430. Association AP. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder (DSM-IV). Frances A, editor. Vol. Fourth Edi. American Psychiatric Association Washington DC; 1994.

431. Kay SR, Fiszbein A, Opler L. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. Schizophr Bull. 1987;13:261–76.
432. Simpson G., Angus JW. A rating scale for extrapyramidal side effects. Acta Psychiatr Scand. 1970;(212):11–9.
433. Barnes TRE. A rating scale for drug-induced akathisia. Br J Psychiatry. 1989;(154):672–6.
434. Chouinard G, Ross-Chouinard A, Annable L, Jones B. The extrapyramidal symptom rating scale. Can J Neurol Sci. 1980;(7):233–44.
435. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 1988;16(3):1215.
436. Biosystems A. TaqMan SNP Genotyping Assays Protocol (PN 4332856D).
437. Grubor M, Zivkovic M, Sagud M, Perkovic MN, Mihaljevic-Peles A, Pivac N, et al. Polymorphisms and Extrapyramidal Side E ff ects in Haloperidol-Treated Patients with Schizophrenia. Int J Mol Sci Artic. 2020;21(2345).
438. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: Analysis and visualization of LD and haplotype maps. Bioinformatics. 2005;21(2):263–5.
439. Dold M, Samara MT, Li C, Tardy M, Leucht S. Haloperidol versus first-generation antipsychotics for the treatment of schizophrenia and other psychotic disorders. Cochrane Database Syst Rev. 2015;(1).
440. Uchida H, Takeuchi H, Graff-Guerrero A, Suzuki T, Watanabe K, Mamo DC. Dopamine D2 receptor occupancy and clinical effects: A systematic review and pooled analysis. J Clin Psychopharmacol. 2011;31(4):497–502.
441. World Health Organization Model List of Essential Medicines, 21st List. Geneva; 2019.
442. Leucht S, Cipriani A, Spineli L, Mavridis D, Örey D, Richter F, et al. Comparative efficacy and tolerability of 15 antipsychotic drugs in schizophrenia: A multiple-treatments meta-analysis. Lancet [Internet]. 2013;382(9896):951–62. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60733-3
443. D'Souza RS, Hooten WM. Extrapyramidal Symptoms (EPS). In: StatPearls. StatPearls Publishing; 2019.
444. Givens CJ. Adverse Drug Reactions Associated with Antipsychotics, Antidepressants, Mood Stabilizers, and Stimulants. Nurs Clin North Am. 2016;51(2):309–21.
445. Malhotra A, Litman R, Pickar D. Adverse effects of antipsychotic drugs. Drug Saf. 1993;9:429–36.

446. Kapur S, Seeman P. Antipsychotic agents differ in how fast they come off the dopamine D2 receptors. Implications for atypical antipsychotic action. J Psychiatry Neurosci. 2000;25(2):161–6.
447. Farde L, Nordstrom AL, Wiesel FA, Pauli S, Halldin C, Sedvall G. Positron emission tomographic analysis of central D1 and D2 dopamine receptor occupancy in patients treated with classical neuroleptics and clozapine. Relation to extrapyramidal side effects. Arch Gen Psychiatry. 1992;49:538–44.
448. De Deurwaerdere P, Di Giovanni G. Serotonergic modulation of the activity of mesencephalic dopaminergic systems: Therapeutic implications. Prog Neurobiol. 2017;151:175–236.
449. Di Giovanni G, De Deurwaerdere P. New therapeutic opportunities for 5-HT2C receptor ligands in neuropsychiatric disorders. Pharmacol Ther. 2016;157:125–62.
450. Caroff SN, Mann SC, Campbell EC, Sullivan KA. Movement disorders associated with atypical antipsychotic drugs. J Clin Psychiatry. 2002;63:12–9.
451. Lewis R. Typical and atypical antipsychotics in adolescent schizophrenia: Efficacy, tolerability, and differential sensitivity to extrapyramidal symptoms. Can J Psychiatry. 1998;43(6):596–604.
452. McIntyre RS, Konarski JZ. Tolerability profiles of atypical antipsychotics in the treatment of bipolar disorders. J Clin Psychiatry. 2005;66:28–36.
453. Muscettola G, Barbato G, Pampallona S, Casiello M, Bollini P. Extrapyramidal syndromes in neuroleptic-treated patients: prevalence, risk factors, and association with tardive dyskinesia. J Clin Psychopharmacol. 1999;19:203–8.
454. Kaiser R, Tremblay PB, Klufmöller F, Roots I, Brockmöller J. Relationship between adverse effects of antipsychotic treatment and dopamine D2 receptor polymorphisms in patients with schizophrenia. Mol Psychiatry. 2002;7(7):695–705.
455. Ananth J, Samra D, Kolivakis T. Amelioration of drug-induced parkinsonism by ECT. Am J Psychiatry. 1979;136(8):1094.
456. Leucht S, Burkart T, Henderson J, Maj M, Sartorius N. Physical illness and schizophrenia: a Review of the Evidence. Cambridge: Cambridge University Press; 2007.
457. Newcomer J. Antipsychotic medications: metabolic and cardiovascular risk. J Clin Psychiatry. 2007;68(4):8–13.
458. Mitchell AJ, Vancampfort D, Sweers K, Van Winkel R, Yu W, De Hert M. Prevalence of metabolic syndrome and metabolic abnormalities in schizophrenia and related

disorders-a systematic review and meta-analysis. Schizophr Bull. 2013;39(2):306–18.

459. Kim E, Howes OD, Veronese M, Beck K, Seo S, Park JW, et al. Presynaptic Dopamine Capacity in Patients with Treatment-Resistant Schizophrenia Taking Clozapine: An [18F]DOPA PET Study. Neuropsychopharmacology. 2017;42(4):941–50.
460. Henderson DC, Vincenzi B, Andrea N V., Ulloa M, Copeland PM. Pathophysiological mechanisms of increased cardiometabolic risk in people with schizophrenia and other severe mental illnesses. The Lancet Psychiatry. 2015;2(5):452–64.
461. Marwaha S, Johnson S. Schizophrenia and employment: A review. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol. 2004;39(5):337–49.
462. Üçok A, Gorwood P, Karadayi G. Employment and its relationship with functionality and quality of life in patients with schizophrenia: EGOFORS Study. Eur Psychiatry. 2012;27(6):422–5.
463. Novick D, Haro JM, Suarez D, Lambert M, Lépine JP, Naber D. Symptomatic remission in previously untreated patients with schizophrenia: 2-Year results from the SOHO study. Psychopharmacology (Berl). 2007;191(4):1015–22.
464. Turner N, Browne S, Clarke M, Gervin M, Larkin C, Waddington JL, et al. Employment status amongst those with psychosis at first presentation. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol. 2009;44(10):863–9.
465. Waghorn G, Chant D, White P, Whiteford H. Delineating disability, labour force participation and employment restrictions among persons with psychosis. Acta Psychiatr Scand. 2004;109(4):279–88.
466. Dickerson FB, Stallings C, Origoni A, Boronow JJ, Sullens A, Yolken R. Predictors of occupational status six months after hospitalization in persons with a recent onset of psychosis. Psychiatry Res. 2008;160(3):278–84.
467. Hofer A, Rettenbacher MA, Widschwendter CG, Kemmler G, Hummer M, Fleischhacker WW. Correlates of subjective and functional outcomes in outpatient clinic attendees with schizophrenia and schizoaffective disorder. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2006;256(4):246–55.
468. Goldberg RW, Lucksted A, McNary S, Gold JM, Dixon L, Lehman A. Correlates of long-term unemployment among inner-city adults with serious and persistent mental illness. Psychiatr Serv. 2001;52(1):101–3.
469. Rüesch P, Meyer PC. Beschäftigungslage von Schizophrenie- und Affektkranken. 2002;
470. Evert H, Harvey C, Trauer T, Herrman H. The relationship between social networks

and occupational and self-care functioning in people with psychosis. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol. 2003;38(4):180–8.

471. Thornicroft G, Brohan E, Rose D, Sartorius N, Leese M. Global pattern of experienced and anticipated discrimination against people with schizophrenia: a cross-sectional survey. Lancet. 2009;373(9661):408–15.
472. Dickerson F, Stallings CR, E. Origoni A, Vaughan C, Khushalani S, Schroeder J, et al. Cigarette Smoking Among Persons With Schizophrenia or Bipolar Disorder in Routine Clinical Settings, 1999–2011. Psychiatr Serv. 2012;64(1).
473. Šagud M, Mihaljević-Peleš A, Mück-Šeler D, Pivac N, Vuksan-Ćusa, B., Brataljenović T, Jakovljević M. Smoking and schizophrenia. Psychiatr Danub. 2009;21(3):371–5.
474. Chen J, Bacanu SA, Yu H, Zhao Z, Jia P, Kendler KS, et al. Genetic Relationship between Schizophrenia and Nicotine Dependence. Sci Rep. 2016;6(25671):1–10.
475. Rabinowitz J, Bromet EJ, Lavelle J, Carlson G, Kovasznay B, Schwartz JE. Prevalence and severity of substance use disorders and onset of psychosis in first-admission psychotic patients. Psychol Med. 1998;28(6):1411–9.
476. Van Mastrigt S, Addington J, Addington D. Substance misuse at presentation to an early psychosis program. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol. 2004;39(1):69–72.
477. Hambrecht M, Häfner H. Cannabis, Vulnerability, and the Onset of Schizophrenia: An Epidemiological Perspective. Aust New Zeal J Psychiatry. 2000;34(3):468–75.
478. Cantwell R, Brewin J, Glazebrook C, Dalkin T, Fox R, Medley I, et al. Prevalence of substance misuse in first-episode psychosis. Br J Psychiatry. 1999;174(2):150–3.
479. Sevy S, Robinson DG, Holloway S, Alvir JM, Woerner MG, Bilder R, et al. Correlates of substance misuse in patients with first-episode schizophrenia and schizoaffective disorder. Acta Psychiatr Scand. 2001;104(5):367–74.
480. Czobor P, Van Dorn RA, Citrome L, Kahn RS, Fleischhacker WW, Volavka J. Treatment adherence in schizophrenia: A patient-level meta-analysis of combined CATIE and EUFEST studies. Eur Neuropsychopharmacol. 2015;25(8):1158–66.
481. Caldwell CB, Gottesman II. Schizophrenics kill themselves too: A review of risk factors for suicide. Schizophr Bull. 1990;16(4):571–89.
482. Palmer BA, Pankratz VS, Bostwick JM. The lifetime risk of suicide in schizophrenia: A reexamination. Arch Gen Psychiatry. 2005;62(3):247–53.
483. Funahashi T, Ibuki Y, Domon Y, Nishimura T, Akehashi D, Sugiura H. A clinical study on suicide among schizophrenics. Psychiatry Clin Neurosci. 2000;54(2):173–9.
484. Qin P, Nordentoft M. Suicide Risk in Relation to Psychiatric Hospitalization. Arch Gen

Psychiatry. 2005;62(4):427.

485. Modestin J, Zarro I, Waldvogel D. A study of suicide in schizophrenic in-patients. Br J Psychiatry. 1992;160(MAR.):398–401.
486. Pinikahana J, Happell B, Keks NA. Suicide and schizophrenia: A review of literature for the decade (1990-1999) and implications for mental health nursing. Issues Ment Health Nurs. 2003;24(1):27–43.
487. Breier A, Strauss J. The role of social relationships in the recovery from psychotic disorders. Am J Psychiatry. 1984;141(8):949–55.
488. Joiner TE. Why people die by suicide. Cambridge. Harvard University Press; 2005.
489. Nock MK, Borges G, Bromet EJ, Cha CB, Kessler RC, Lee S. Suicide and suicidal behavior. Epidemiol Rev. 2008;30(1):133–54.
490. Essock SM, Hargreaves WA, Dohm FA, Goethe J, Carver L, Hipshman L. Clozapine eligibility among state hospital patients. Schizophr Bull. 1996;22(1):15–25.
491. Teo C, Borlido C, Kennedy JL, De Luca V. The role of ethnicity in treatment refractory schizophrenia. Compr Psychiatry. 2013;54(2):167–72.
492. Hasan A, Falkai P, Wobrock T, Lieberman J, Glenthoj B, Gattaz WF, et al. World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) Guidelines for Biological Treatment of Schizophrenia, Part 1: Update 2012 on the acute treatment of schizophrenia and the management of treatment resistance. World J Biol Psychiatry. 2012;13(5):318–78.
493. Kasten M, Brüggemann N, König IR, Doerry K, Steinlechner S, Wenzel L, et al. Risk for antipsychotic-induced extrapyramidal symptoms: Influence of family history and genetic susceptibility. Psychopharmacology (Berl). 2011;214(3):729–36.
494. Pierre JM. Extrapyramidal Symptoms with Atypical Antipsychotics. Drug Saf. 2005;28(3):191–208.
495. Crescenti A, Mas S, Gasso P, Parellada E, Bernardo M, Lafuente A. CYP2D6*3, *4, *5 and *6 polymorphisms and antipsychotic-induced extrapyramidal side-effects in patients receiving antipsychotic therapy. Clin Exper Pharmacol Physiol. 2008;35:807–811.
496. Gunes A, Dahl ML, Spina E, Scordo M. Further evidence for the association between 5-HT2C receptor gene polymorphisms and extrapyramidal side effects in male schizophrenic patients. Eur J Clin Pharmacol. 2008;64:477–482.
497. Al-Janabi I, Arranz MJ, Blakemore AI, Saiz PA, Susce MT, Glasser PE, et al. Association study of serotonergic gene variants with antipsychotic-induced adverse

reactions. Psychiatr Genet. 2009;19:305–311.

498. Miller CH, Fleischhacker WW. Managing antipsychotic-induced acute and chronic akathisia. Drug Saf. 2000;22:73–81.
499. Cem Atbasoglu EC, Schultz SK, Andreasen N. The relationship of akathisia with suicidality and depersonalization among patients with schizophrenia. J Neuropsychiatry Clin Neurosci. 2001;13:336–341.
500. Dayalu P, Chou KL. Antipsychotic-induced extrapyramidal symptoms and their management. Expert Opin Pharmacother. 2008;9:1451–1462.
501. Salem H, Nagpal C, Pigott T, Teixeira AL. Revisiting Antipsychotic-induced Akathisia: Current Issues and Prospective Challenges. Curr Neuropharmacol. 2017;15:789–98.
502. Caroff SN, Mann SC, Campbell EC, Sullivan KA. Movement disorders associated with atypical antipsychotic drugs. J Clin Psychiatry. 2002;63:12–19.
503. Jensen KP, Covault J, Conner TS, Tennen H, Kranzler HR, Furneaux HM. A common polymorphism in serotonin receptor 1B mRNA moderates regulation by miR-96 and associates with aggressive human behaviors. Mol Psychiatry. 2009;14:381–389.
504. Sempere LF, Freemantle S, Pitha-Rowe I, Moss E, Dmitrovsky E, Ambros V. Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation. Genome Biol. 2004;5:R13.
505. Tang H, Dalton CF, Srisawat U, Zhang ZJ, Reynolds GP. Methylation at a transcription factor-binding site on the 5-HT1A receptor gene correlates with negative symptom treatment response in first episode schizophrenia. nt J Neuropsychopharmacol. 2014;(17):645–9.
506. Swathy B, Banerjee M. Haloperidol induces pharmacoepigenetic response by modulating miRNA expression, global DNA methylation and expression profiles of methylation maintenance genes and genes involved in neurotransmission in neuronal cells. PLoS One. 2017;12:e0184209.
507. Melas PA, Rogdaki M, Osby U, Schalling M, Lavebratt C, Ekstrom TJ. Epigenetic aberrations in leukocytes of patients with schizophrenia: association of global DNA methylation with antipsychotic drug treatment and disease onset. FASEB J. 2012;26:2712–2718.
508. Li J, Guo Y, Schroeder FA, Youngs RM, Schmidt TW, Ferris C, et al. Dopamine D2-like antagonists induce chromatin remodeling in striatal neurons through cyclic AMP-

protein kinase A and NMDA receptor signaling. J Neurochem. 2004;90:1117–1131.

509. Santarelli DM, Liu B, Duncan CE, Beveridge NJ, Tooney PA, Schofield PR, et al. Gene-microRNA interactions associated with antipsychotic mechanisms and the metabolic side effects of olanzapine. Psychopharmacology (Berl). 2013;227(1):67–78.
510. Perkins DO, Jeffries CD, Jarskog LF, Thomson JM, Woods K, Newman MA, et al. microRNA expression in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia and schizoaffective disorder. Genome Biol. 2007;8(2).
511. Fehér LZ, Kálmán J, Puskás LG, Gyülvészi G, Kitajka K, Penke B, et al. Impact of haloperidol and risperidone on gene expression profile in the rat cortex. Neurochem Int. 2005;47(4):271–80.
512. MacGibbon GA, Lawlor PA, Bravo R, Dragunow M. Clozapine and haloperidol produce a differential pattern of immediate early gene expression in rat caudate-putamen, nucleus accumbens, lateral septum and islands of Calleja. Mol Brain Res. 1994;23(1–2):21–32.
513. Meltzer HY, Matsubara S, Lee JC. Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D1, D2 and Serotonin2 pKi values. J Pharmacol Exp Ther. 1989;251:238–246.
514. Lieberman JA, Mailman RB, Duncan G, Sikich L, Chakos M, Nichols DE, et al. Serotonergic basis of antipsychotic drug effects in schizophrenia. Biol Psychiatry. 1998;44:1099–1117.
515. Kapur S, Remington G. Serotonin-dopamine interaction and its relevance to schizophrenia. Am J Psychiatry. 1996;153:466–76.
516. Lucas G, Bonhomme N, De Deurwaerdere P, Le Moal M, Spampinato U. 8-OH-DPAT, a 5-HT1A agonist and ritanserin, a 5-HT2A/C antagonist, reverse haloperidol-induced catalepsy in rats independently of striatal dopamine release. Psychopharmacol. 1997;131:57–63.
517. Wadenberg ML, Soliman A, VanderSpek SC, Kapur S. Dopamine D(2) receptor occupancy is a common mechanism underlying animal models of antipsychotics and their clinical effects. Neuropsychopharmacology. 2001;25:633–41.
518. Hensler JG, Artigas F, Bortolozzi A, Daws LC, De Deurwaerdere P, Milan L, et al. Catecholamine/Serotonin interactions: systems thinking for brain function and disease. Adv Pharmacol. 2013;68:167–97.
519. De Deurwaerdere P, Navailles S, Berg KA, Clarke WP, Spampinato U. Constitutive activity of the serotonin2C receptor inhibits in vivo dopamine release in the rat striatum

and nucleus accumbens. J Neurosci. 2004;24:3235–41.

520. Alex KD, Yavanian GJ, McFarlane HG, Pluto CP, Pehek EA. Modulation of dopamine release by striatal 5-HT2C receptors. Synapse. 2005;55:242–51.
521. De Deurwaerdere P, Spampinato U. Role of serotonin(2A) and serotonin(2B/2C) receptor subtypes in the control of accumbal and striatal dopamine release elicited in vivo by dorsal raphe nucleus electrical stimulation. J Neurochem. 1999;73:1033–42.
522. Navailles S, De Deurwaerdere P, Spampinato U. Clozapine and haloperidol differentially alter the constitutive activity of central serotonin2C receptors in vivo. Biol Psychiatry. 2006;59:568–75.
523. De Deurwaerdere P, Ramos M, Bharatiya R, Puginier E, Chagraoui A, Manem J, et al. Lorcaserin bidirectionally regulates dopaminergic function site-dependently and disrupts dopamine brain area correlations in rats. Neuropharmacology. 2019;166.
524. Lucas G, De Deurwaerdere P, Caccia S, Umberto S. The effect of serotonergic agents on haloperidol-induced striatal dopamine release in vivo: opposite role of 5-HT(2A) and 5-HT(2C) receptor subtypes and significance of the haloperidol dose used. Neuropharmacology. 2000;39:1053–63.
525. Reavill C, Kettle A, Holland V, Riley G, Blackburn TP. Attenuation of haloperidol-induced catalepsy by a 5-HT2C receptor antagonist. Br J Pharmacol. 1999;126:572–4.
526. Richtand NM, Welge JA, Logue AD, Keck PEJ, Strakowski SM, McNamara RK. Role of serotonin and dopamine receptor binding in antipsychotic efficacy. Prog Brain Res. 2008;172:155–75.
527. Ohno Y, Imaki J, Mae Y, Takahashi T, Tatara A. Serotonergic modulation of extrapyramidal motor disorders in mice and rats: role of striatal 5-HT3 and 5-HT6 receptors. Neuropharmacology. 2011;60:201–8.
528. Audinot V, Newman-Tancredi A, Cussac D, Millan MJ. Inverse agonist properties of antipsychotic agents at cloned, human (h) serotonin (5-HT)(1B) and h5-HT(1D) receptors. Neuropsychopharmacology. 2001;25:410–22.
529. De Deurwaerdere P, Bharatiya R, Chagraoui A, Di Giovanni G. Constitutive activity of 5-HT receptors: Factual analysis. Neuropharmacology. 2020;107967.
530. Bonhomme N, De Deurwaerdere P, Le Moal M, Spampinato U. Evidence for 5-HT4 receptor subtype involvement in the enhancement of striatal dopamine release induced by serotonin: a microdialysis study in the halothane-anesthetized rat. Neuropharmacology. 1995;34:269–79.
531. Lucas JJ, Segu L, Hen R. 5-Hydroxytryptamine1B receptors modulate the effect of

cocaine on c-fos expression: converging evidence using 5-hydroxytryptamine1B knockout mice and the 5-hydroxytryptamine1B/1D antagonist GR127935. Mol Pharmacol. 1997;51:755–63.

532. Jackson MJ, Al-Barghouthy G, Pearce RK, Smith L, Hagan JJ, Jenner P. Effect of 5-HT1B/D receptor agonist and antagonist administration on motor function in haloperidol and MPTP-treated common marmosets. Pharmacol Biochem. 2004;79:391–400.
533. Jaunarajs KL, Dupre KB, Steiniger A, Klioueva A, Moore A, Kelly C, et al. Serotonin 1B receptor stimulation reduces D1 receptor agonist-induced dyskinesia. Neuroreport. 2009;20:1265–9.
534. Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. Neuropharmacology. 1999;38:1083–1152.
535. Stroup TS, Gray N. Management of common adverse effects of antipsychotic medications. World Psychiatry. 2018;17:341–56.
536. Poyurovsky M, Shardorodsky M, Fuchs C, Schneidman M, Weizman A. Treatment of neuroleptic induced akathisia with the 5-HT2 antagonist mianserin. Double-blind, placebo-controlled study. Br J Psychiatry. 1999;174:238–42.
537. Praharaj SK, Kongasseri S, Behere RV, Sharma PS. Mirtazapine for antipsychotic induced acute akathisia: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. Ther Adv Psychopharmacol. 2015;5:307–13.
538. Miller CH, Hummer M, Pycha R, Fleischhacker WW. The effect of ritanserin on treatment resistant neuroleptic induced akathisia: case reports. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 1992;16:247–51.
539. Fischel T, Hermesh H, Aizenberg D, Zemishlany Z, Munitz H, Benjamini Y, et al. Cyproheptadine versus propranolol for the treatment of acute neuroleptic-induced akathisia: a comparative double-blind study. J Clin Psychopharmacol. 2001;21:612–5.
540. Avital A, Gross-Isseroff R, Stryjer R, Hermesh H, Weizman A, Shiloh R. Zolmitriptan compared to propranolol in the treatment of acute neuroleptic-induced akathisia: a comparative double-blind study. Eur Neuropsychopharmacol. 2009;19:476–82.
541. Kumar R, Sachdev P. Akathisia and second-generation antipsychotic drugs. Curr Opin Psychiatry . 2009;22:293–9.
542. De Deurwaerdere P. Cariprazine: New dopamine biased agonist for neuropsychiatric disorders. Drugs Today (Barc). 2016;52:97–110.
543. Hawthorne JM, Caley CF. Extrapyramidal reactions associated with serotonergic

antidepressants. Ann Pharmacother. 2015;49:1136–52.

544. Anderson H, Pace W, Libby A, West D, Valuck R. Rates of 5 common antidepressant side effects among new adult and adolescent cases of depression: a retrospective. US claims study Clin Ther. 2012;34:113–23.

545. Madhusoodanan S, Alexeenko L, Sanders R, Brenner R. Extrapyramidal symptoms associated with antidepressants: a review of the literature and an analysis of spontaneous reports. Ann Clin Psychiatry . 2010;22:148–56.

546. Ohno Y, Shimizu S, Tokudome K. Pathophysiological roles of serotonergic system in regulating extrapyramidal motor functions. Biol Pharm Bull. 2013;36:1396–400.

8 POPIS KRATICA

5-HT	5-hidroksitriptamin (serotonin)
5-HT_{1A}	serotoninski receptor 1A
5-HT_{1B}	serotoninski receptor 1B
5-HT_{2A}	serotoninski receptor 2A
5-HT_{2C}	serotoninski receptor 2C
5-HT_{6}	serotoninski receptor 6
AADC	aromatska aminokiselinska dekarboksilaza
ACD	engl. *Acid Citrate Dextrose*
AD(NAD)	NAD ovisna alkohol-dehidrogenaza
AIMS	ljestvica nenormalnog nenamjernog kretanja
Akt	protein-kinaza B (PKB)
AMPA	α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolepropionska kiselina
BARS	Barnesova ljestvica za akatiziju
BDNF	moždani neurotrofni čimbenik (engl. *Brain-Derived Neurotrophic Factor*)
BH4	tetrahidrobiopterin
cAMP	ciklički adenozin-monofosfat
CDK5	kinaze ovisne o ciklinu 5 (engl. *Cyclin-Dependent Kinase 5*)
COMT	katehol-O-metiltransferaza
CYP	citokrom P450
CYP1A2	citokrom P450 1A2
CYP2C19	citokrom P450 2C19
CYP2C9	citokrom P450 2C9
CYP2D6	citokrom P450 2D6
CYP3A4	citokrom P450 3A4
CYP3A5	citokrom P450 3A5
D1	dopaminski receptor tip 1
D2	dopaminski receptor tip 2
D3	dopaminski receptor tip 3
D4	dopaminski receptor tip 4
D5	dopaminski receptor tip 5
DARPP-32	fosfoprotein reguliran dopaminom i cikličkim adenozin-monofosfatom
DAT	prijenosnik za dopamin
DISC1	gen oštećen u shizofreniji (engl. *Disrupted in Schizophrenia 1*)

DISC2	gen oštećen u shizofreniji (engl. *Disrupted in Schizophrenia 2*)
DNA	deoksiribonukleinska kiselina
DOPA	dihidroksifenilalanin
DRD1	gen za dopaminski receptor tip 1
DRD2	gen za dopaminski receptor tip 2
DRD3	gen za dopaminski receptor tip 3
DSM-IV	Dijagnostički i statistički priručnik za duševne poremećaje, 4 izdanje
DSM-V	Dijagnostički i statistički priručnik za duševne poremećaje, 5 izdanje
DTNBP 1	disbindin (engl. *Dystrobrevin-Binding Protein 1*)
EPS	ekstrapiramidalne nuspojave (engl. *Extrapyramidal Side Effects*)
ESRS	ljestvica za ocjenu ekstrapiramidalnih simptoma
GABA	gama-aminomaslačna kiselina
GAD	glutamat-dekarboksilaza
GSK3	glikogen-sintaza-kinaza-3
GWAS	cjelogenomska analiza povezanosti (engl. *Genome-Wide Association Study*)
HTR1A	gen za serotoninski receptor 1A
HTR1B	gen za serotoninski receptor 1B
HTR2A	gen za serotoninski receptor 2A
HTR2C	gen za serotoninski receptor 2C
HTR6	gen za serotoninski receptor 6
HWE	Hardy-Weinbergova ravnoteža (engl. *Hardy-Weinberg equilibrium*)
IP3	inozitol-3-fosfat
IQ	kvocijent inteligencije
ITM	indeks tjelesne mase
LD	neravnoteža udruživanja (engl. *Linkage Disequilibrium*)
LSD	dietilamid D-lizerginske kiseline
MAO	monoamin-oksidaza
MB-COMT	katehol-O-metiltransferaza vezana za membranu
miR	mikro ribonukleinska kiselina
MKB-10	deseta revizija međunarodne klasifikacije bolesti
NAD	nikotinamid adenin dinukleotid
NMDA	N–metil–D–aspartat
NRG1	neuregulin

PANSS	ocjenska ljestvica pozitivnih i negativnih simptoma shizofrenije
PCP	fenciklidin
PCR	lančana reakcija polimerazom (engl. *Polymerase Chain Reaction*)
PIF	prolaktin-inhibicijski čimbenik
PIH	prolaktin-inhibicijski hormon
PKA	protein-kinaza A
PLC	fosfolipaza C
PP1	protein-fosfataza 1
PRODH	prolin-dehidrogenaza
RCLB	pufer za lizu eritrocita (engl. *Red Cell Lysis Buffer*)
RNK	ribonukleinska kiselina
RSG4	regulator G protein-signalizacije 4 (engl. *Regulator of G protein Signaling 4*)
RT-PCR	lančana reakcija polimerazom u stvarnom vremenu (engl. *Real Time Polymerase Chain Reaction*)
SAS	Simpson-Angusova ljestvica za ekstrapiramidalne nuspojave
SERT	prijenosnik za serotonin (engl. *Serotonin Transporter*)
SNP	polimorfizam jednog nukleotida (engl. *Single Nucleotide Polymorphism*)
SSRI	selektivni inhibitori ponovne pohrane serotonina
SŽS	središnji živčani sustav
TH	triptofan-hidroksilaza
UTR	netranslantirana regija (engl. *Untranslational Region*)
VMAT2	vezikularni monoaminski prijenosnik (engl. *Vesicular Monoamine Transporter*)
VNTR	polimorfizam varijabilnog broja uzastopnih ponavljanja (engl. *Variable Number of Tandem Repeats*)
βArr2	beta-arestin 2
$\chi 2$	hi-kvadrat test

9 ŽIVOTOPIS

Mirko Grubor rođen je 23. veljače 1985. godine u Zagrebu. Osnovnu školu „Tituš Brezovački“ u Zagrebu završio je 1999. godine, a srednju školu „Zdravstveno učilište Zagreb“, smjer farmaceutski tehničar, 2003. godine. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisuje 2004. godine. Diplomirao je 24. rujna 2010. godine pod mentorstvom prof. dr.sc. Marijane Zovko Končić s temom diplomskog rada “Antioksidativna svojstva kamerunskog propolisa” te je stekao zvanje magistra farmacije. Poslijediplomski studij na Farmaceutsko-biokemijskiom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisuje u veljači 2013. godine.

Od kolovoza 2009. godine do studenog 2010. godine, tijekom studija radi u poduzeću Sanofi-Aventis Croatia d.o.o. kao asistent u području regulative i farmakovigilancije. U studenom 2010. godine zapošljava se u poduzeću Quintiles na radno mjesto suradnik u kliničkim ispitivanjima. U suradničko zvanje specijalist u području regulative zapošljava se u rujnu 2011. godine u Pliva Hrvatska d.o.o.. Na isto radno mjesto u poduzeću AstraZeneca d.o.o. zapošljava se u travnju 2016. godine. Osim poslova u području regulative djeluje u području farmakovigilancije te onkologije. Od siječnja 2020. godine radi kao voditelj odjela za dijagnostiku u području onkologije u istom poduzeću. Nakon odrađenog pripravničkog staža stječe licencu za neovisni rad kao magistar farmacije te je član Hrvatske ljekarničke komore od 2016. godine. Autor je dva znanstvena rada citiranih u bazi Current contents te je sudjelovao s posterskim priopćenjima na više domaćih i međunarodnih kongresa.

Popis objavljenih radova i kongresnih priopćenja

1. Znanstveni radovi u časopisima indeksiranim u *Web of Science Core Collection*

1. Grubor, Mirko; Živković, Maja; Šagud, Marina; Nikolac Perković, Matea; Mihaljević Peleš, Alma; Pivac, Nela; Muck-Šeler, Dorotea; Švob Štrac, Dubravka. HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C and HTR6 Gene Polymorphisms and Extrapyramidal Side Effects in Haloperidol-Treated Patients with Schizophrenia.. // International journal of molecular sciences, 21 (2020), 7; 2345, 15 doi:10.3390/ijms21072345.
2. Švob Štrac, Dubravka; Nedić Erjavec, Gordana; Nikolac Perković, Matea; Nenadić-Šviglin, Korona; Konjevod, Marcela; Grubor, Mirko; Pivac, Nela. The association between HTR1B gene rs13212041 polymorphism and onset of alcohol abuse. // Neuropsychiatric Disease and Treatment, 15 (2019), 339-347 doi:10.2147/NDT.S191457.

2. Sažeci kongresnih priopćenja objavljeni u knjigama sažetaka

1. Grubor, Mirko; Švob Štrac, Dubravka; Živković, Maja; Mihaljević-Peleš, Alma; Šagud Marina; Pivac, Nela; Mück-Seler, Dorotea. The association of rs13212041 polymorphism in 5-HT1B receptor gene and akathisia in haloperidol-treated patients with schizophrenia. // Book of abstracts / Sinapsa Neuroscience Conference ‘15, Ljubljana, Slovenia, May 15-17, 2015 ; organized by Sinapsa, Slovenian Neuroscience Association / Matkovič, Andraž ; Koritnik, Blaž (ur.). Ljubljana: Sinapsa, Slovenian Neuroscience Association, 2015. str. 65-65.
2. Švob Štrac, Dubravka; Grubor, Mirko; Uzun, Suzana; Kozumplik, Oliver; Živković, Maja; Mihaljević-Peleš, Alma; Šagud Marina; Pivac, Nela; Mück-Seler, Dorotea. Serotonin receptor gene polymorphisms and the side effects of antipsychotic drugs. // 5th Croatian Neuroscience Congress-Book of Abstracts / Croatian Society for Neuroscience (ur.). Split: Croatian Society for Neuroscience, 2015. str. 81-81.
3. Grubor, Mirko; Švob Štrac, Dubravka; Mustapić, Maja; Živković, Maja; Mihaljević-Peleš, Alma; Šagud, Marina; Pivac, Nela; Muck-Šeler; Dorotea. The association between HT1A serothe association between 5-ht1a serotonin receptor gene polymorphism and extrapyramidal side effects in haloperidol-treated patients with schizophrenia. // Book of Abstracts of the Congress of the Croatian Society of Biochemistry and Molecular Biology "The Interplay of Biomolecules" (HDBMB2014) / Katalinić, Maja ; Kovarnik, Zrinka (ur.). Zagreb: Croatian Society of Biochemistry and Molecular Biology, 2014. str. 94-94-

4. Grubor, Mirko; Švob Štrac, Dubravka; Mustapić, Maja; Živković, Maja; Mihaljević-Peleš, Alma; Šagud, Marina; Pivac, Nela; Muck-Šeler, Dorotea. The lack of association between serotonin receptor - 2A and - 2C gene polymorphisms and extrapiramidal side effects in haloperidol-treated patients with schizophrenia. // 7th Croatian Congress of Pharmacology with International Participation : abstracts ; u: Periodicum Biologorum 115 (2015) S3 / Vitale, Branko (ur.). Zagreb: Croatian Society for Natural Sciences, Ruđer Bošković Institute, 2013. str. 52-52.

10 PRILOG

International Journal of
Molecular Sciences

MDPI

Article

HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C and *HTR6* Gene Polymorphisms and Extrapyramidal Side Effects in Haloperidol-Treated Patients with Schizophrenia

Mirko Grubor [1], Maja Zivkovic [2], Marina Sagud [2,3], Matea Nikolac Perkovic [4], Alma Mihaljevic-Peles [2,3], Nela Pivac [4], Dorotea Muck-Seler [4] and Dubravka Svob Strac [4,*]

1 Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, 10 000 Zagreb, Croatia; mirko.grubor@gmail.com
2 Department of Psychiatry, University Hospital Centre Zagreb, 10 000 Zagreb, Croatia; maja.zivkovic20@gmail.com (M.Z.); MarinaSagud@mail.com (M.S.); alma.mihaljevic.peles@mef.hr (A.M.-P.)
3 School of Medicine, University of Zagreb, 10 000 Zagreb, Croatia
4 Laboratory for Molecular Neuropsychiatry, Division of Molecular Medicine, Rudjer Boskovic Institute, 10 000 Zagreb, Croatia; Matea.Nikolac.Perkovic@irb.hr (M.N.P.); npivac@irb.hr (N.P.); Dorotea.Mueck.Seler@irb.hr (D.M.-S.)
* Correspondence: dsvob@irb.hr; Tel.: +385-1-457-1207

Received: 19 February 2020; Accepted: 27 March 2020; Published: 28 March 2020



Abstract: Schizophrenia is a serious, chronic psychiatric disorder requiring lifelong treatment. Extrapyramidal side effects (EPS) are common adverse reactions to antipsychotic medications. In addition to the dopaminergic system, serotonergic mechanisms, including serotonin (5-HT) receptors, might be involved in EPS development. This study aimed to examine molecular associations of *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C* and *HTR6* gene polymorphisms with acute EPS in 229 male schizophrenia patients, following two weeks of haloperidol monotherapy. The Simpson–Angus Rating Scale for Extrapyramidal Side Effects (SAS), Barnes Akathisia Rating Scale (BARS) and Extrapyramidal Symptom Rating Scale (ESRS) were used to evaluate EPS severity. Genotyping was performed using real-time PCR, following extraction of blood DNA. Significant acute EPS appeared in 48.03% of schizophrenia patients. For the rs13212041 *HTR1B* gene polymorphism, affecting microRNA regulation of *HTR1B* gene expression, a higher frequency of TT carriers was found among haloperidol-treated patients with akathisia when compared to the group without akathisia symptoms. In comparison to C-allele carriers, patients carrying the TT genotype had higher akathisia severity, as determined by the SAS, BARS and ESRS scales. These molecular findings suggest potential involvement of 5-HT_{1B} receptors in akathisia development following haloperidol treatment, as well as possible epigenetic mechanisms of serotonergic modulation associated with antipsychotic-induced EPS.

Keywords: schizophrenia; haloperidol; acute extrapyramidal side effects; serotonin receptors; gene polymorphisms; *HTR1B* gene polymorphism; akathisia

1. Introduction

Schizophrenia is a serious, chronic psychiatric disorder, requiring lifelong treatment [1]. Haloperidol, a highly effective first-generation antipsychotic (FGA), is one of the most prescribed antipsychotics in Europe and the US, and it is often used in clinical trials as a comparator drug [2]. Due to its very strong antagonistic activity on dopamine D_2 receptors of the mesolimbic dopamine pathway [3], haloperidol acts as a very potent antipsychotic agent, and it is included on the World Health Organization's list of essential drugs [4]. However, like other FGAs, it is also associated with the development of both acute and long-term extrapyramidal side effects (EPS) [5], possibly due to

blockade of the D_2 receptor in the nigrostriatal pathway [6]. Specifically, it has been demonstrated that FGAs bind "tightly" to D_2 receptors and dissociate slowly [7], with a D_2 receptor occupancy of greater than 80% significantly contributing to the risk of EPS [8]. Other predictors of EPS include younger age, male gender, longer treatment durations, higher dosage, psychiatric diagnoses, such as mood disorder, and previous EPS history [8–11]. More recently, genetic factors have also been considered, including those related to the metabolism of antipsychotic drugs and free radical scavenging [12–14], as well as variants in genes coding for various components of the dopaminergic system [15–17].

EPS are well-known and common antipsychotic-induced movement disorders [18]. They include acute EPS, such as akathisia, acute dystonia and parkinsonism, which may occur within days or weeks of initiating treatment, as well as late-onset EPS, such as tardive dyskinesia that develop months or years after the antipsychotic therapy [19]. These serious and debilitating side effects often lead to reduction of patient compliance or even discontinuation of therapy and can present major therapeutic limitations [20]. Newer, second-generation antipsychotics (SGAs) are accompanied by fewer EPS (~15%) when compared to FGAs (50%-75%) [7,21], but are more frequently associated with adverse metabolic effects [6]. Like FGAs, SGAs block D_2 receptors; however, they additionally exhibit activity at several serotonin (5-HT) receptors [19,22]. Assorted data suggest an important role of 5-HT neurons and various 5-HT receptors in the modulation of dopaminergic function, and consequently development of EPS following treatment with antipsychotic drugs [23–25]. It is possible that molecular determinants of the 5-HT system contribute to the inter-individual differences in development of EPS following treatment with FGAs.

Several studies have reported significant associations between 5-HT receptor gene polymorphisms and the risk of developing EPS [26,27]. Most of these studies have, however, focused on tardive dyskinesia, and only a few investigated the development of acute EPS [28,29]. Therefore, the aim of this study was to investigate the potential relationship of several polymorphisms located in the *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C* and *HTR6* genes, which code for the corresponding 5-HT receptors, with the development of acute EPS, following haloperidol monotherapy. These genetic variants might be clinically useful as pharmacogenetic markers for prediction of the occurrence of acute EPS among patients treated with antipsychotic drugs, as well as for tailoring future genotype-based personalized drug treatments in order to help minimize EPS [30].

2. Results

For this study, 299 male patients with schizophrenia were enrolled, with a mean age of 36.49 ± 10.40 years old. Demographic and clinical features of the subjects enrolled are presented in Table 1. Most of the schizophrenia patients had graduated from high school, were unemployed or retired, as well as being either single or divorced and without children. They were also mostly overweight, with a mean BMI of 26.54 ± 9.18 (Table 1). A relatively high proportion of patients were smokers and drank alcohol, while a significant number of patients had previously consumed one or more illegal psychoactive substances. A considerable number of the patients had also previously attempted suicide. As shown in the Table 1, most of the schizophrenia patients previously received antipsychotic therapy (89.52%), usually a combination of typical and atypical antipsychotics (69.00%), whereas a smaller number of the subjects enrolled were drug naïve (10.48%). A majority of the patients previously met the criteria for complete or partial disease remission, whereas 13.10% of them were considered to be treatment-resistant (Table 1). As demonstrated by their high baseline positive, negative, general psychopathology and total Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) scores, all subjects were admitted to the hospital due to acute exacerbation of schizophrenia and subsequently treated with haloperidol. A total of 66.81% of the schizophrenia patients reported some kind of EPS, and in those patients acute EPS usually developed on the 5th day of haloperidol monotherapy.

Table 1. Socio-demographic and clinical characteristics of haloperidol-treated schizophrenia patients.

Male Schizophrenia Patients	*n* = 229
Age (years, mean ± SD)	36.49 ± 10.40
BMI (mean ± SD)	26.54 ± 9.18
Secondary education (*n*, %)	163 (71.18%)
Not working (unemployed or retired) (*n*, %)	181 (79.04%)
Not married (*n*, %)	206 (89.96%)
Without children (*n*, %)	192 (83.84%)
Alcohol consumption (*n*, %)	111 (48.47%)
Smoking (*n*, %)	154 (67.25%)
Illegal drug consumption (*n*, %) *	49 (21.40%)
PANSS positive scores (mean ± SD)	35.76 ± 4.74
PANSS negative scores (mean ± SD)	34.41 ± 4.97
PANSS general psychopathology scores (mean ± SD)	61.57 ± 7.40
PANSS total scores (mean ± SD)	131.70 ± 13.12
Suicide attempt (*n*, %)	57 (24.89%)
Previous antipsychotic medication (*n*, %) **	205 (89.52%)
Previous complete or partial disease remission (*n*, %) ***	199 (86.90%)
Time of acute EPS onset after haloperidol therapy (days, mean ± SD)	5.04 ± 2.76
Acute EPS occurrence after haloperidol therapy (*n*, %)	153 (66.81%)

* No drugs during the previous 6 months. ** No previous antipsychotic medication for at least 48 h. *** Remission criteria: Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) items P1, P2, P3, N1, N4, N6, G5, G9 ≤ 3 for at least 6 months.

The EPS were evaluated using the Simpson–Angus Rating Scale for Extrapyramidal Side Effects (SAS), the Barnes Akathisia Rating Scale (BARS) and the Extrapyramidal Symptom Rating Scale (ESRS) (Table 2). According to the SAS scale, some EPS were present in 63.32% of patients, with mean total scores of 4.965 ± 5.643; however, in 111 (48.47%) patients, the acute EPS that appeared following haloperidol treatment were significant (defined as a SAS score > 3), whereas 118 (51.53%) patients were in the group without significant acute EPS (SAS score ≤ 3). As shown in Table 2, according to the SAS ratings, the most frequent and severe EPS were tremors, abnormal gait and excessive salivation. The frequency of akathisia, characterized by a feeling of inner restlessness and an inability to stay still [31], as assessed using the SAS scale, was ~23%. This is consistent with the results (~23%) obtained using the BARS scale to rate akathisia and is also in agreement with the reported rates (5–75%) [32,33] and average prevalence (20–35%) [34] of akathisia. The total mean BARS scores of the schizophrenia patients were 1.489 ± 2.989 (Table 2).

For evaluation using the ESRS scale, some items assessing chronic EPS were excluded from the rating. In the ESRS questionnaire and behavioral scale, 65.50% of patients reported parkinsonism, dystonia or akathisia. The ESRS physician's examination identified bradykinesia, abnormal gait and posture, as well as rigidity as the most frequent EPS, whereas tremor and rigidity were the most severe EPS based on the highest ESRS scores (Table 2). In concurrence with the SAS and BARS scales, the frequency of akathisia occurrence as assessed by the ESRS scale was ~23%. Although the ESRS clinical global impression detected some symptoms of parkinsonism in ~58% of the subjects, these symptoms were very mild (2.077 ± 1.905 scores), indicating minimal or low-stage parkinsonism (Table 2). The total mean ESRS scores of the schizophrenia patients enrolled was 21.49 ± 21.24. As shown in Table 2, the severity of EPS in schizophrenia patients following haloperidol monotherapy is quite variable, as demonstrated by the high standard deviation (SD) in the BARS, SAS and ESRS scores, and it is probably due to the influence of various environmental as well as genetic factors.

Table 2. Number and percentage (%) of schizophrenia patients with particular acute extrapyramidal side effects (EPS) and its severity (scores), as assessed with the Simpson–Angus Rating Scale for Extrapyramidal Side Effects (SAS), the Barnes Akathisia Rating Scale (BARS) and the Extrapyramidal Symptom Rating Scale (ESRS) scales following haloperidol treatment.

EPS	Number of Patients (%)	Scores (Mean ± SD)
SAS scale		
Gait	82 (35.81 %)	0.635 ± 0.936
Arm dropping	68 (29.69%)	0.446 ± 0.758
Shoulder shaking	47 (20.52%)	0.338 ± 0.730
Elbow rigidity	67 (29.26%)	0.459 ± 0.788
Wrist rigidity	66 (28.82%)	0.441 ± 0.763
Head rotation	64 (27.95%)	0.464 ± 0.838
Glabella tap	44 (19.21%)	0.231 ± 0.524
Tremor	87 (37.99%)	0.878 ± 1.193
Salivation	81 (35.37%)	0.790 ± 1.151
Akathisia	53 (23.14%)	0.402 ± 0.798
Total SAS scores	145 (63.32%)	4.965 ± 5.643
Significant acute EPS after haloperidol therapy *	111 (48.47%)	SAS score >3
BARS scale		
Objective	52 (22.71%)	0.367 ± 0.735
Subjective: Awareness of restlessness	52 (22.71%)	0.375 ± 0.777
Subjective: Distress related to restlessness	51 (23.14%)	0.367 ± 0.770
Global clinical assessment of akathisia	53 (23.14%)	0.377 ± 0.755
Total BARS scores	53 (23.14%)	1.489 ± 2.989
ESRS scale **		
I. Parkinsonism, dystonia, dyskinesia and akathisia —questionnaire and behavioral scale	150 (65.50%)	5.018 ± 4.774
II. Parkinsonism and akathisia exam—physician's examination		
Expressive automatic movements (facial mask/speech)	90 (39.30%)	0.797 ± 1.097
Bradykinesia	99 (43.23%)	0.860 ± 1.143
Rigidity	91 (39.74%)	3.081 ± 4.333
Gait and posture	95 (41.48%)	0.851 ± 1.185
Tremor	79 (34.50%)	3.383 ± 5.198
Akathisia	54 (23.58%)	0.495 ± 1.015
Sialorrhea	76 (33.19%)	1.054 ± 1.521
Postural stability	58 (25.33%)	0.423 ± 0.824
III. Dystonia—physician´s examination—1. Acute torsion dystonia	40 (17.47%)	1.680 ± 4.745
VI. Clinical global impression of severity of parkinsonism	135 (58.95%)	2.077 ± 1.905
VII. Clinical global impression of severity of dystonia	44 (19.21%)	0.874 ± 1.889
VIII. Stage of parkinsonism	132 (57.64%)	1.473 ± 1.334
Total ESRS scores	150 (65.50%)	21.49 ± 21.24

* Patients with SAS score > 3 are considered to have significant acute EPS. ** In the ESRS scale the following were excluded: items 10 and 11 from part I, item 2 from part III and parts IV and V.

The molecular approach involving gene polymorphisms was studied using real-time PCR, following extraction of DNA from the blood of patients. We focused on the *HTR1A*, *HTR1B*, *HTR2A*, *HTR2C* and *HTR6* gene polymorphisms. The genotype distributions in schizophrenia patients for all of the 5-HT receptor gene polymorphisms tested in the study were in Hardy–Weinberg equilibrium (HWE). As shown in Table 3, no significant differences were observed in the frequency of the genotypes or alleles for any of the 5-HT receptor gene polymorphisms studied between patients with or without significant acute EPS (SAS score >3) following haloperidol monotherapy. However, when we compared the SAS, BARS and ESRS total scores in schizophrenia patients carrying different genotypes or alleles of the 5-HT receptor gene polymorphisms, we found a significant association of the *HTR1B* rs13212041 polymorphism with the total BARS scores (Table 4). Specifically, the total BARS scores were significantly

different between patients carrying various *HTR1B* rs13212041 genotypes ($p = 0.009$; Kruskal–Wallis test). Applying of a post-hoc Dunn's multiple comparisons test demonstrated that haloperidol-treated schizophrenia patients carrying the *HTR1B* rs13212041 TT genotype had a significantly higher total BARS scores ($p = 0.007$) than carriers of the CT genotype.

Table 3. Genotype and allele frequencies of 5-HT receptor gene polymorphisms in schizophrenia patients, subdivided according to the development of significant acute EPS following haloperidol therapy.

SNP	Genotype (*n*, %)			χ^2-Test	Allele (*n*, %)		Fisher's Test
***HTR2A*rs6313**	**CC**	**CT**	**TT**		**C**	**T**	
Significant acute EPS *	32 (28.83%)	60 (54.05%)	19 (17.12%)	$p = 0.183$	120 (55.05%)	98 (44.95%)	$p = 0.183$
No significant acute EPS	47 (39.83%)	51 (43.22%)	20 (16.95%)		145 (61.44%)	91 (38.56%)	
HTR2C* rs3813929*					**C**	**T**	
Significant acute EPS *					91 (81.98%)	20 (18.02%)	$p = 0.510$
No significant acute EPS					92 (77.97%)	26 (22:03%)	
***HTR1A*rs6295**	**CC**	**CG**	**GG**		**C**	**G**	
Significant acute EPS *	30 (29.70%)	51 (50.50%)	20 (19.80%)	$p = 0.585$	111 (54.95%)	91 (45.05%)	$p = 0.433$
No significant acute EPS	25 (23.36%)	59 (55.14%)	23 (21.50%)		109 (50.93%)	105 (49.07%)	
***HTR1B*rs13212041**	**CC**	**CT**	**TT**		**C**	**T**	
Significant acute EPS *	4 (3.88%)	29 (28.15%)	70 (67.96%)	$p = 0.055$	37 (17.96%)	169 (82.04%)	$p = 0.330$
No significant acute EPS	1 (0.93%)	45 (42.06%)	61 (57.01%)		47 (21.96%)	167 (78.04%)	
***HTR6*rs1805054**	**CC**	**CT**	**TT**		**C**	**T**	
Significant acute EPS *	55 (55.56%)	39 (39.39%)	5 (5.05%)	$p = 0.246$	149 (75.25%)	49 (24.75%)	$p = 0.120$
No significant acute EPS	73 (66.36%)	34 (30.91%)	3 (2.73%)		180 (81.82%)	40 (18.18%)	

* Patients with SAS score >3 are considered to have significant acute EPS. ** Since the *HTR2C* gene is located on the X chromosome, for the rs3813929 polymorphism only allele frequencies are available.

Table 4. SAS, BARS and ESRS total scores in haloperidol-treated schizophrenia patients carrying different genotypes or alleles of 5-HT receptor gene polymorphisms.

SNP	Genotype/Allele			Statistics
***HTR2A*rs6313**	**CC**	**CT**	**TT**	
SAS score (mean ± SD)	4.177 ± 5.257	5.802 ± 6.145	4.179 ± 4.588	$p = 0.111$; Kruskal–Wallis test
BARS score (mean ± SD)	1.304 ± 2.695	1.595 ± 3:203	1.564 ± 2.981	$p = 0.857$; Kruskal–Wallis test
ESRS score (mean ± SD)	19.22 ± 21.13	24.62 ± 22.16	17.10 ± 17.62	$p = 0.083$; Kruskal–Wallis test
***HTR2C*rs3813929**	/	**C**	**T**	
SAS score (mean ± SD)		4.951 ± 5.502	5.022 ± 6.238	$p = 0.702$; Mann–Whitney test
BARS score (mean ± SD)		1.596 ± 3:094	1.065 ± 2.516	$p = 0.294$; Mann–Whitney test
ESRS score (mean ± SD)		21.96 ± 21.26	19.63 ± 21.32	$p = 0.364$; Mann–Whitney test
***HTR1A*rs6295**	**CC**	**CG**	**GG**	
SAS score (mean ± SD)	5.491 ± 5.316	4.682 ± 5.525	4.814 ± 6.013	$p = 0.451$; Kruskal–Wallis test
BARS score (mean ± SD)	1.927 ± 3.271	1.655 ± 3.303	0.953 ± 2.104	$p = 0.393$; Kruskal–Wallis test
ESRS score (mean ± SD)	21.26 ± 19.37	22.03 ± 21.37	21.29 ± 23.00	$p = 0.962$; Kruskal–Wallis test
***HTR1B*rs13212041**	**CC**	**CT**	**TT**	
SAS score (mean ± SD)	6.200 ± 4.764	3.797 ± 4.728	5.580 ± 6.027	$p = 0.077$; Kruskal–Wallis test
BARS score (mean ± SD)	0.800 ± 1.789	0.7838 ± 2.383	1.931 ± 3.228	$p = 0.009$; Kruskal–Wallis test *
ESRS score (mean ± SD)	22.40 ± 17.40	16.92 ± 17.51	24.78 ± 23.22	$p = 0.089$; Kruskal–Wallis test
***HTR6*rs1805054**	**CC**	**CT**	**TT**	
SAS score (mean ± SD)	4.359 ± 5.246	5.178 ± 5.414	9.143 ± 8.275	$p = 0.094$; Kruskal–Wallis test
BARS score (mean ± SD)	1.617 ± 2.986	1.315 ± 2.990	2.000 ± 4.276	$p = 0.513$; Kruskal–Wallis test
ESRS score (mean ± SD)	19.68 ± 19.79	24.04 ± 23.13	26.13 ± 20.93	$p = 0.340$; Kruskal–Wallis test

* $p = 0.007$ using Dunn's multiple comparisons test, CT vs. TT carriers.

Moreover, schizophrenia patients carrying the *HTR1B* homozygous TT genotype had significantly higher BARS scores ($p = 0.002$; Mann–Whitney test) than carriers of the C allele (Figure 1). As shown in Table 5, further analysis using the Kruskal–Wallis test revealed significant differences in the scores of all individual items on the BARS scale between haloperidol-treated schizophrenia patients carrying different genotypes of the *HTR1B* rs13212041 polymorphism. Specifically, Dunn's multiple comparisons

test demonstrated that carriers of the TT genotype had significantly higher scores for each individual item on the BARS score than patients carrying the CT genotype (Table 5).

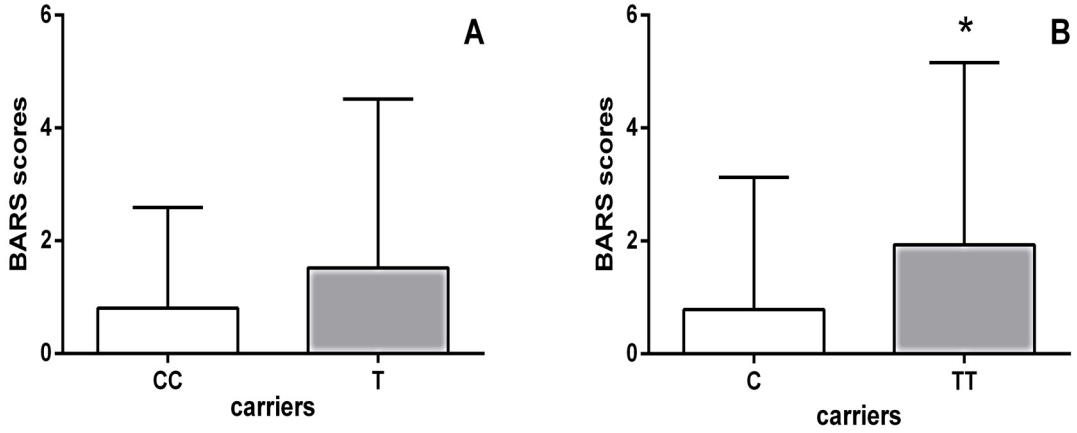


Figure 1. BARS scores of haloperidol-treated schizophrenia patients subdivided according to their *HTR1B* rs13212041 polymorphism status: (**A**) carriers of the homozygous CC genotype (0.800 ± 1.789) vs. carriers of the T allele (1.517 ± 2.996); (**B**) carriers of the homozygous TT genotype (1.931 ± 3.228) vs. carriers of the C allele (0.785 ± 2.341). * $p = 0.002$; Mann–Whitney test, TT vs. C carriers.

Table 5. Scores of individual BARS items in haloperidol-treated schizophrenia patients carrying different genotypes of the *HTR1B* rs13212041 polymorphism.

***HTR1B* rs13212041**	**Genotypes**			**Statistics**
BARS Scale Scores	**CC**	**CT**	**TT**	**Kruskal–Wallis Test**
Objective (mean ± SD)	0.200 ± 0.447	0.189 ± 0.589	0.481 ± 0.798	$p = 0.010$ [a]
Subjective: Awareness of restlessness (mean ± SD)	0.200 ± 0.447	0.203 ± 0.619	0.481 ± 0.844	$p = 0.012$ [b]
Subjective: Distress related to restlessness (mean ± SD)	0.200 ± 0.447	0.203 ± 0.619	0.473 ± 0.844	$p = 0.016$ [c]
Global clinical assessment of akathisia (mean ± SD)	0.200 ± 0.447	0.189 ± 0.589	0.500 ± 0.828	$p = 0.007$[d]

[a] $p = 0.007$, [b] $p = 0.009$, [c] $p = 0.013$ and [d] $p = 0.005$ using Dunn's multiple comparisons test, TT vs. CT carriers.

Since we have found a significant association of the *HTR1B* rs13212041 polymorphism with scores on the BARS scale, which is used for rating akathisia, we evaluated akathisia in haloperidol-treated patients with schizophrenia using the SAS and ESRS scales as well. The results obtained by the Kruskal–Wallis test demonstrated that patients carrying the CC, CT and TT genotypes differed significantly ($p = 0.008$) in severity of akathisia, as assessed using the SAS scale.

Carriers of the *HTR1B* TT genotype (0.519 ± 0.862) also had significantly higher SAS scores for akathisia when compared to carriers of the CT genotype (0.203 ± 0:619) ($p = 0.006$; Dunn's multiple comparisons test), as well as to carriers of C the allele (0.215 ± 0.634) ($p = 0.002$, Mann–Whitney test). Similarly, when akathisia was evaluated using the ESRS scale, we observed significant differences in the scores between haloperidol-treated schizophrenia patients carrying different *HTR1B* rs13212041 genotypes ($p = 0.011$; Kruskal–Wallis test). Further analysis confirmed that the TT carriers (0.661 ± 1.163) had higher ESRS scores for akathisia when compared to the CT carriers (0.222 ± 0.676; $p = 0.009$; Dunn's multiple comparisons test), as well as to C-allele carriers (0.221 ± 0.661; $p = 0.003$; Mann–Whitney test). Additionally, TT carriers were significantly more frequent ($p = 0.006$, χ^2-test) among haloperidol-treated patients with akathisia (81.63%) than in the group without akathisia symptoms (56.52%), as determined by both the SAS and BARS scales. According to the ESRS scale, there were also significantly more

schizophrenia patients carrying the TT genotype ($p = 0.016$; χ^2-test) who developed akathisia (79.59%) than those without akathisia symptoms (57.14%) following haloperidol monotherapy.

3. Discussion

To the best of our knowledge, our study is the first to report an association between the *HTR1B* rs13212041 polymorphism and antipsychotic-induced acute EPS, and more specifically akathisia, in schizophrenia patients. Evaluation with the SAS, BARS and ESRS scales revealed a significantly higher frequency of *HTR1B* TT carriers among haloperidol-treated patients who developed akathisia than in those that did not, as well as a higher severity of akathisia in patients carrying the TT genotype in comparison to C-allele carriers. This finding confirms the close link between molecular events affecting the 5-HT system of a patient and their genetic susceptibility to develop antipsychotic-induced EPS [35]. The majority of previous pharmacogenetic studies have focused on chronic EPS, such as tardive dyskinesia [26,27,36–38], while only a few reported associations of antipsychotic-induced acute EPS, such as parkinsonism and akathisia, with polymorphisms located in the *HTR2A* and *HTR2C* genes [28,29,39]. In contrast to those findings, our study did not detect any significant molecular associations between the *HTR1A, HTR2A, HTR2C* or *HTR6* gene polymorphisms and acute EPS following haloperidol monotherapy.

The *HTR1B* rs13212041 (A1997G) polymorphism is located in the distal 3′-untranslational region (UTR) of *HTR1B* messenger RNA, and disrupts the binding site for the microRNA, miR-96, consequently influencing the expression of the 5-HT_{1B} receptor [40]. Expression of miR-96 in the brain [41] may be modulated by various environmental factors [40], including antipsychotic drugs. Carriers of the A-allele show reduced *HTR1B* expression compared to G-allele carriers [40]. Therefore, we can presume that haloperidol-treated schizophrenia patients carrying the TT genotype, who develop akathisia both more frequently and more severely, have lower levels of 5-HT_{1B} receptors than carriers of the C-allele (Figure 2). Such epigenetic mechanisms are supported by the observed associations between DNA methylation patterns in some 5-HT gene promoter regions and response to antipsychotic drugs [42]. Haloperidol was seen to cause an increase in global DNA methylation [43,44], histone 3 phospho-acetylation [45] and expression of various epigenetic modifiers [43]. Moreover, treatment with haloperidol has been associated with altered expression of several miRNAs [43,46,47] and genes [48], some of which may be involved in the development of EPS [49].

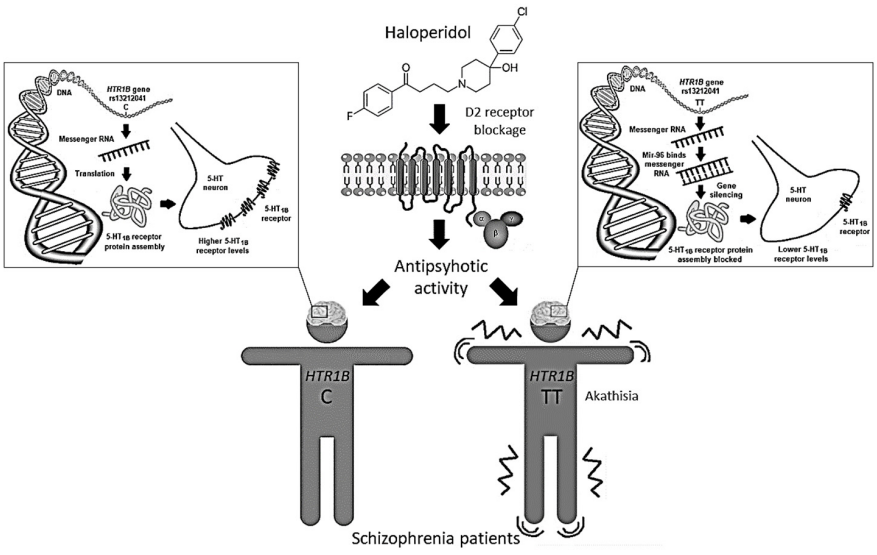


Figure 2. The rs13212041 *HTR1B* gene polymorphism located in the distal 3′-UTR of messenger RNA disrupts the binding site for the microRNA, miR-96, influencing 5-HT_{1B} receptor expression. Haloperidol-treated schizophrenia patients carrying the *HTR1B* TT genotype, who have lower levels of 5-HT_{1B} receptors, develop akathisia more frequently and severely than carriers of the C-allele.

The molecular mechanisms by which 5-HT_{1B} receptors might play a role in the development of haloperidol-induced akathisia are elusive. The majority of current antipsychotics act as antagonists at 5-HT_{1B} receptors, and usually demonstrate inverse agonist properties [50,51]. Therefore, the different potencies of individual antipsychotics at 5-HT_{1B} sites, in comparison to D_2 receptors, could influence their individual propensity to induce EPS. Data regarding the role of 5-HT_{1B} receptors on striatal dopamine release are contradictory [23,52,53]. Instead, 5-HT_{1B} receptors, expressed by striatal cells, would modulate the impact of nigrostriatal dopamine specifically on dopamine-receptive cells of the striatum, independently of the net effect on dopamine efflux [24,54]. This is in line with the findings that 5-HT_{1B} receptor stimulation diminishes the dyskinesia induced by dopamine receptor agonists [55,56]. 5-HT_{1B} receptors act as inhibitory autoreceptors or heteroreceptors on both serotonergic and non-serotonergic neurons, and modulate 5-HT activity [57]. Therefore, the *HTR1B* rs13212041 polymorphism, by influencing 5-HT_{1B} receptor expression, can affect 5-HT neurotransmission, as well as development of antipsychotic-induced EPS.

In our study, all patients were treated with haloperidol as a monotherapy for two weeks, to exclude drug–drug interactions. However, we did not measure haloperidol plasma concentration, nor perform *CYP2D6* genotyping. Haloperidol pharmacokinetics is primarily influenced by the metabolic capacity of the genetically regulated CYP2D6 enzyme [12]. Since antipsychotic dose is a well-known risk factor for EPS, it is possible that patients who carry genotypes associated with poor *CYP2D6* metabolism are at an increased risk of haloperidol-induced EPS [13]. In addition to haloperidol, all patients received diazepam as a concomitant medication for the treatment of agitation, insomnia and anxiety. We cannot, therefore, completely rule out a possible effect of diazepam on haloperidol-induced EPS [58,59]. Although it has been demonstrated that men and women with schizophrenia differ in their treatment response and antipsychotic side effects [60,61], our study enrolled only male schizophrenia patients. As a previous study also found significant gender differences in allele frequencies of the *HRT1B* polymorphism (rs1778258) [62], future studies investigating associations between 5-HT receptor gene variants and EPS should include, as well as compare, male and female patients with schizophrenia. The study of Xia et al. [62] additionally observed different *HRT1B* allelic distributions between schizophrenia patients and healthy control individuals of Han Chinese descent. However, as far as we are aware, this association has not been reported in Caucasian subjects, suggesting ethnicity-related differences. Hence, in addition to an appropriate sample size and statistical power, a significant advantage of the present study is that it involved an ethnically homogenous group of middle-aged male schizophrenia patients in the acute episode of illness. Nevertheless, the lack of healthy control subjects in our study limits its interpretation. Another study limitation is a lack of replication of our findings in an independent sample.

Although akathisia occurs more frequently following the use of high-potency FGAs, such as haloperidol (15–40%), its development has been also observed with certain SGAs [63,64]. Since antipsychotic drug type has been identified as a risk factor for akathisia [31], further studies should test a wider range of antipsychotics for the association observed between the *HRT1B* polymorphism and akathisia. Our results could be of further importance if we consider that akathisia is not limited to antipsychotic medication. Antidepressants, especially selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI) [65], monoamine oxidase inhibitors (MAOI) [66] and tricyclic antidepressants (TCA) [67], have also been associated with akathisia. Therefore, if confirmed, the *HTR1B* rs13212041 polymorphism could be a pharmacogenetic predictor of akathisia, to allow better selection of pharmacotherapy and reduction of EPS, resulting in better patient compliance and quality of life. As severe akathisia symptoms can lead to poor adherence to medications, exacerbation of psychiatric symptoms as well as aggression, violence and suicide [68], it is not surprising that interventions aimed at modulating 5-HT transmission have gathered increasing attention for treatment of akathisia [32,69]. The 5-$HT_{2A/C}$ receptor antagonists, mianserin [70], mirtazapine [71], ritanserin [72] and cyproheptadine [73], have all shown some efficacy against acute akathisia. The results of our study suggest that 5-HT_{1B} receptor agonists, such as zolmitriptan, might also be effective as akathisia treatment [74]. Further research is needed, however, in order to verify our finding

that the *HTR1B* gene polymorphism is a molecular determinant for developing akathisia, and to further expand our understanding of individual patient susceptibility to EPS induced by various medications.

4. Materials and Methods

4.1. Subjects and Clinical Evaluation

The study enrolled 229 male patients with schizophrenia recruited from the Psychiatric Hospital Popovaca and the Department of Psychiatry, University Hospital Centre Zagreb, Croatia. The subjects were all admitted to the hospitals due to acute schizophrenia exacerbation. The diagnosis of schizophrenia was made based on the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV) criteria [75]. The severity of schizophrenia symptoms was evaluated by experienced psychiatrists using the Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) [76]. The study exclusion criteria were serious somatic illnesses, neurologic disorders and a history of drug use during the previous 6 months. All of the patients enrolled had been without previous antipsychotic medication for at least 48 h. Most of the subjects had not taken antipsychotics for several months and some of them were drug naïve. Patients were treated with haloperidol (15 mg/day, orally or intramuscularly) for two weeks, and adjuvant diazepam therapy (40 mg daily) was introduced in the case of agitation, insomnia and anxiety.

The Simpson–Angus Rating Scale for Extrapyramidal Side Effects (SAS) [77], the Barnes Akathisia Rating Scale (BARS) [78] and the Extrapyramidal Symptom Rating Scale (ESRS) [79] were used to evaluate the severity of EPS during treatment with haloperidol in patients with schizophrenia. As in previous studies [16,29], EPS were defined as significant when SAS scores were > 3, and patients were subsequently subdivided into those with significant acute EPS (SAS score > 3) and those without significant acute EPS (SAS score < 3) following haloperidol monotherapy.

The following items were excluded from the ESRS scale: from part I "Parkinsonism, Dystonia, Dyskinesia and Akathisia—Questionnaire and Behavioral Scale, item 10 (Abnormal involuntary movements (dyskinesia) of extremities or trunk) and item 11 (Abnormal involuntary movements (dyskinesia) of tongue, jaw, lips or face); from part III "Dystonia: Physician´s examination": item 2 (Non-acute or chronic or tardive dystonia); and all of part IV "Dyskinetic movements: Physician´s examination" and of part V "Clinical global impression of severity of Dyskinesia".

This study was approved by the ethics committees of the Psychiatric Hospital Popovaca and of the University Hospital Centre Zagreb, and was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki, 1996 (and its amendments). All participants were Caucasians living in Croatia. Only patients who provided signed informed consent were included in the study.

4.2. Blood Collection and Genotyping

Samples of blood (4 mL) from patients with schizophrenia were collected using a plastic syringe containing 1 mL anticoagulant (acid citrate dextrose). Genomic DNA was isolated from peripheral blood leukocytes by a standard salting-out method [80]. Genotyping was performed according to the manufacturer's protocol (Applied Biosystems), using TaqMan SNP Genotyping Assays and TaqMan Genotyping Master Mix. TaqMan allele-specific polymerase chain reaction (PCR) was conducted on ABI Prism 7000 Sequencing Detection System apparatus. Briefly, 20 ng of genomic DNA was amplified in a 10 µL reaction volume, using these PCR reaction conditions: 40 cycles at 92 °C for 15 s and 60 °C for 60 s. The *HTR1A* rs6295, *HTR1B* rs13212041, *HTR2A* rs6313, *HTR2C* rs3813929 and *HTR6* rs1805054 polymorphisms were analyzed (Table 6).

Table 6. Details of the 5-HT receptor gene polymorphisms analyzed in the study.

SNP ID	Assay ID	Location	SNP Type	Context Sequence [VIC/FAM]
***HTR2A*rs6313**	C___3042197_1_	Chr. 13: 46895805 on GRCh38	Intron, Transition Substitution, Silent Mutation, Intragenic	ATGCATCAGAAGTGTTAGCTT CTCC[A/G]GAGTTAAAGTCAT TACTGTAGAGCC
***HTR2C*rs3813929**	C__27488117_10	Chr. X: 114584047 on GRCh38	Transition Substitution, Intron, Intragenic	CTGCTCTTGGCTCCTCCCCTC ATCC[C/T]GCTTTTGGCCCAA GAGCGTGGTGCA
***HTR1A*rs6295**	C__11904666_10	Chr. 5: 63962738 on GRCh38	Intron, Transversion Substitution, Intragenic	ATGGAAGAAGACCGAGTGTG TCTTC[C/G]TTTTTAAAAAGCT ACCTCCGTTCTC
***HTR1B*rs13212041**	C__32252506_10	Chr. 6: 77461407 on GRCh38	Transition Substitution, UTR 3, Intragenic	AAAAAATAAAGCAGTCTGCA GACTT[C/T]GGCACTAGCACA CATAATGGTTTGT
***HTR6*rs1805054**	C___1264819_10	Chr. 1: 19666020 on GRCh38	Transition Substitution, Silent Mutation, Intragenic	CGCCGGCCATGCTGAACGCG CTGTA[C/T]GGGCGCTGGGTG CTGGCGCGCGGCC

4.3. Data Analyses

Statistical analyses were performed with GraphPad Prism version 4.00 for Windows (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). The data are expressed as number (n) and percentage (%) or as mean ± SD. Normality of distribution was assessed with the D'Agostino–Pearson omnibus normality test. Since the data was found not to be normally distributed, the Mann–Whitney U-test was used for comparison of two groups, while the Kruskal–Wallis test and post-hoc Dunn's multiple comparison test were used for analysis of three groups. Possible deviations from HWE were tested using the goodness of fit χ^2-test. Genotype and allele frequencies were evaluated by a χ^2-test of independence or Fisher exact test, respectively. The results were corrected for multiple testing (5 polymorphisms) using Bonferroni correction, and the p-value for significance was set to 0.01. G*Power 3 Software was used for conducting power analyses, i.e., to determine a priori sample size and to post hoc compute the power achieved. For analyses with a χ^2-test (with $\alpha = 0.01$; power $(1-\beta) = 0.80$ and a small effect size ($\omega = 0.25$)), for df = 2, the total desired sample size was 223, and for df = 1 (Fisher exact test), the total desired sample size was 187. For the F test (Kruskal–Wallis test) involving three groups (with $\alpha = 0.01$; power = 0.80; a small effect size = 0.25), the total desired sample size was 227. For the t-test (Mann–Whitney test) (with $\alpha = 0.01$; power = 0.80; median effect size = 0.50), total desired sample size was 228. As the actual total sample size was 229, the power analysis confirmed the appropriate sample size and thus statistical power of the study.

5. Conclusions

To the best of our knowledge, this is the first study to report an association of the *HTR1B* rs13212041 polymorphism with antipsychotic-induced akathisia. Our results demonstrate that homozygous patients with schizophrenia who carry the TT genotype are more prone to develop akathisia and experience higher akathisia severity following haloperidol therapy than carriers of the C-allele. These molecular findings indicate the potential involvement of 5-HT_{1B} receptors in the development of akathisia in haloperidol-treated patients. As the rs13212041 polymorphism affects microRNA regulation of *HTR1B* gene expression, these data might suggest a role for epigenetic mechanisms in 5-HT modulation associated with antipsychotic-induced EPS. Further studies, including a larger number of subjects, should test a wider range of antipsychotics for association between the *HRT1B* polymorphism and akathisia, and should also include and compare male and female patients with schizophrenia. If confirmed, such pharmacogenetic predictors of EPS could be helpful toward a better selection of medication in order to reduce EPS, resulting in better patient compliance and quality of life. For schizophrenia patients for whom haloperidol remains an important treatment option, 5-HT_{1B} receptor agonists might represent a useful therapeutic approach for management of akathisia.

Author Contributions: Conceptualization, D.S.S., D.M.-S. and N.P.; project administration, D.S.S., D.M.-S., A.M.-P. and N.P.; investigation, M.G., M.Z., M.S. and M.N.P.; validation, D.S.S., M.S. and A.M.-P.; formal analysis, M.G. and D.S.S.; writing—original draft preparation, M.G. and D.S.S.; writing—review and editing, D.S.S., M.Z., A.M.-P., D.M.-S. and N.P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Acknowledgments: The authors thank Nicholas J. Bradshaw for editing the English language.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

Abbreviations

BARS	Barnes Akathisia Rating Scale
BMI	Body mass index
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition
EPS	Extrapyramidal side effects
ESRS	Extrapyramidal Symptom Rating Scale
FGAs	Typical or first-generation antipsychotics
5-HT	5-hydroxytryptamine; Serotonin
HWE	Hardy–Weinberg equilibrium
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PCR	Polymerase chain reaction
SAS	Simpson–Angus Rating Scale for Extrapyramidal Side Effects
SGAs	Atypical or second-generation antipsychotics
WHO	World Health Organization

References

1. Marder, S.R.; Cannon, T.D. Schizophrenia. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *381*, 1753–1761. [CrossRef] [PubMed]
2. Dold, M.; Samara, M.T.; Li, C.; Tardy, M.; Leucht, S. Haloperidol versus first-generation antipsychotics for the treatment of schizophrenia and other psychotic disorders. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2015**, *1*, CD009831. [CrossRef] [PubMed]
3. Uchida, H.; Takeuchi, H.; Graff-Guerrero, A.; Suzuki, T.; Watanabe, K.; Mamo, D.C. Dopamine D2 receptor occupancy and clinical effects: A systematic review and pooled analysis. *J. Clin. Psychopharm.* **2011**, *31*, 497–502. [CrossRef] [PubMed]
4. World Health Organization. *World Health Organization Model List of Essential Medicines, 21st List, 2019*; License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2019.
5. Leucht, S.; Cipriani, A.; Spineli, L.; Mavridis, D.; Orey, D.; Richter, F.; Samara, M.; Barbui, C.; Engel, R.R.; Geddes, J.R.; et al. Comparative efficacy and tolerability of 15 antipsychotic drugs in schizophrenia: A multiple-treatments meta-analysis. *Lancet* **2013**, *382*, 951–962. [CrossRef]
6. Lally, J.; MacCabe, J.H. Antipsychotic medication in schizophrenia: A review. *Br. Med. Bull.* **2015**, *114*, 169–179. [CrossRef] [PubMed]
7. Kapur, S.; Seeman, P. Antipsychotic agents differ in how fast they come off the dopamine D2 receptors. Implications for atypical antipsychotic action. *J. Psychiatry Neurosci.* **2000**, *25*, 161–166. [PubMed]
8. Farde, L.; Nordstrom, A.L.; Wiesel, F.A.; Pauli, S.; Halldin, C.; Sedvall, G. Positron emission tomographic analysis of central D1 and D2 dopamine receptor occupancy in patients treated with classical neuroleptics and clozapine. Relation to extrapyramidal side effects. *Arch. Gen. Psychiatry* **1992**, *49*, 538–544. [CrossRef]
9. Lewis, R. Typical and atypical antipsychotics in adolescent schizophrenia: Efficacy, tolerability, and differential sensitivity to extrapyramidal symptoms. *Can. J. Psychiatry* **1998**, *43*, 596–604. [CrossRef]
10. McIntyre, R.S.; Konarski, J.Z. Tolerability profiles of atypical antipsychotics in the treatment of bipolar disorders. *J. Clin. Psychiatry* **2005**, *66*, 28–36.
11. Muscettola, G.; Barbato, G.; Pampallona, S.; Casiello, M.; Bollini, P. Extrapyramidal syndromes in neuroleptic-treated patients: Prevalence, risk factors, and association with tardive dyskinesia. *J. Clin. Psychopharmacol.* **1999**, *19*, 203–208. [CrossRef]

12. Brockmoller, J.; Kirchheiner, J.; Schmider, J.; Walter, S.; Sachse, C.; Muller- Oerlinghausen, B.; Roots, I. The impact of the CYP2D6 polymorphism on haloperidol pharmacokinetics and on the outcome of haloperidol treatment. *Clin. Pharm. Ther.* **2002**, *72*, 438–452. [CrossRef] [PubMed]
13. Crescenti, A.; Mas, S.; Gasso, P.; Parellada, E.; Bernardo, M.; Lafuente, A. CYP2D6*3, *4, *5 and *6 polymorphisms and antipsychotic-induced extrapyramidal side-effects in patients receiving antipsychotic therapy. *Clin. Exper. Pharm. Physiol.* **2008**, *35*, 807–811. [CrossRef] [PubMed]
14. Bakker, P.R.; Van Harten, P.N.; Van Os, J. Antipsychotic-induced tardive dyskinesia and polymorphic variations in COMT, DRD2, CYP1A2 and MnSOD genes: A meta-analysis of pharmacogenetic interactions. *Mol. Psychiatry* **2008**, *13*, 544–556. [CrossRef] [PubMed]
15. Lafuente, A.; Bernardo, M.; Mas, S.; Crescenti, A.; Aparici, M.; Gasso, P.; Deulofeu, R.; Mane, A.; Catalan, R.; Carne, X. Polymorphism of dopamine D2 receptor (TaqIA, TaqIB, and-141C Ins/ Del) and dopamine degradation enzyme (COMT G158A, A-278G) genes and extrapyramidal symptoms in patients with schizophrenia and bipolar disorders. *Psychiatry Res.* **2008**, *161*, 131–141. [CrossRef]
16. Zivković, M.; Mihaljević-Peles, A.; Bozina, N.; Saqud, M.; Nikolac-Perkovic, M.; Vuksan-Cusa, B.; Muck-Seler, D. The association study of polymorphisms in DAT, DRD2, and COMT genes and acute extrapyramidal adverse effects in male schizophrenic patients treated with haloperidol. *J. Clin. Psychopharmacol.* **2013**, *33*, 593–599. [CrossRef]
17. Güzey, C.; Scordo, M.G.; Spina, E.; Landsem, V.M.; Spigset, O. Antipsychotic-induced extrapyramidal symptoms in patients with schizophrenia: Associations with dopamine and serotonin receptor and transporter polymorphisms. *Eur. J. Clin. Pharm.* **2007**, *63*, 233–241. [CrossRef]
18. D'Souza, R.S.; Hooten, W.M. Extrapyramidal Symptoms (EPS). In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jan-. Available online: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534115/ (accessed on 28 March 2020).
19. Givens, C.J. Adverse Drug Reactions Associated with Antipsychotics, Antidepressants, Mood Stabilizers, and Stimulants. *Nurs. Clin. North. Am.* **2016**, *51*, 309–321. [CrossRef]
20. Malhotra, A.K.; Litman, R.E.; Pickar, D. Adverse effects of antipsychotic drugs. *Drug Saf.* **1993**, *9*, 429–436. [CrossRef]
21. Miyamoto, S.; Duncan, G.E.; Marx, C.E.; Lieberman, J.A. Treatment of schizophrenia; a critical review of pharmacology and mechanism of action of antipsychotic drugs. *Mol. Psychiatry* **2005**, *10*, 79–104. [CrossRef]
22. Di Giovanni, G.; Svob Strac, D.; Sole, M.; Unzeta, M.; Tipton, K.F.; Mück-Šeler, D.; Bolea, I.; Della Corte, L.; Nikolac Perkovic, M.; Pivac, N.; et al. Monoaminergic and Histaminergic Strategies and Treatments in Brain Diseases. *Front. Neurosci.* **2016**, *10*, 541. [CrossRef]
23. Alex, K.D.; Pehek, E.A. Pharmacologic mechanisms of serotonergic regulation of dopamine neurotransmission. *Pharm* **2007**, *113*, 296–320. [CrossRef] [PubMed]
24. De Deurwaerdere, P.; Di Giovanni, G. Serotonergic modulation of the activity of mesencephalic dopaminergic systems: Therapeutic implications. *Prog. Neurobiol.* **2017**, *151*, 175–236. [CrossRef] [PubMed]
25. Di Giovanni, G.; De Deurwaerdere, P. New therapeutic opportunities for 5-HT2C receptor ligands in neuropsychiatric disorders. *Pharm* **2016**, *157*, 125–162. [CrossRef] [PubMed]
26. Lerer, B.; Segman, R.H.; Tan, E.C.; Basile, V.S.; Cavallaro, R.; Aschauer, H.N.; Strous, R.; Chong, S.A.; Heresco-Levy, U.; Verga, M.; et al. Combined analysis of 635 patients confirms an age-related association of the serotonin 2A receptor gene with tardive dyskinesia and specificity for the non-orofacial subtype. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2005**, *8*, 411–425. [CrossRef] [PubMed]
27. Zhang, Z.J.; Zhang, X.B.; Sha, W.W.; Zhang, X.B.; Reynolds, G.P. Association of a polymorphism in the promoter region of the serotonin 5-HT2C receptor gene with tardive dyskinesia in patients with schizophrenia. *Mol. Psychiatry* **2002**, *7*, 670–671. [CrossRef] [PubMed]
28. Gunes, A.; Scordo, M.G.; Jaanson, P.; Dahl, M.L. Serotonin and dopamine receptor gene polymorphisms and the risk of extrapyramidal side effects in perphenazinetreated schizophrenic patients. *Psychopharmacol. (Berl)* **2007**, *190*, 479–484. [CrossRef]
29. Mas, S.; Gassó, P.; Lafuente, A.; Bioque, M.; Lobo, A.; Gonzàlez-Pinto, A.; Olmeda, M.S.; Corripio, I.; Llerena, A.; Cabrera, B.; et al. Pharmacogenetic study of antipsychotic induced acute extrapyramidal symptoms in a first episode psychosis cohort: Role of dopamine, serotonin and glutamate candidate genes. *Pharm. J.* **2016**, *16*, 439–445. [CrossRef]

30. Zhang, J.P.; Malhotra, A.K. Pharmacogenetics and antipsychotics: Therapeutic efficacy and side effects prediction. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2011**, *7*, 9–37. [CrossRef]
31. Miller, C.H.; Fleischhacker, W.W. Managing antipsychotic-induced acute and chronic akathisia. *Drug Saf.* **2000**, *22*, 73–81. [CrossRef]
32. Dayalu, P.; Chou, K.L. Antipsychotic-induced extrapyramidal symptoms and their management. *Expert Opin. Pharm.* **2008**, *9*, 1451–1462. [CrossRef]
33. Salem, H.; Nagpal, C.; Pigott, T.; Teixeira, A.L. Revisiting Antipsychotic-induced Akathisia: Current Issues and Prospective Challenges. *Curr. Neuropharmacol.* **2017**, *15*, 789–798. [CrossRef] [PubMed]
34. Caroff, S.N.; Mann, S.C.; Campbell, E.C.; Sullivan, K.A. Movement disorders associated with atypical antipsychotic drugs. *J. Clin. Psychiatry* **2002**, *63*, 12–19. [PubMed]
35. Ohno, Y.; Shimizu, S.; Tokudome, K. Pathophysiological roles of serotonergic system in regulating extrapyramidal motor functions. *Biol. Pharm. Bull.* **2013**, *36*, 1396–1400. [CrossRef] [PubMed]
36. Gunes, A.; Dahl, M.L.; Spina, E.; Scordo, M.G. Further evidence for the association between 5-HT2C receptor gene polymorphisms and extrapyramidal side effects in male schizophrenic patients. *Eur. J. Clin. Pharm.* **2008**, *64*, 477–482. [CrossRef]
37. Al-Janabi, I.; Arranz, M.J.; Blakemore, A.I.; Saiz, P.A.; Susce, M.T.; Glasser, P.E.; Clark, D.; De Leon, J. Association study of serotonergic gene variants with antipsychotic-induced adverse reactions. *Psychiatr. Genet.* **2009**, *19*, 305–311. [CrossRef]
38. Al Hadithy, A.F.; Ivanova, S.A.; Pechlivanoglou, P.; Semke, A.; Fedorenko, O.; Kornetova, E.; Ryadovaya, L.; Brouwers, J.R.; Wilffert, B.; Bruggeman, R.; et al. Tardive dyskinesia and DRD3, HTR2A and HTR2C gene polymorphisms in Russian psychiatric inpatients from Siberia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2009**, *33*, 475–481. [CrossRef]
39. Knol, W.; Van Marum, R.J.; Jansen, P.A.; Strengman, E.; Al Hadithy, A.F.; Wilffert, B.; Schobben, A.F.; Ophoff, R.A.; Egberts, T.C. Genetic variation and the risk of haloperidol-related parkinsonism in elderly patients: A candidate gene approach. *J. Clin. Psychopharmacol.* **2013**, *33*, 405–410. [CrossRef]
40. Jensen, K.P.; Covault, J.; Conner, T.S.; Tennen, H.; Kranzler, H.R.; Furneaux, H.M. A common polymorphism in serotonin receptor 1B mRNA moderates regulation by miR-96 and associates with aggressive human behaviors. *Mol. Psychiatry* **2009**, *14*, 381–389. [CrossRef]
41. Sempere, L.F.; Freemantle, S.; Pitha-Rowe, I.; Moss, E.; Dmitrovsky, E.; Ambros, V. Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation. *Genome Biol.* **2004**, *5*, R13. [CrossRef]
42. Tang, H.; Dalton, C.F.; Srisawat, U.; Zhang, Z.J.; Reynolds, G.P. Methylation at a transcription factor-binding site on the 5-HT1A receptor gene correlates with negative symptom treatment response in first episode schizophrenia. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2014**, *17*, 645–649. [CrossRef]
43. Swathy, B.; Banerjee, M. Haloperidol induces pharmacoepigenetic response by modulating miRNA expression, global DNA methylation and expression profiles of methylation maintenance genes and genes involved in neurotransmission in neuronal cells. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0184209. [CrossRef] [PubMed]
44. Melas, P.A.; Rogdaki, M.; Osby, U.; Schalling, M.; Lavebratt, C.; Ekstrom, T.J. Epigenetic aberrations in leukocytes of patients with schizophrenia: Association of global DNA methylation with antipsychotic drug treatment and disease onset. *Faseb. J.* **2012**, *26*, 2712–2718. [CrossRef] [PubMed]
45. Li, J.; Guo, Y.; Schroeder, F.A.; Youngs, R.M.; Schmidt, T.W.; Ferris, C.; Konradi, C.; Akbarian, S. Dopamine D2-like antagonists induce chromatin remodeling in striatal neurons through cyclic AMP-protein kinase A and NMDA receptor signaling. *J. Neurochem.* **2004**, *90*, 1117–1131. [CrossRef] [PubMed]
46. Santarelli, D.M.; Liu, B.; Duncan, C.E.; Beveridge, N.J.; Tooney, P.A.; Schofield, P.R.; Cairns, M.J. Gene-microRNA interactions associated with antipsychotic mechanisms and the metabolic side effects of olanzapine. *Psychopharmacol (Berl)* **2013**, 67–78. [CrossRef] [PubMed]
47. Perkins, D.O.; Jeffries, C.D.; Jarskog, L.F.; Thomson, J.M.; Woods, K.; Newman, M.A.; Parker, J.S.; Jin, J.; Hammond, S.M. microRNA expression in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia and schizoaffective disorder. *Genome Biol.* **2007**, *8*, R27. [CrossRef] [PubMed]
48. Fehér, L.Z.; Kálmán, J.; Puskás, L.G.; Gyülvészi, G.; Kitajka, K.; Penke, B.; Palotás, M.; Samarova, E.I.; Molnár, J.; Zvara, A.; et al. Impact of haloperidol and risperidone on gene expression profile in the rat cortex. *Neurochem. Int.* **2005**, *47*, 271–280. [CrossRef]

49. MacGibbon, G.; Lawlor, P.; Bravo, R.; Dragunow, M. Clozapine and haloperidol produce a differential pattern of immediate early gene expression in rat caudate-putamen, nucleus accumbens, lateral septum and islands of Calleja. *Brain Res. Mol. Brain Res.* **1994**, *23*, 21–32. [CrossRef]
50. Audinot, V.; Newman-Tancredi, A.; Cussac, D.; Millan, M.J. Inverse agonist properties of antipsychotic agents at cloned, human (h) serotonin (5-HT)(1B) and h5-HT(1D) receptors. *Neuropsychopharmacology* **2001**, *25*, 410–422. [CrossRef]
51. De Deurwaerdere, P.; Bharatiya, R.; Chagraoui, A.; Di Giovanni, G. Constitutive activity of 5-HT receptors: Factual analysis. *Neuropharmacology* **2020**, *107967*. [CrossRef]
52. Bonhomme, N.; De Deurwaerdere, P.; Le Moal, M.; Spampinato, U. Evidence for 5-HT4 receptor subtype involvement in the enhancement of striatal dopamine release induced by serotonin: A microdialysis study in the halothane-anesthetized rat. *Neuropharmacology* **1995**, *34*, 269–279. [CrossRef]
53. Navailles, S.; De Deurwaerdere, P. Presynaptic control of serotonin on striatal dopamine function. *Psychopharmacol. (Berl).* **2011**, *213*, 213–242. [CrossRef] [PubMed]
54. Lucas, J.J.; Segu, L.; Hen, R. 5-Hydroxytryptamine1B receptors modulate the effect of cocaine on c-fos expression: Converging evidence using 5-hydroxytryptamine1B knockout mice and the 5-hydroxytryptamine1B/1D antagonist GR127935. *Mol. Pharmacol.* **1997**, *51*, 755–763. [CrossRef] [PubMed]
55. Jackson, M.J.; Al-Barghouthy, G.; Pearce, R.K.; Smith, L.; Hagan, J.J.; Jenner, P. Effect of 5-HT1B/D receptor agonist and antagonist administration on motor function in haloperidol and MPTP-treated common marmosets. *Pharm. Biochem. Behav.* **2004**, *79*, 391–400. [CrossRef] [PubMed]
56. Jaunarajs, K.L.; Dupre, K.B.; Steiniger, A.; Klioueva, A.; Moore, A.; Kelly, C.; Bishop, C. Serotonin 1B receptor stimulation reduces D1 receptor agonist-induced dyskinesia. *Neuroreport* **2009**, *20*, 1265–1269. [CrossRef] [PubMed]
57. Barnes, N.M.; Sharp, T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* **1999**, *38*, 1083–1152. [CrossRef]
58. Rainier-Pope, C.R. Treatment with diazepam of children with drug-induced extrapyramidal symptoms. *S. Afr. Med. J.* **1979**, *55*, 328–330. [PubMed]
59. Director, K.L.; Muniz, C.E. Diazepam in the treatment of extrapyramidal symptoms: A case report. *J. Clin. Psychiatry* **1982**, *43*, 160–161. [PubMed]
60. Aichhorn, W.; Gasser, M.; Weiss, E.M.; Adlassnig, C.; Marksteiner, J. Gender Differences in Pharmacokinetics and Side Effects of Second Generation Antipsychotic Drugs. *Curr. Neuropharmacol.* **2005**, *3*, 73–85. [CrossRef]
61. Li, R.; Ma, X.; Wang, G.; Yang, J.; Wang, C. Why sex differences in schizophrenia? *J. Transl. Neurosci. (Beijing).* **2016**, *1*, 37–42. [CrossRef]
62. Xia, X.; Ding, M.; Xuan, J.F.; Xing, J.X.; Pang, H.; Wang, B.J.; Yao, J. Polymorphisms in the human serotonin receptor 1B (HTR1B) gene are associated with schizophrenia: A case control study. *BMC Psychiatry* **2018**, *18*, 303. [CrossRef]
63. Kumar, R.; Sachdev, P. Akathisia and second-generation antipsychotic drugs. *Curr. Opin. Psychiatry* **2009**, *22*, 293–299. [CrossRef] [PubMed]
64. De Deurwaerdere, P. Cariprazine: New dopamine biased agonist for neuropsychiatric disorders. *Drugs Today (Barc).* **2016**, *52*, 97–110. [CrossRef] [PubMed]
65. Hawthorne, J.M.; Caley, C.F. Extrapyramidal reactions associated with serotonergic antidepressants. *Ann. Pharm.* **2015**, *49*, 1136–1152. [CrossRef] [PubMed]
66. Anderson, H.D.; Pace, W.D.; Libby, A.M.; West, D.R.; Valuck, R.J. Rates of 5 common antidepressant side effects among new adult and adolescent cases of depression: A retrospective US claims study. *Clin* **2012**, *34*, 113–123. [CrossRef]
67. Madhusoodanan, S.; Alexeenko, L.; Sanders, R.; Brenner, R. Extrapyramidal symptoms associated with antidepressants: A review of the literature and an analysis of spontaneous reports. *Ann. Clin. Psychiatry* **2010**, *22*, 148–156. [PubMed]
68. Cem Atbasoglu, E.C.; Schultz, S.K.; Andreasen, N.C. The relationship of akathisia with suicidality and depersonalization among patients with schizophrenia. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* **2001**, *13*, 336–341. [CrossRef]
69. Stroup, T.S.; Gray, N. Management of common adverse effects of antipsychotic medications. *World Psychiatry* **2018**, *17*, 341–356. [CrossRef]

70. Poyurovsky, M.; Shardorodsky, M.; Fuchs, C.; Schneidman, M.; Weizman, A. Treatment of neuroleptic induced akathisia with the 5-HT2 antagonist mianserin. Double-blind, placebo-controlled study. *Br. J. Psychiatry* **1999**, *174*, 238–242. [CrossRef]
71. Praharaj, S.K.; Kongasseri, S.; Behere, R.V.; Sharma, P.S. Mirtazapine for antipsychotic induced acute akathisia: A systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Adv. Psychopharmacol.* **2015**, *5*, 307–313. [CrossRef]
72. Miller, C.H.; Hummer, M.; Pycha, R.; Fleischhacker, W.W. The effect of ritanserin on treatment resistant neuroleptic induced akathisia: Case reports. *Pro. G Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **1992**, *16*, 247–251. [CrossRef]
73. Fischel, T.; Hermesh, H.; Aizenberg, D.; Zemishlany, Z.; Munitz, H.; Benjamini, Y.; Weizman, A. Cyproheptadine versus propranolol for the treatment of acute neuroleptic-induced akathisia: A comparative double-blind study. *J. Clin. Psychopharmacol.* **2001**, *21*, 612–615. [CrossRef] [PubMed]
74. Avital, A.; Gross-Isseroff, R.; Stryjer, R.; Hermesh, H.; Weizman, A.; Shiloh, R. Zolmitriptan compared to propranolol in the treatment of acute neuroleptic-induced akathisia: A comparative double-blind study. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2009**, *19*, 476–482. [CrossRef] [PubMed]
75. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th ed.; American Psychiatric Press: Washington, DC, USA, 1994.
76. Kay, S.R.; Fiszbein, A.; Opler, L.A. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr. Bull.* **1987**, *13*, 261–276. [CrossRef] [PubMed]
77. Simpson, G.M.; Angus, J.W.S. A rating scale for extrapyramidal side effects. *Acta Psychiatr. Scand.* **1970**, *212*, 11–19. [CrossRef]
78. Barnes, T.R.E. A rating scale for drug-induced akathisia. *Br. J. Psychiatry* **1989**, *154*, 672–676. [CrossRef]
79. Chouinard, G.; Ross-Chouinard, A.; Annable, L.; Jones, B. The extrapyramidal symptom rating scale. *Can. J. Neurol. Sci.* **1980**, *7*, 233–244.
80. Miller, S.A.; Dykes, D.D.; Polesky, H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res.* **1988**, *16*, 1215. [CrossRef]



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet Doktorski rad

POVEZANOST POLIMORFIZAMA GENA ZA SEROTONINSKE 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT2A, 5-HT2C I 5-HT6 RECEPTORE U OBOLJELIH OD SHIZOFRENIJE I AKUTNIH EKSTRAPIRAMIDALNIH NUSPOJAVA ANTIPSIHOTIKA HALOPERIDOLA

MIRKO GRUBOR

Uvod: Shizofrenija je kronični psihijatrijski poremećaj koji zahtijeva cjeloživotno liječenje. Ekstrapiramidalne nuspojave (EPS) česte su nuspojave antipsihotičkih lijekova. Uz dopaminergički sustav, u razvoj EPS-ova mogu biti uključeni i serotonergički mehanizmi putem serotoninskih (5-HT) receptora.
Svrha rada: Istražiti povezanost polimorfizama gena *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C* i *HTR6* s akutnim EPS-ovima u bolesnika sa shizofrenijom nakon terapije haloperidolom.
Medode i ispitanici: Simpson Angusova ljestvica za EPS-ove (SAS), Barnesova ljestvica za akatiziju (BARS) i Ljestvica za ocjenu EPS simptoma (ESRS) korištene su za procjenu težine EPS-ova nakon dvotjedne terapije haloperidolom u 229 muškaraca s dijagnozom shizofrenije prema DSM-IV kriterijima. Genotipizacija je provedena lančanom reakcijom polimeraze u stvarnom vremenu, nakon izolacije DNA iz krvi.
Rezultati: Značajne akutne EPS-ove prijavilo je 48,03 % bolesnika sa shizofrenijom. Nositelji TT genotipa *HTR1B* rs13212041 polimorfizma razvili su simptome akatizije nakon terapije haloperidolom učestalije i u težem obliku od nositelja CT genotipa i C alela. Primjećene su i značajne razlike između nositelja CC i CT genotipova *HTR2A* rs6313 polimorfizma u broju ESRS bodova za rigidnost, te između nositelja CC i TT genotipova *HTR6* rs1805054 polimorfizma u broju SAS i ESRS bodova za tremor. *HTR2C* rs3813929-rs518147 haplotip TG bio je češći u bolesnika bez akutnih EPS-ova nego u bolesnika s akutnim EPS-ovima nakon terapije haloperidolom.
Zaključak: Rezultati upućuju na genotipsku i haplotipsku povezanost pojedinih polimorfizama *HTR1B, HTR2A, HTR2C* i *HTR6* gena s akutnim EPS-ovima izazvanim primjenom haloperidola u oboljelih od shizofrenije.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Rad sadrži: 203 stranice, 18 slika, 45 tablica i 546 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: shizofrenija; haloperidol; akutne ekstrapiramidalne nuspojave, serotoninski receptori; polimorfizmi; *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C* i *HTR*6 geni

Mentori: doc. dr. sc. Dubravka Švob Štrac, viša znanstvena suradnica, Institut Ruđer Bošković
izv. prof. dr .sc. Lidija Bach-Rojecky, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Povjerenstvo: prof. dr. sc. Karmela Barišić, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet
prof. dr. sc. Nada Božina, Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet
izv. prof. dr. sc. Sanja Dabelić, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Rad je prihvaćen: 23. rujna 2020.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry Doctoral thesis

THE ASSOCIATION BETWEEN SEROTONIN RECEPTOR 5-HT1A, 5 HT1B, 5-HT2A, 5-HT2C AND 5-HT6 GENE POLYMORPHISMS AND ACUTE EXTRAPYRAMIDAL SIDE EFFECTS IN HALOPERIDOL-TREATED PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

MIRKO GRUBOR

Backgorund: Schizophrenia is chronic psychiatric disorder requiring lifelong treatment. Extrapyramidal side effects (EPS) are common adverse drug reactions of antipsychotics. In addition to the dopaminergic system, serotonergic mechanisms via serotonin (5-HT) receptors might be also involved in the development of EPS.
Aim of study: The aim of the study was to examine the associations of *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C* and *HTR6* gene polymorphisms with acute EPS in schizophrenia patients following haloperidol therapy.
Methods and patients: Simpson Angus Rating Scale for EPS (SAS), Barnes Akathisia Rating Scale (BARS) and EPS Rating Scale (ESRS) were used to evaluate EPS severity in 229 schizophrenia-diagnosed males (DSM-IV criteria). Genotyping was performed using Real-Time PCR following extraction of blood DNA.
Results: Significant acute EPS appeared in 48,03 % of schizophrenia patients. In the case of *HTR1B* rs13212041 polymorphism, carriers of TT genotype developed akathisia more often and with more severe symptoms following haloperidol therapy then carriers of CT genotype and C allele. Significant differences were observed between carriers of CC and CT genotypes of *HTR2A* rs6313 polymorphism in the number of ESRS scores for rigidity, and between carriers of CC and TT genotypes of *HTR6* rs1805054 polymorphism in the number of SAS and ESRS scores for tremor. The *HTR2C* rs3813929-rs518147 TG haplotype was more frequent in patients without acute EPS than in patients who developed acute EPS after haloperidol therapy.
Conclusion: Results suggest the genotypic and haplotypic association of selected polymorphisms in *HTR1B, HTR2A, HTR2C* and *HTR6* genes with haloperidol-induced acute EPS in patients with schizophrenia.

Thesis includes: 203 pages, 18 figures, 45 tables and 546 references. Original is in Croatian language.

Keywords: schizophrenia; haloperidol; acute extrapyramidal side effects, serotonin receptors; polymorphisms; *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C* and *HTR6* genes

Supervisors: Assistant professor Dubravka Švob Štrac, PhD, Senior Reasearch Associate, Ruđer Bošković Institute
Associate professor Lidija Bach-Rojecky, PhD, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb

Reviewers: Professor Karmela Barišić, PhD, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb
Professor Nada Božina, PhD, School of Medicine University of Zagreb
Associate professor Sanja Dabelić, PhD, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb

Accepted: September 23rd, 2020.