Povezanost polimorfizma gena za katehol-O-metil transferazu i monoaminooksidazu tipa B s anhedonijom u bolesnika sa shizofrenijom

Madžarac, Zoran

Doctoral thesis / Disertacija

2021

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:253641

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Zoran Madžarac

Povezanost polimorfizma gena za katehol-O-metil transferazu i monoaminooksidazu tipa B s anhedonijom u bolesnika sa shizofrenijom

DISERTACIJA

Zagreb, 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Zoran Madžarac

Povezanost polimorfizma gena za katehol-O-metil transferazu i monoaminooksidazu tipa B s anhedonijom u bolesnika sa shizofrenijom

DISERTACIJA

Zagreb, 2021.

Disertacija je izrađena u Klinici za psihijatriju i psihološku medicinu, Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Laboratoriju za molekularnu neuropsihijatriju, pri Zavodu za molekularnu medicinu, Instituta Ruđer Bošković.

Voditeljice rada: prof. dr. sc. Marina Šagud, izvanredna profesorica Medicinskog fakulteta u Zagrebu i prof. dr. sc. Nela Pivac, znanstvena savjetnica u trajnom zvanju na Institutu Ruđer Bošković i redovita profesorica Sveučilišta u Osijeku.

ZAHVALA

Osobito se zahvaljujem svojim mentoricama prof. dr. sc. Marini Šagud i prof. dr. sc. Neli Pivac, na poticaju, podršci, uloženom trudu, te stručnim i znanstvenim savjetima, u provedbi istraživanja i pisanju disertacije.
Zahvaljujem se svim kolegama koju su pomogli i pridonijeli istraživanju.

SADRŽAJ

1. Uvod i svrha rada 1

1.1. Definicija shizofrenije 1

1.2. Dijagnoza shizofrenije 1

1.3. Epidemiologija shizofrenije 3

1.4. Simptomi shizofrenije 4

1.4.1. Negativni simptomi shizofrenije 5

1.4.2. Anhedonija 8

1.4.3. Biologija anhedonije 10

1.5. Etiologija shizofrenije 11

1.5.1. Dopaminski sustav 13

1.5.2. Serotoninski i glutamatni sustav 18

1.6. Genetski etiološki čimbenici 19

1.7. Polimorfizmi gena za katehol-O-metiltransferazu (COMT) 23

1.7.1. COMT rs4680 24

1.7.2. COMT rs4818 27

1.8. Polimorfizmi gena za monoaminooksidazu tipa B (MAO-B) 28

2. Hipoteza 32

3. Ciljevi rada 33

3.1. Opći cilj 33

3.2. Specifični ciljevi 33

4. Materijali i metode 34

4.1. Ispitanici 34

4.2. Klinički dio istraživanja 34

4.2.1. Sociodemografski i klinički podaci 35

4.2.2. Procjena težine simptoma 35

4.2.2.1. Procjena anhedonije 36

4.3. Eksperimentalni dio istraživanja 37

4.3.1. Izolacija DNK 37

4.3.2. Genotipizacija obzirom na polimorfizme gena COMT i MAO-B 38

4.4. Statistička obrada podataka 40
5. Rezultati 41
5.1. Demografski podaci 41
5.2. Povezanost polimorfizama gena za COMT s anhedonijom i negativnim simptomima 50
5.2.1. COMT rs4680 52
5.2.2. COMT rs4818 58
5.2.3. Haplotipska analiza COMT rs4818-rs4680 64
5.3. Povezanost polimorfizama gena za MAO-B s anhedonijom i negativnim simptomima 69
5.3.1. MAO-B rs1799836 71
5.3.2. MAO-B rs6651806 74
5.3.3. Haplotipska analiza MAO-B rs1799836-rs6651806 80
6. Rasprava 86
6.1. Sažetak glavnih rezultata 86
6.2. Demografski podaci 87
6.2.1. Demografski podaci i anhedonija 89
6.3. Povezanost polimorfizama gena za COMT s anhedonijom i negativnim simptomima 90
6.3.1. COMT rs4680 90
6.3.2. COMT rs4818 96
6.3.3. Haplotip COMT rs4818-rs4680 98
6.4. Povezanost polimorfizama gena za MAO-B s anhedonijom i negativnim simptomima 99
6.4.1. MAO-B rs1799836 99
6.4.2. MAO-B rs6651806 101
6.4.3. Haplotip MAO-B rs1799836-rs6651806 103
6.5. Ograničenja istraživanja 104
7. Zaključak 106
8. Kratki sadržaj 108
9. Kratki sadržaj na engleskom jeziku (Summary) 109

10. Popis literature 110
11. Kratka biografija 130

POPIS OZNAKA I KRATICA

BNSS	Kratka ljestvica negativnih simptoma (engl. *Brief Negative Symptom Scale*)
CAINS	Intervju za kliničku procjenu negativnih simptoma (engl. *Clinical Assessment Interview for Negative Symptoms*)
CDSS	Calgary ljestvica depresije za shizofreniju (engl. *Calgary Depression Scale for Schizophrenia*)
COMT	katehol-O-metiltransferaza
DAT	dopaminski transporter
DNK	deoksiribonukleinska kiselina
DRD2	dopaminski receptor D2
GABA	gama-aminomaslačna kiselina (engl. *gamma-aminobutyric acid*)
GAF	Globalna procjena funkcionalnosti (engl. *Global Assessment of Functioning*)
GWAS	Cjelogenomska studija povezanosti (engl. *genome wide association study*)
LD	neravnoteža udruživanja (engl. *linkage disequilibrium*)
MAO-B	monoaminooksidaza tipa B
mRNK	glasnička (engl. *messenger*) ribonukleinska kiselina
NMDA	N-metil-D-aspartat
PANSS	Ljestvica pozitivnih i negativnih sindroma shizofrenije (engl. *Positive and Negative Syndrome Scale*)
PTSP	posttraumatski stresni poremećaj
RPAS	Revidirana ljestvica za procjenu fizičke anhedonije (engl. *Revised Physical Anhedonia Scale*)
RSAS	Revidirana ljestvica za procjenu socijalne anhedonije (engl. *Revised Social Anhedonia Scale*)
SANS	Ljestvice za procjenu negativnih simptoma (engl. *Scale for the Assessment of Negative Symptoms*)
SNP	polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*)

VTA	ventralno tegmentalno područje (engl. *ventral tegmental area*)
χ^2	hi-kvadrat test

1. UVOD I SVRHA RADA

1.1. Definicija shizofrenije

Shizofrenija spada u najteže psihijatrijske poremećaje koji pogađa oko 1% svjetske populacije. Termin shizofrenija obuhvaća heterogenu skupinu kliničkih oblika bolesti, a u većini slučajeva je kronična bolest rekurentnog toka, obilježena izmjenama akutnih psihotičnih epizoda i djelomičnih ili kompletnih remisija s dugoročnim propadanjem kognitivnih funkcija, te kronično otežanom psihosocijalnom prilagodbom. Najčešće počinje u ranoj odrasloj dobi, a pojavi bolesti prethodi prodromalna faza koja može trajati mjesecima, pa i godinama. Svaka nova akutna psihotična epizoda dovodi do daljnjeg pogoršanja stanja, a kod dijela bolesnika u konačnici i do teške socijalne i radne disfunkcije (1).

Heterogenost kliničke prezentacije shizofrenije opisuje tzv. peterokutni model simptoma koji obuhvaća pozitivne, negativne, kognitivne (spoznajne), afektivne (promijenjenog raspoloženja) i agresivne simptome. Klinička prezentacija shizofrenije je raznovrsna, uz različiti tijek i odgovor na liječenje. Temelj liječenja čine antipsihotici, psihološke i socijalne metode liječenja. Suvremeni antipsihotici unaprijedili su liječenje shizofrenije zbog šireg spektra djelovanja i zbog povoljnijeg profila nuspojava. Antipsihotici su učinkoviti u kontroliranju pozitivnih simptoma i sprječavanju relapsa, ali su manje učinkoviti u liječenju negativnih i kognitivnih simptoma (2).

Shizofrenija predstavlja veliki teret za pojedinca i zajednicu (3), a prosječno skraćuje život oboljelih za 10 do čak 20 godina (4,5). Povećana smrtnost uzrokovana je visokom stopom suicida, brojnim somatskim komorbiditetima, ovisnosti o nikotinu, određenim nuspojavama antipsihotika, te lošijim socioekonomskim položajem bolesnika (4). Sve navedeno je veliki izazov za društvo u cjelini, te su potrebna daljnja istraživanja ove bolesti, otkrivanja što boljeg tretmana i poboljšanja krajnjeg ishoda.

1.2. Dijagnoza shizofrenije

Dosadašnja istraživanja nisu pronašla pouzdan biološki pokazatelj kojim bi se shizofrenija potvrdila ili isključila, stoga se dijagnoza postavlja na temelju međunarodno usuglašenih kliničkih

kriterija navedenih u 10. reviziji Međunarodne klasifikacije bolesti (Međunarodna klasifikacija bolesti i srodnih zdravstvenih problema – MKB-10 – deseta revizija) i 5. izdanju Dijagnostičkog i statističkog priručnika za duševne poremećaje Američkog psihijatrijskog udruženja – DSM-5 (engl. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, APA, 2013) (Tablica 1.1.).

Tablica 1.1. Dijagnostički kriteriji za shizofreniju prema MKB-10 i DSM-5

MKB-10 (Dijagnostičke kategorije F20.0 – F20.9) Najmanje prisutan jedan od sindroma, simptoma ili znakova od A do D, ili najmanje dva od simptoma ili znakova od E do J, a u trajanju od najmanje mjesec dana (a za shizofreniju simpleks trajanje simptoma je najmanje godinu dana). A. Jeka misli, nametanje ili oduzimanje misli i emitiranje misli B. Sumanute ideje upravljanja, utjecaja ili pasivnosti, koje se jasno odnose na tijelo i kretanje udova, ili pak na specifične misli, postupke ili osjećaje; i sumanuto percipiranje C. Halucinatorni glasovi koji komentiraju bolesnikovo ponašanje, ili međusobno razgovaraju o njemu, ili pak druge vrste halucinatornih glasova koji potječu iz nekog dijela tijela D. Trajne sumanute ideje druge vrste, kulturno neprimjerene i sasvim nemoguće, kao primjerice o vjerskom ili političkom identitetu, o nadljudskoj moći i sposobnostima (kao npr. sposobnost upravljanja meteorološkim pojavama ili komuniciranje s izvanzemaljskim bićima) E. Perzistentne halucinacije bilo kojeg osjetilnog sustava, praćene prolaznim ili poluuobličenim sumanutim idejama bez jasnog afektivnog sadržaja, precijenjenim idejama ili uporno javljanje svakodnevno, tjednima ili mjesecima F. Prekidi misli ili ubacivanje u tijek misli, što kao posljedicu ima nepovezan ili irelevantan govor, ili neologizme G. Katatono ponašanje kao npr. uzbuđenje, zauzimanje neprirodnog položaja, voštana savitljivost, negativizam, mutizam i stupor H. „Negativni“ simptomi kao što su izrazita apatija, oskudan govor, tupost ili nesklad emocija, što obično uzrokuje socijalno povlačenje i pad socijalne efikasnosti. Mora biti jasno da nije posljedica depresije ili neuroleptičke terapije. I. Značajna i konzistentna kvalitativna promjena u nekim aspektima ponašanja koja se očituje kao gubitak inicijative i interesa, besciljnost, ispraznost i neproduktivnost, zaokupljenost sobom i socijalno povlačenje J. Značajan pad u socijalnom, školskom/fakultetskom ili radnom funkcioniranju
Dijagnostički kriteriji za shizofreniju prema DSM-5 uključuju A, B, C i D kriterije. A. Dva (ili više) od sljedećih, svaki prisutan znatan dio vremena tijekom jednomjesečnog razdoblja (ili manje, ako su bili uspješno liječeni). Barem jedan mora biti (1), (2), ili (3): 1. Sumanutosti 2. Halucinacije 3. Disocirani govor 4. Jako dezorganizirano ili katatono ponašanje 5. Negativni simptomi

B. Duljina trajanja tegoba od najmanje 1 dan do najviše 1 mjesec (kratki psihotični poremećaj), od najmanje 1 mjesec do najviše 6 mjeseci (shizofreniformni psihotični poremećaj), najmanje 6 mjeseci uključujući i prodrome (shizofrenija). Znatan dio vremena od pojave tih tegoba smanjena je razina funkcioniranja na radnom, socijalnom ili privatnom planu.
C. Ako tegobe nisu bolje objašnjene drugim poremećajima.
D. Isključuje se shizoafektivni, depresivni ili manični poremećaj sa psihotičnim obilježjima.
Kriteriji za dijagnozu po DSM-5 jesu prisutnost barem dva simptoma iz kriterija A u trajanju od najmanje mjesec dana. Najmanje jedan od tih simptoma mora biti očita prisutnost sumanutih ideja (A1), halucinacija (A2) ili disociranog govora (A3). Jako dezorganizirano ili katatono ponašanje (A4) i negativni simptomi (A5) također mogu biti prisutni. Shizofrenija uključuje oštećenje u jednom području ili više važnih područja funkcioniranja (B). Neki znakovi tog poremećaja moraju trajati neprekidno najmanje šest mjeseci.

1.3. Epidemiologija shizofrenije

Stopa prevalencije shizofrenije u svijetu varira između 0.6 i 17 na 1000, većinom između 3 i 10 na 1000 stanovnika u razdoblju od jedne godine. Cjeloživotni rizik obolijevanja od shizofrenije u svijetu je 7.2 na 1000 stanovnika (6). U Hrvatskoj je prema Registru za psihoze prevalencija shizofrenije procijenjena na 4.4 na 1000 stanovnika (7,8). Također, prema Registru za psihoze Hrvatskog zdravstveno-statističkog ljetopisa za 2018. godinu, Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, prema broju korištenih dana bolničkog liječenja, u ukupnom broju dana bolničkog liječenja zbog mentalnih poremećaja, izrazito prednjači shizofrenija s udjelom od 28,5%. Prema broju korištenih dana bolničkog liječenja, mentalni poremećaji se nalaze na prvom mjestu, s udjelom od 17.2%, u ukupnom broju dana bolničkog liječenja (9). Dobno-standardizirana stopa bolničke jednogodišnje incidencije shizofrenije i shizoafektivnog poremećaja u Hrvatskoj prosječno iznosi 0.26/1000 stanovnika starijih od 15 godina i ne razlikuje se značajno prema spolu (7). U Hrvatskoj je na 1000 živorođene djece u prosjeku njih četvero kasnije oboljelo od shizofrenije (10). Početak bolesti je najčešće u mladoj odrasloj dobi, u muškaraca se javlja ranije, najčešće prije 25. godine, a kod žena je prisutna bimodalna dobna distribucija, s jednim vrhom u dobi od 25-35 godina i drugim nakon 40. godine života (1).

1.4. Simptomi shizofrenije

Shizofrenija je klinički sindrom čija psihopatologija uključuje poremećaje u kogniciji, percepciji, raspoloženju, ponašanju, pažnji, volji i psihomotorici. Prema peterokutnom modelu, simptomi se dijele u skupine: pozitivne, negativne, kognitivne, afektivne i agresivne (11).

Pozitivni simptomi mijenjaju ili iskrivljuju doživljaj realiteta kod oboljelih. Javljaju su sumanute ideje koje se definiraju kao zablude koje nisu dostupne racionalnoj korekciji, pa tako često bolesnici doživljavaju okolinu kao ugrožavajuću u vidu paranoidnih ideja, ideja odnosa, kontrole, religiozne ideje, ideje ljubomore, erotomanske i nihilističke ideje. Za shizofreniju su tipične i sumanutosti emitiranja misli, nametanja i/ili oduzimanja misli. Obmane osjetila mogu zahvatiti sva osjetila, pa mogu biti slušne, vidne, njušne, okusne, taktilne i cenestetske. Najčešće su slušne obmane osjetila u vidu ljudskih glasova koji komentiraju ponašanje bolesnika ili glasova koji međusobno razgovaraju. Osim navedenih poremećaja u sadržaju mišljenja, u pozitivne simptome spada i formalni poremećaj mišljenja. Govor bolesnika je poremećen u vidu gubitka asocijacija, postaje disociran, u nekim slučajevima sve do potpunog gubitka asocijacija tzv. „salate od riječi". U pozitivne simptome se ubraja i dezorganizirano ponašanje koje se može manifestirati kao nesvrsishodno, regresivno ponašanje, agitacija, hostilnost i neadekvatno komuniciranje s drugim osobama.

Kognitivni simptomi odnose se na poremećaj pažnje, oštećenje izvršnih funkcija, pamćenja, verbalne fluentnosti, apstraktnog mišljenja, rješavanja problema i razumijevanja socijalnih interakcija. Dovode do trajne ometenosti mentalnih procesa, a prisutni su kod bolesnika već kod prve psihotične epizode (12).

Afektivni simptomi odnose se na poremećaje raspoloženja, anksioznost, iritabilnost i osjećaj krivnje. Afektivni simptomi su često dio kliničke slike shizofrenije i mogu se pogrešno zamijeniti s negativnim simptomima.

Agresivni simptomi uključuju verbalnu i brahijalnu agresivnost, kao i poremećaj kontrole impulsa, ali nisu specifični za shizofreniju nego se pojavljuju i kod drugih poremećaja.

Negativni simptomi su predmet ovog istraživanja, pa će biti posebno navedeni.

1.4.1. Negativni simptomi shizofrenije

Negativni simptomi su dobili takav naziv jer označavaju simptome koji su izraženi kod skupine bolesnika koji imaju slabiji odgovor na terapijske postupke, nasuprot navedenim pozitivnim simptomima. Isto tako, označavaju gubitak određenih ponašanja, interesa, motivacije i želja. Važnost negativnih simptoma bila je poznata već od Bleulera jer su prepoznati kao osnovni simptomi shizofrenije i oni koji najviše oštećuju funkcioniranje bolesnika (13). Unatoč ostvarenom napretku u liječenju pozitivnih simptoma, liječenje negativnih simptoma do sada nije ostvarilo zadovoljavajući pomak. Stoga je bilo potrebno usuglasiti koje su to kategorije negativnih simptoma važne, kojim se instrumentima mjere i procjenjuju, kako bi se istraživale i razvijale učinkovite terapijske intervencije. Postignut je konsenzus oko pet konstrukata koji odgovaraju negativnim simptomima: zaravnjen afekt, alogija, avolicija, anhedonija i asocijalnost (14). Negativni simptomi su bazični simptomi shizofrenije, te upravo oni najviše oštećuju i određuju razinu funkcioniranja bolesnika (15). Sukladno tome, u novoj DSM-5 klasifikaciji, negativni simptomi su jedna od 5 definirajućih domena shizofrenije. Međutim, od svih negativnih simptoma, klasifikacija uključuje samo smanjenu emocionalnu ekspresiju i avoliciju (16). Faktorska analiza na velikim skupinama podataka je pokazala da se negativni simptomi grupiraju u dva faktora: avolicija-apatija i deficit ekspresije (17).

U presječnom retrospektivnom istraživanju koje uključivalo oko 1500 bolesnika sa shizofrenijom, gotovo 58% ispitanika imalo je barem jedan od negativnih simptoma (18). Osim kod shizofrenije, neki od negativnih simptoma se javljaju i kod poremećaja raspoloženja, Parkinsonove bolesti, Alzheimerove demencije, Huntingtonove bolesti, epilepsije temporalnog režnja i traumatske ozljede mozga (19).

Potrebno je razdvojiti primarne od sekundarnih negativnih simptoma. Primarni negativni simptomi su osnovni simptomi shizofrenije, često se javljaju prije pozitivnih simptoma, perzistiraju i imaju lošiji klinički ishod. Sekundarni negativni simptomi mogu biti posljedica depresije, pozitivnih simptoma s kojima su vremenski povezani (npr. asocijalnost uslijed paranoidnih ideja i obmana osjetila), nuspojava antipsihotika (npr. ekstrapiramidnih nuspojava) ili socijalne izolacije. Sekundarni negativni simptomi se tretiraju na drugačiji način od primarnih. Dakle, negativni simptomi su u užem smislu primarni negativni simptomi. Dugotrajni primarni negativni simptomi nazivaju se još i deficitarni simptomi, a bolesnici s izraženim deficitarnim simptomima su češće

muškog spola i imaju lošiju prognozu (20). Često je teško razdvojiti primarne i sekundarne negativne simptome što dovodi do teškoća u istraživanju negativnih simptoma i učinkovitosti terapijski postupaka. Dosadašnje kliničke ljestvice kojima su se ocjenjivali negativni simptomi, poput Ljestvice za procjenu negativnih simptoma (SANS, engl. *Scale for the Assessment of Negative Symptoms*) (21) ili negativne podljestvice Ljestvice pozitivnih i negativnih sindroma (PANSS, engl. *Positive and Negative Syndrome Scale*) (22) sadrže u sebi neke čestice koje nisu relevantne za negativne simptome. Stoga su razvijene ljestvice koje odgovaraju sadašnjem konceptu negativnih simptoma postignutog konsenzusom stručnjaka 2005. godine (14). To su Klinička ljestvica za procjenu negativnih simptoma ili CAINS (engl. *Clinical Assessment Interview for Negative Symptoms*) s podljestvicama za socijalizaciju, posao, rekreaciju i ekspresiju (23) i Kratka ljestvica negativnih simptom ili BNSS (engl. *Brief Negative Symptom Scale*) s podljestvicama za anhedoniju, asocijalnost, avoliciju, zaravnjen afekt i alogiju (24), te one pokrivaju navedenih pet konstrukata: zaravnjen afekt, alogiju, anhedoniju, asocijalnost i avoliciju. Svi dolje navedeni simptomi su definirani prema sadašnjem konceptu.

1. Zaravnjen afekt je smanjena raznolikost i jakost osjećajnog izražavanja, odnosno facijalne i vokalne ekspresije, te gestikulacije. Većina istraživanja je pokazala da bolesnici sa shizofrenijom imaju smanjenu facijalnu ekspresiju za sve osjećaje, u frekvenciji i intenzitetu, a promjene su prisutne i kod bolesnika koji nisu primali lijekove (25). Vokalna ekspresija je smanjena u svim parametrima govora (26). Gestikulacija je smanjena na svim razinama, uključujući pokrete glavom i tijelom, te usmjerenje pogleda (27). Smatra se da patogeneza zaravnjenog afekta uključuje identifikaciju i razlikovanje osjećaja, te percepciju neverbalnih znakova socijalne interakcije (28).
2. Alogija je smanjena količina govora i spontanih elaboracija, ali se prema sadašnjim saznanjima ne odnosi i na osiromašenje sadržaja govora. Smatra se da govor u socijalnim situacijama zahtjeva uključenost više kognitivnih procesa, pa prema tom modelu dolazi do smanjenja govora kod bolesnika koji imaju smanjene kognitivne kapacitete (29).
3. Anhedonija - ovaj simptom je predmet istraživanja, pa je posebno naveden.
4. Asocijalnost je smanjenje socijalne inicijative zbog smanjenog interesa za formiranjem bliskih odnosa s drugim osobama. Ne odnosi se samo na ponašanje, nego uglavnom na nedostatak motivacije za socijalnim kontaktima. Smanjenje socijalnih aktivnosti može biti posljedica drugih simptoma poput sumanutih ideja, obmana osjetila ili depresivnog raspoloženja, te tada govorimo o sekundarnim negativnim simptomima.

5. Avolicija je smanjena inicijativa i ustrajnost prema usmjerenim i svrsishodnim radnjama. To je simptom koji dovodi do teškog oštećenja u svakodnevnom funkcioniranju bolesnika (30). Procjena avolicije bi osim ponašanja trebala uključivati želju i interes za usmjerenim aktivnostima. Koncept motivacije ponašanja je složen i uključuje više dimenzija poput hedonističkog iskustva, predviđanja i procjene nagrade, te procjene potrebnog uloženog truda.

Kod bolesnika sa shizofrenijom koji imaju izražene negativne simptome, utvrđene su i specifične biološke promjene, npr. izmjereni su značajno manji volumeni bijele tvari prefrontalnog dijela mozga (osobito orbitofrontalne subregije) u odnosu na bolesnike koji nisu imali izražene negativne simptome (31). U podlozi nastanka negativnih simptoma je disfunkcija frontokortiko-temporalnih neuralnih mreža, zajedno s kortiko-strijatalnim krugovima, a uključene su još i strukture poput inzularnog i parijetalnog korteksa, amigdala i talamus (32). Za razliku od pozitivnih simptoma koji nastaju kao posljedica povećane dopaminske aktivnost u mezolimbičkim putevima, negativni simptomi nastaju kao posljedica smanjene dopaminske aktivnosti u mezokortikalnim projekcijama u ventromedijalni prefrontalni korteks (11). Osim dopamina, promijenjena je aktivnost sustava gama-aminomaslačne kiseline (GABA, engl. *gamma-aminobutyric acid*) i glutamata, te je narušena GABA/glutamatna ravnoteža, a vjerojatno i oksitocinski i endogeni kanabinoidni sustav. Liječenje negativnih simptoma za sada ima skromne rezultate, u odnosu na liječenje pozitivnih simptoma. Ipak, određene rezultate pokazale su neke farmakološke, stimulacijske i psihosocijalne intervencije. Od farmakoloških se izdvajaju serotoninsko-dopaminski antagonisti koji primarno djeluju kao antagonisti serotoninskih 5HT2A receptora (npr. risperidon), antagonisti dopaminskih D3 receptora (npr. amisulprid) i parcijalni agonisti dopaminskih receptora (npr. aripiprazol). Transkranijska magnetna stimulacija (TMS) prefrontalnog korteksa, smanjuje negativne simptome kod bolesnika sa shizofrenijom (33). Od psihosocijalnih intervencija se provode kognitivno bihevioralna terapija, kognitivno remediacijska terapija i trening socijalnih vještina (32).
Bolesnici koji imaju izražene negativne simptome često nemaju uvid u svoje stanje i ne traže pomoć za tu skupinu simptoma. S druge strane, u svakodnevnoj kliničkoj praksi i psihijatri su više fokusirani na liječenje pozitivnih, afektivnih i agresivnih simptoma. Stoga je potreban dodatan napor u otkrivanju, liječenju i praćenju razvoja negativnih simptoma kod bolesnika sa shizofrenijom.

1.4.2. Anhedonija

Anhedonija se definira kao smanjena mogućnost doživljaja ugodnih emocija, a u užem smislu smanjen doživljaj užitka u uobičajenim životnim aktivnostima koje izazivaju ugodu, poput hrane, rekreacije, seksualnih i socijalnih aktivnosti (34). Već u djelima prvih autora koji su definirali simptome shizofrenije, poput Bleulera i Kraepelina, anhedonija se nalazi u kliničkim opisima shizofrenije kao jedan od osnovnih simptoma. Anhedonija je jedan od negativnih simptoma shizofrenije, ali i jedan od simptoma depresije, te može biti prisutna kod različitih ovisnosti, poremećaja ličnosti i posttraumatskog stresnog poremećaja (PTSP) (34). U znatno manjoj mjeri može se pojaviti i kod zdravih pojedinaca (35). Brojna su istraživanja o anhedoniji kod bolesnika s depresijom, shizofrenijom, ali i drugim poremećajima, te su pokazana određena preklapanja u različitim psihijatrijskim poremećajima (36). Anhedonija se u depresiji definira kao nedostatak zadovoljstva u aktivnostima koje su osobi nekad donosile zadovoljstvo (*„state“* fenomen), a poboljšanjem simptoma depresije, smanjuje se i anhedonija (37). S druge strane, kod bolesnika sa shizofrenijom, anhedonija se definira kao nemogućnost doživljavanja zadovoljstva u aktivnostima koje se uobičajeno smatraju ugodnima i prisutna je tijekom dugogodišnjeg perioda (*„trait“* fenomen) (26,37).

Chapman i ostali su 1976. godine definirali dva tipa anhedonije: fizičku i socijalnu anhedoniju (38). Fizička anhedonija je smanjena mogućnost uživanja u ugodama fizičke naravi, poput hrane, ugodne stimulacije putem raznih osjetila (taktilnih, vidnih, njušnih, slušnih), tjelesne rekreacije i seksualnih aktivnosti (39). Socijalna anhedonija je smanjena mogućnost uživanja u socijalnim aktivnostima s bliskim osobama, obitelji i prijateljima, u vidu razgovora ili samog zajedničkog boravka (39). Istraživanja su dokazala veću fizičku i socijalnu anhedoniju kod bolesnika sa shizofrenijom u odnosu na zdrave ispitanike (40).

Anhedonija je subjektivno iskustvo, ali se može mjeriti uz pomoć ocjenskih ljestvica. Revidirana ljestvica socijalne anhedonije (engl. *Revised Social Anhedonia Scale*, RSAS), Fawcett-Clarkova ljestvica kapaciteta ugode (engl. *Fawcett-Clark Pleasure Capacity Scale*, FCPS), Ljestvica svjetovnih ugodnih iskustava (engl. *Temporal Experiences of Pleasure Scale*, TEPS) neke su od samoocjenskih ljestvica. Međutim, u kratkoj ljestvici za negativne simptome (engl. *Brief Negative*

Symptom Scale, BNSS) ispitivač ocjenjuje anhedoniju kod bolesnika na temelju kliničkog intervjua (41).

Autori Rado i Meehl su anhedoniju promatrali kao čimbenik rizika za shizotipiju, a njihovim radovima potaknut je razvoj ocjenskih ljestvica kojima je cilj bio identifikacija čimbenika koji povećavaju rizik za shizofreniju (38). Tako je započelo sustavnije istraživanje ovog simptoma kod osoba sa shizofrenijom kao i kod osoba koje su pod visokim rizikom za razvoj bolesti (42). Uočena je izraženost anhedonije kod srodnika oboljelih, te je kod prvih rođaka bolesnika oboljelih od shizofrenije otkrivena veća fizička anhedonija u odnosu na kontrolnu skupinu (43).

Procjenjuje se da barem polovica bolesnika sa shizofrenijom pati od anhedonije (1). Anhedonija je prepoznata kao simptom koji je više izražen u kroničnoj, nego u akutnoj fazi shizofrenije (44). No, daljnja istraživanja su potvrdila postojanje značajno veće fizičke i socijalne anhedonije kod pojedinaca koji imaju ultra-visoki rizik za psihozu, kao i kod onih kod kojih je bolest nedavno započela, u odnosu na zdrave ispitanike (45). Tijekom prve psihotične epizode, učestalost anhedonije je visoka kod bolesnika kod kojih su se prvi psihotični simptomi pojavili prije manje od 14 dana. Anhedonija se ipak smanjuje tijekom prvih godina, a nakon 5 godina uslijedi plato koji perzistira (46).

Dosadašnja istraživanja su pokazala da konstrukt anhedonije treba razdvojiti na dva aspekta (47). Jedan je smanjena sposobnost uživanja u ugodnima aktivnostima koje su u tijeku, tzv. konzumacijska anhedonija, a drugi je smanjena anticipacija ugode u budućim aktivnostima, tzv. anticipacijska anhedonija (47). Anticipacija podrazumijeva afektivnu prognozu, tj. predviđanje kako će se osoba osjećati tijekom nekog budućeg događaja, dok se konzumacija odnosi na emocionalnu reaktivnost na trenutačne pozitivne podražaje (48).

Kod bolesnika sa shizofrenijom je smanjeno ponašanje usmjereno prema budućim ugodama koje se povezuje s anticipacijskom anhedonijom, dok je doživljaj ugode tijekom trajanja samog iskustva jednak kao i kod zdravih (49,50). Ovo razdvajanje između anticipacije i konzumacije (selektivno oštećenje anticipacijske komponente anhedonije) naziva se „anhedonijski paradoks" i smatra se specifičnim za shizofreniju (35). Prisutni su određeni kognitivni poremećaji u procesu prisjećanja na prošla ugodna iskustava, pa izostaju aktivnosti usmjerene prema traženju ugode (51). Ovaj paradoks još se naziva i „uživanje-želja" (engl. *liking wanting*) paradoks. Za razliku od shizofrenije, u depresiji je deficit prisutan i kod anticipacijske i konzumacijske anhedonije, a prema

nedavnoj meta-analizi, kod depresije je anticipacijska anhedonija čak i veća nego kod shizofrenije (52). Razlike u anhedoniji kod shizofrenije i depresije, prisutne su osim u kvantiteti, i kvaliteti, odnosno na neurobiološkoj razini (53). Međutim, najnovija meta-analiza je dovela u pitanje postojanje ovog paradoksa, te utvrdila ne samo postojanje obje vrste anhedonije kod osoba sa shizofrenijom (anticipacijske i konzumacijske), nego čak pronašla i veći deficit konzumacijske nego anticipacijske anhedonije u ovih bolesnika (54).

Anhedonija je povezana sa suicidalnošću bez obzira na prisutnost depresije (55). U studiji koja je uspoređivala pozitivne i negativne simptome kod bolesnika sa shizofrenijom, tijekom razdoblja praćenja od 14 godina, bolesnici koji su počinili suicid, imali su veću razinu početne fizičke anhedonije u odnosu na one koji su umrli od drugih uzroka (56). Veza između anhedonije i suicidalnosti kod depresije je potvrđena u više studija, ali istraživanja o vezi anhedonije i suicidalnosti kod shizofrenije je svega par i do sada ne nalaze jasnu povezanost (57). Kod bolesnika sa shizofrenijom su fizička i socijalna anhedonija u korelaciji s depresivnim simptomima (39).

U longitudinalnom istraživanju koje je kroz 20 godina pratilo skupinu bolesnika sa shizofrenijom, fizička anhedonija je bila prisutna od početka bolesti, stabilnog intenziteta i povezana s narušenim funkcioniranjem bolesnika (58). Socijalno funkcioniranje bolesnika povezano je s fizičkom i socijalnom anhedonijom (59).

1.4.3. Biologija anhedonije

Biologija anhedonije je povezana sa sustavom nagrade koji sadrži nekoliko dijelova. 1. želju (engl. *wanting*) koja se odnosi na anticipacijsku ili motivacijsku fazu, 2. uživanje (engl. *liking*) koja se odnosi na konzumacijsku fazu i 3. učenje (engl. *learning*) odnosno fazu sitosti (60). Svaki od dijelova ima različitu neuronsku podlogu. Dopaminski sustav je uključen u motivaciju i učenje, a opioidni, serotoninski i endokanabinoidni sustavi u ventralnom strijatumu i orbitofrontalnom korteksu, uključeni su u konzumacijski dio sustava nagrade (34).

U podlozi anticipacijske anhedonije su osobito bitne projekcije i krugovi iz prefrontalnog korteksa u ventralni ili dorzalni strijatum, te prema palidumu, koje se preko talamusa i dopaminskih jezgara u ventrotegmentalnom području (engl. *ventral tegmental area*, VTA) vraćaju natrag u prefrontalni korteks (32).

Dopamin ima ključnu ulogu u stvaranju osjećaja ugode povezanog s nagradom. Anhedonija se povezuje s disfunkcijom dopaminske neurotransmisije, odnosno mezolimbičkog dopaminskog sustava nagrade (61). Sukladno tome, funkcionalni polimorfizmi različitih proteina dopaminskog sustava mogli bi biti povezani s anhedonijom. Negativni simptomi, uključujući anhedoniju, se nalaze u oko trećine do polovine osoba s 22q11.2 delecijom (62). U istraživanju koje je ispitivalo povezanost više različitih polimorfizama za strukture unutar dopaminskog sustava, zaključeno je da je viša razina dopamina subkortikalno povezana sa smanjenim intenzitetom negativnih simptoma i smanjenom razinom anhedonije (63).

Anhedonija može biti izazvana antipsihoticima (64), koji blokiraju dopaminske D1 i D2 receptore i tako smanjuju strijatalnu aktivnost u odgovoru na dopaminsku stimulaciju iz VTA (65). Međutim, povezanost antipsihotika i anhedonije nije potpuno jasna. Naime, istraživanja su utvrdila da učinak antipsihotika na anhedoniju ovisi o vrsti i dozi antipsihotika, te tako npr. pri manjim dozama kvetiapin smanjuje anhedoniju, a kod većih doza pogoršava anhedoniju (66). Aripiprazol je parcijalni agonist dopaminskih D2 i D3 receptora, koji smanjuje anhedoniju kod bolesnika sa shizofrenijom (67). Međutim, u presječnim studijama, nije bilo povezanosti anhedonije s vrstom ili dozom antipsihotika (68), niti su socijalna i fizička anhedonija bile u korelaciji s vrstom ili dozom antipsihotika (39).

1.5. Etiologija shizofrenije

Dosadašnja istraživanja nisu odgovorila na pitanje koji su to patofiziološki procesi i etiološki čimbenici odgovorni za etiopatogenezu shizofrenije. No, genetska podloga kao najvažniji čimbenik (niže opisana u poglavlju 1.6) i različiti okolišni čimbenici dovode se u vezu s razvojem bolesti (69).

Brojni okolišni čimbenici tijekom razvoja mozga mogu mijenjati biološke čimbenike, te na taj način doprinijeti razvoju shizofrenije (70). Epidemiološka istraživanja su uspjela pronaći neke rizične čimbenike koji se mogu podijeliti prema vremenskim periodima utjecaja na razvoj mozga (69). U prenatalne čimbenike spadaju infekcije virusima influence (71), virusom rubeole i druge respiratorne infekcije (72), te majčina malnutricija (73). U perinatalne čimbenike spadaju rođenje u zimskim i proljetnim mjesecima (74), opstetričke komplikacije, rođenje ili život u urbanoj sredini

(75), i neonatalne infekcije mozga (76). Infekcije toksoplazmom i citomegalovirusom također se povezuju s razvojem shizofrenije (77). Tijekom odrastanja javljaju se dodatni rizici koji mogu imati značajnu ulogu u razvoju shizofrenije, a dio oboljelih već u dječjoj dobi pokazuje određene smetnje, poput poremećaja kognicije, ponašanja, emocionalnih i drugih psihopatoloških promjena, te motoričke abnormalnosti, što sve upućuje na neurorazvojnu etiologiju shizofrenije (78).

Od brojnih hipoteza i biologijskih teorija izdvajamo neurorazvojnu, neurodegenerativnu i hipotezu disfunkcije neurotransmitorskih sustava.

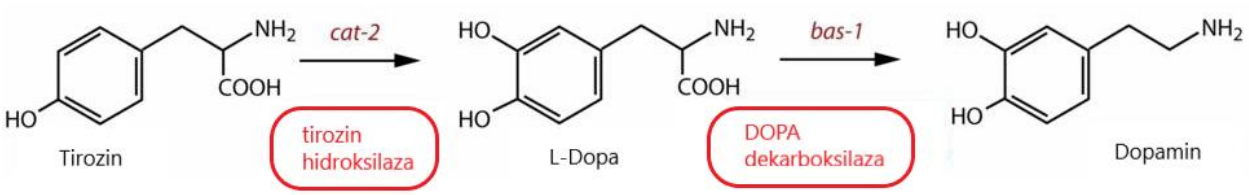
Shizofrenija kao neurorazvojni poremećaj obuhvaća kliničke, epidemiološke, genetske i neuropatološke dokaze koji upućuju da poremećen razvoj mozga ima ključnu ulogu u razvoju shizofrenije (79). Brojni procesi u različitim stadijima razvoja mozga pridonose toj teoriji. Istraživanja su dokazala ubrzani gubitak sive tvari i poremećaj neuronskih mreža u prefrontalnim regijama (79). Neuroanatomske promjene u mozgu bolesnika sa shizofrenijom, poput povećanih lateralnih moždanih ventrikula i u manjoj mjeri smanjenog volumena cijelog mozga su neurorazvojnog porijekla (2). Poremećene su faze tijekom razvojne migracije neurona, kao i nastajanja sinapsi među neuronima, a ističe se i poremećaj na razini sinaptičke plastičnosti (79). Znatan broj gena povezanih sa shizofrenijom (poput neuregulina-1, disbindina-1 i AKT-1) ima određenu ulogu u razvoju mozga, neurotransmisiji i neuroplastičnosti (79). Utjecaj genetske podloge i nasljedna komponenta prosuđuju se na 81%, dok se utjecaj okolišnih čimbenika procjenjuje na 11% (80). Međutim, shizofrenija nije monogenska bolest, već ona nastaje kao rezultat međudjelovanja brojnih gena uključenih u različite neurotransmitorske i neuromodulacijske sustave i signalne puteve (81). Smatra se da shizofrenija nastaje zbog kompleksnih interakcija između brojnih rizičnih varijanti gena, koje imaju pojedinačno mali učinak, sa čimbenicima iz okoline (82,83), te epigenetskih utjecaja (84).

Neuropatološke promjene u shizofreniji uključuju suptilne citoarhitektonske promjene i smanjeni volumen hipokampusa i prefrontalnog korteksa, dok jedan od glavnih neurobioloških biljega predstavlja promjena subkortikalne dopaminske aktivnosti za vrijeme akutne psihotične epizode bolesti, na temelju čega je predložena tzv. dopaminska teorija shizofrenije (2). Prema toj hipotezi, shizofrenija je povezana sa smanjenom dopaminskom aktivnosti u prefrontalnom korteksu i dopaminskom hiperaktivnošću u subkortikalnim područjima (85). U etiologiju shizofrenije

uključeni su osim dopamina i drugi neurotransmitorski sustavi poput serotoninskog, glutamatnog, GABA-ergičkog, noradrenalinskog i kolinergičkog (86,87).

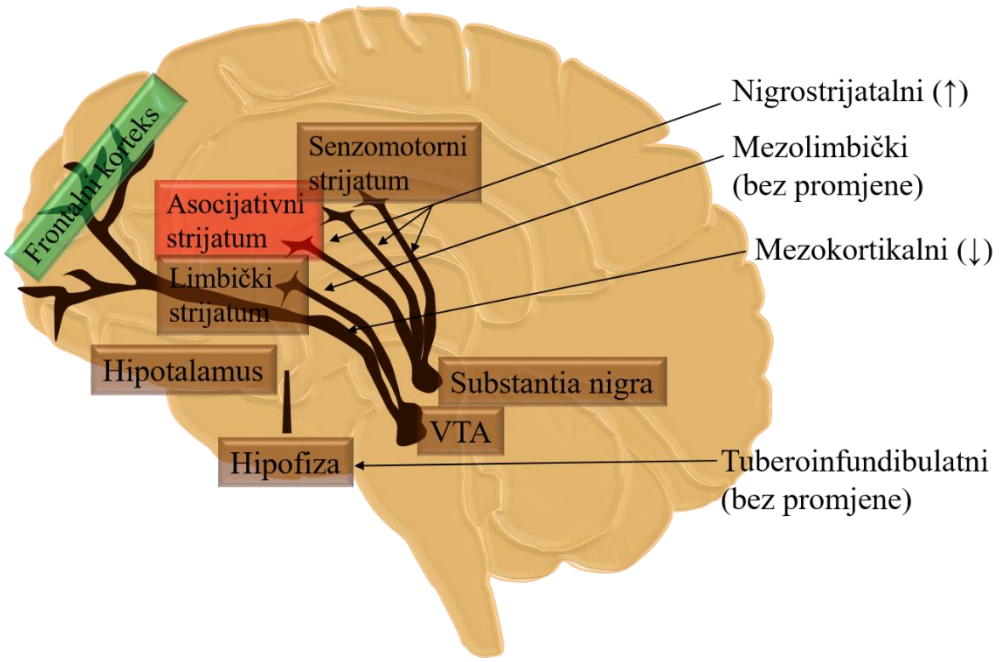
1.5.1. Dopaminski sustav

Dopaminski neuroni sadrže neurotransmiter dopamin, koji se sintetizira iz aminokiseline tirozina. Enzim tirozin hidroksilaza pretvara tirozin u L-dihidroksifenilalanin (L-dopa), a u sljedećem koraku dekarboksilacijom pomoću enzima DOPA dekarboksilaze ili AADC (od engl. *amino acid decarboxylase*) nastaje dopamin (Slika 1.1). Dopamin se pohranjuje u sinaptičke vezikule pomoću vezikularnog monoaminskog transportera, a u vezikulama ostaje do neurotransmisije (88).



Slika 1.1. Enzimi i prekursori uključeni u sintezu dopamina.

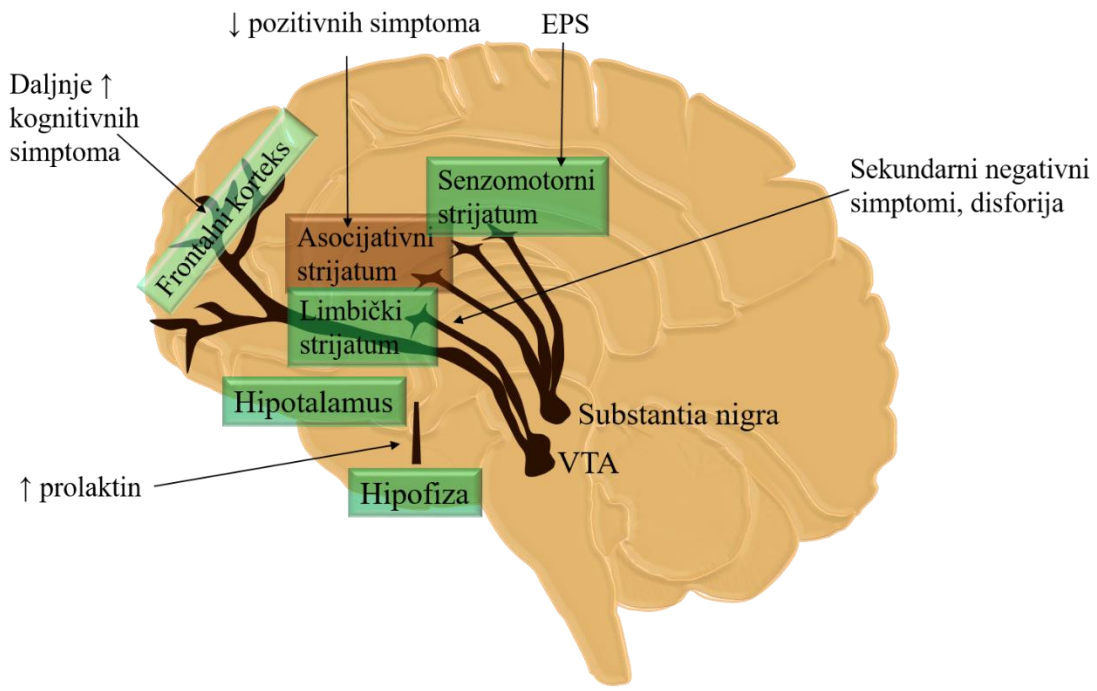
Tijela dopaminskih neurona nalaze su moždanom deblu (substancija nigra i ventralna tegmentalna area), a neuronske ascedentne projekcije jako su rasprostranjene preko hipotalamusa do prefrontalnog korteksa, bazalnog prednjeg mozga, strijatuma, nuklesa akumbensa i drugih regija mozga (88). Dopaminska neurotransmisija je uključena u regulaciju pokreta, kogniciju, sustav nagrade i psihotično ponašanje. Navodi se pet jasno definiranih dopaminskih puteva: mezolimbički, mezokortikalni, nigrostrijatalni, tuberoinfudibularni i talamički. U oboljelih od shizofrenije, za dio dopaminskih puteva vežu se određeni simptomi, a za svaki od njih i potencijal za stvaranje nuspojava dopaminskih antagonista kao što to prikazuje slika 1.2.



Slika 1.2. Dopaminski putevi u mozgu, te njihove promjene kod shizofrenije.
Preuzeto iz: Šagud M, Mihaljević-Peleš A. Mehanizam djelovanja antipsihotika, u priručniku Antipsihotici u kliničkoj praksi, Zagreb: Medicinska naklada, 2019.

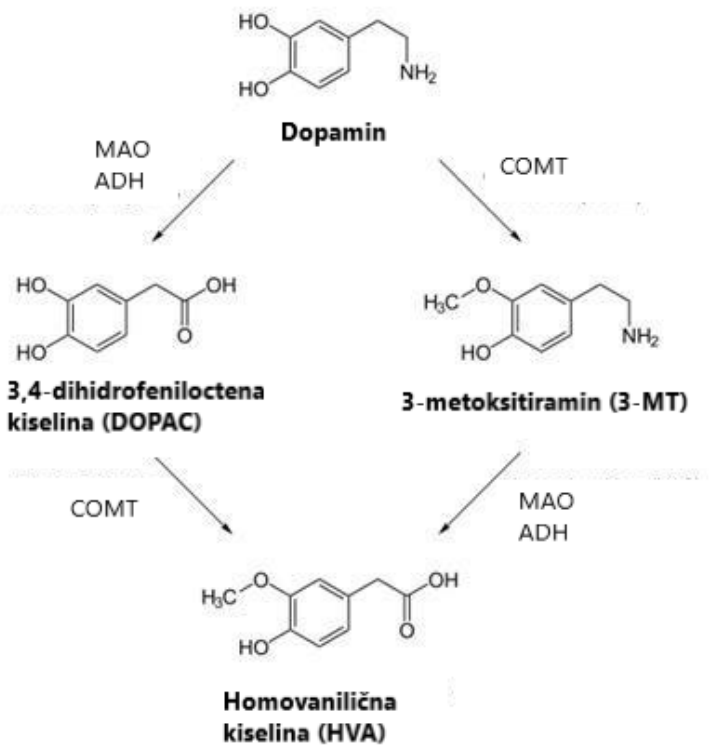
Pozitivni simptomi shizofrenije (npr. obmane osjetila i sumanute ideje) posljedica su povećane dopaminske aktivnosti u području mezolimbičkog dopaminskog puta, a negativni simptomi (npr. anhedonija i avolicija) nastaju kao posljedica smanjene dopaminske aktivnosti mezokortikalnih puteva (11).

Antipsihotici, koji su antidopaminergici (jaki blokatori dopaminskih D2 receptora), mogu uzrokovati smanjenu dopaminsku aktivnost u nigrostrijatalnom putu i posljedični parkinsonizam, a u tuberoinfudibularnom putu mogu uzrokovati hiperprolaktinemiju i posljedičnu galaktoreju, amenoreju i smanjenje libida (11), kao što prikazuje slika 1.3.



Slika 1.3. Posljedica snažne blokade D2 receptora u dopaminskim putovima u mozgu.
Preuzeto iz: Šagud M, Mihaljević-Peleš A. Mehanizam djelovanja antipsihotika, u priručniku Antipsihotici u kliničkoj praksi, Zagreb: Medicinska naklada, 2019.

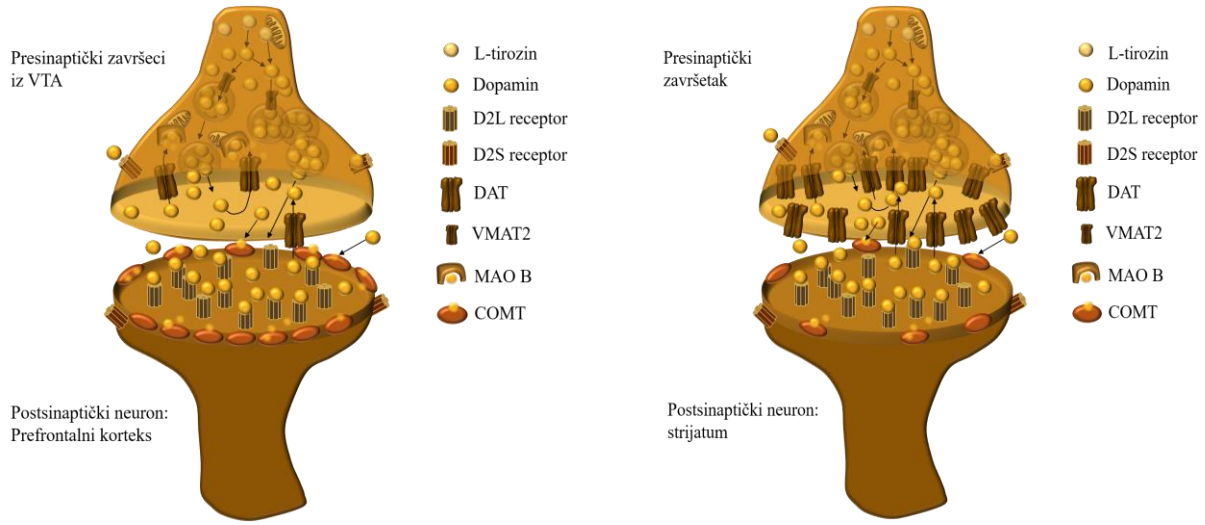
Dopaminski neuroni na presinaptičkim završecima sadrže presinaptički transporter, dopaminski transporter (DAT) koji prenosi dopamin iz sinaptičke pukotine natrag u presinaptički završetak (89). Distribucija DAT-a nije jednaka u svim moždanim regijama. U prefrontalnom korteksu su oni rijetki i dopaminska transmisija se prekida drugim mehanizmima (11). Sinaptička koncentracija dopamina rezultat je dinamičnog procesa otpuštanja i uklanjanja dopamina. Razgradnja dopamina uključuje dva glavna puta: ponovni unos DAT-om natrag u presinaptički završetak gdje ga razgrađuje monoaminooksidaza tipa B (MAO-B), te razgradnja dopamina u sinaptičkoj pukotini putem enzima katehol-O-metiltransferazom (COMT).
Razgradnja dopamina putem MAO odvija se oksidativnom deaminacijom, te nastaju deaminirani metaboliti dihidroksifeniloctena kiselina (DOPAC) i dihidroksifeniletanol (DOPET), koji se djelovanjem alkohol dehidrogenaze (ADH) metabolizira u dihidroksifeniloctenu kiselinu (DOPAC), iz koje uz pomoć COMT-a nastaje homovanilična kiselina (HVA), slika 1.4.



MAO- monoaminooksidaza; COMT- katehol-O-metiltransferaza; ADH – alkohol dehidrogenaza

Slika 1.4. Enzimi i metaboliti razgradnje dopamina.

Učinak COMT-a na razgradnju dopamina razlikuje se ovisno o lokalizaciji u moždanim strukturama. Budući da u prefrontalnom korteksu skoro da i nema DAT-a, aktivnost COMT-a je glavni regulator dopamina. U strijatumu i nukleusu akumbensu COMT ima određen, ali manji učinak, a glavni put razgradnje dopamina je preko DAT-a i MAO-B (90) Slika 1.5.



Slika 1.5. Dopaminska sinapsa u prefrontalnom korteksu (lijevo) i strijatumu

Razgradnja dopamina putem COMT-a odvija se metilacijom i nastaje O-metilirani aminometabolit 3-metoksitiramin (3-MT) iz kojeg djelovanjem MAO nastaje homovanilična kiselina (HVA) odnosno metoksihidroksifeniletanol iz kojeg uz pomoć alkohol dehidrogenaze (ADH) nastaje HVA. Dakle, krajnji metabolit razgradnje dopamina kod oba enzimska puta (COMT i MAO-B) je HVA.

Dopamin je također prekursor za noradrenalin koji nastaje iz dopamina djelovanjem enzima dopamin-beta-hidroksilaze (DBH), a iz noradrenalina djelovanjem feniletanolamin-N-metiltransferaze (PNMT) nastaje adrenalin.

Dopaminski receptori također reguliraju dopaminsku neurotransmisiju, a s farmakološkog aspekta važno je pet podtipova koji se mogu podijeliti u dvije skupine. Skupina receptora D1 (obuhvaća receptore DR1 i DR5) aktivira obitelj G-proteina i potiče aktivnost adenilat ciklaze i stvaranje cAMP-a. Skupina receptora D2 (obuhvaća receptore DR2, DR3 i DR4) povezana je sa skupinom G-proteina koji inhibiraju adenilat ciklazu i aktiviraju kalijeve kanale (91).

Dopaminski receptor D2 (DRD2) je najviše istraživan jer je taj receptor ciljno mjesto djelovanja dopaminskih antagonista, tj. antipsihotika (npr. haloperidola) koji se koriste u liječenju shizofrenije. DRD2 receptori smješteni su na postsinaptičkom i na presinaptičkom završetku. Presinaptički DRD2 djeluju kao autoreceptori i reguliraju dopaminsku neurotransmisiju putem negativne povratne sprege (11). Osim djelovanja na DRD2, antipsihotici su i antagonisti drugih

dopaminskih receptora, pa je tako npr. klozapin slabi antagonist DRD2, a jače blokira DRD4 i posljedično ne uzrokuje ekstrapiramidne nuspojave (91). Ekspresija dopaminskih receptora D3 i D4 je relativno velika u limbičkim i kortikalnim područjima, a mala u strijatumu. Agonisti dopaminskih receptora, poput bromokriptina koji je agonist DRD2 i pramipeksola koji je agonist DRD3, koriste se u liječenju Parkinsonove bolesti (92).

1.5.2. Serotoninski i glutamatni sustav

Uz dopaminski sustav, za etiologiju shizofrenije značajan je i serotoninski sustav. Serotonin ima važnu ulogu u brojnim funkcijama poput budnosti, pamćenja i pozornosti. Poremećaj serotoninskog sustava uočen je kod depresije, anksioznih poremećaja, obuzeto-prisilnog poremećaja i poremećaja hranjenja. Tijela serotoninskih neurona nalaze se u tegmentumu moždanog debla (nuclei raphe). Frontalni korteks, strijatum i limbički sustav su inervirani serotoninskim neuronima. Učinak antipsihotika koji su serotoninsko-dopaminski antagonisti poput klozapina ili risperidona, ostvaruje se najviše blokiranjem serotoninskog receptora 5HT2A. Isto tako, poznat je inhibirajući učinak serotoninskih na dopaminske neurone (93).

Glutamat je glavni ekscitatorni i široko rasprostranjen neurotransmiter u mozgu. Svoje djelovanje ostvaruje preko metabotropnih i ionotropnih receptora u koje spada između ostalih NMDA (N-metil-aspartat) receptor. Antagonisti NMDA receptora, poput ketamina, dovode do razvoja simptoma nalik shizofreniji. Stoga je poremećaj NMDA receptora uključen u hipotezu o etiologiji shizofrenije. Hipofunkcija ovih receptora preko inhibitornih neurona, potiče pretjerano oslobađanje dopamina u mezolimbičkom putu, no inhibira oslobađanje dopamina u mezokortikalnom putu (94). Na taj način hipofunkcija NMDA receptora utječe na razvoj pozitivnih i negativnih simptoma.

1.6. Genetski etiološki čimbenici

Genetska podloga shizofrenije ispitivana je najprije u tzv. obiteljskim studijama, kojima je dokazano da je rizik za razvoj bolesti veći među rođacima nego u općoj populaciji (95). Dok je rizik u općoj populaciji oko 1%, u slučaju da oba roditelja boluju od shizofrenije, rizik da i njihovo dijete oboli je 37% (96). Nakon toga su tzv. studije blizanaca i adoptivne studije potvrdile ulogu nasljeđa u razvoju shizofrenije, pa kod jednojajčanih blizanaca rizik iznosi 46% (97). Meta-analizom studija blizanaca omogućen je izračun nasljedne komponente za razvoj shizofrenije koji iznosi 81% (80). Daljnjim istraživanjima je isključeno da se bolest prenosi po principu monogenskih bolesti, gdje je nasljeđivanje određenog genotipa jednog gena presudno za bolest (98). Razvojem molekularne genetike omogućena je potraga za genskim varijantama koje su rizične za razvoj shizofrenije. Potom je zamijećeno da se određene kromosomske abnormalnosti češće javljaju kod bolesnika, poput delecije na kromosomu 22 - regija 22q11, koja je povezana sa shizofrenijom i velokardiofacijalnim sindromom (99). Navedena regija sadrži, između ostalih i gen za COMT (100). Studije povezanosti (engl. *linkage studies*) ispituju kromosomske regije koje su vezane za razvoj bolesti u određenim obiteljima (100). Istraživanja povezanosti (engl. *association studies*) uspoređuju učestalost i distribuciju određene varijante gena kod oboljelih i zdravih pojedinaca (100). Tako su određeni geni kandidati za shizofreniju, poput npr. COMT, DISC1 (engl. *disrupted in schizophrenia 1*), DTNBP1 (engl. *dystrobrevin binding protein 1*) i NRG1 (engl. *neuregulin 1*). Istraživanja su se temeljila na studijama povezanosti i bazičnom znanju o etiologiji shizofrenije (101) (Tablica 1.2.).

Razvojem tehnologije, postalo je moguće uspoređivati jako veliki broj gena, tj. cijeli genom, bez nekog prethodnog znanja ili hipoteze. Cjelogenomske studije povezanosti ili GWAS (engl. *genome wide association study*) istražuju povezanost između bolesti i polimorfizma jednog nukleotida (SNP, engl. *single nucleotide polymorphism*) kroz cijeli genom. Za takva istraživanja gena potrebni su znatno veći brojevi ispitanika (od nekoliko tisuća bolesnika i zdravih kontrolnih ispitanika) kako bi se odredila i dobila statistička značajnost, koja ovisi o velikom broju testiranja (po jednom ispitaniku oko milijun SNP-ova). GWAS studije otkrile su brojne gene kandidate sa specifičnim rizikom za razvoj bolesti, pri čemu svaki gen pridonosi s malim učinkom, ali zajedno imaju veći kumulativan učinak. Definirani su niže navedeni geni i njihove varijante koje doprinose riziku razvoja bolesti.

Gen ZNF804A koji kodira protein 804A s cinkovim prstenom (engl. *zinc finger protein*), povezan je sa shizofrenijom i bipolarnim afektivnim poremećajem (102). Gen TCF4 (transkripcijski čimbenik 4) je bitan za normalan razvoj mozga, a mutacija tog gena je povezana sa Sindromom Pitt-Hopkins (teški neurorazvojni poremećaj) (103). Gen neurogranin (NRGN) kodira postsinaptički supstrat protein kinaze C, a njegova promijenjena aktivnost može posredovati učinke koji nastaju hipofunkcijom NMDA receptora (103). Gen relin (RELN) ima ulogu u kortikogenezi, a mutacija gena se dovodi u vezu s autosomnom recesivnom lizencefalijom (104).
DISC1 (engl. *disrupted in schizophrenia 1*) ili u prijevodu: poremećen u shizofreniji, je gen odgovoran za promjene ponašanja i neuroanatomske abnormalnosti u bolesnika sa shizofrenijom (105). DISC1 ima važnu ulogu tijekom razvoja mozga, sudjeluje u migraciji neurona, aksonalnom rastu, neuronalnom pozicioniranju i signaliziranju putem cAMP-a (106). Uslijed translokacije t(1; 11) (q42; q14.3), nastaju različiti fenotipovi koji se javljaju u shizofreniji, bipolarnom afektivnom poremećaju i kod povratnog depresivnog poremećaja (107).
Geni vezani za dopaminski sustav značajno su povezani s rizikom za shizofreniju, pa je tako potvrđena povezanost gena za dopaminski receptor 2 (DRD2) i shizofrenije (103). Gen za dopaminski receptor 4 (DRD4), smješten na kromosomu 11, regija 11p15.5, sadrži polimorfizam s varijabilnim brojem uzastopnih ponavljanja (VNTR, engl. v*ariable number tandem repeat*), a varijante gena s većim brojem ponavljanja značajno su povezane s rizikom za razvoj bolesti (108). Gen za COMT je predmet ovog istraživanja, pa je niže detaljno opisan.
Određeni geni vezani za glutamatni sustav također su povezani sa shizofrenijom (107). Gen neuregulin-1 (NRG1) smješten na kromosomu 8, regija 8p21.22, ima važnu ulogu u sinaptogenezi i glutamatnoj transmisiji, te diferencijaciji stanica glije i mijelinizaciji neurona (107). Gen distrobrevin vezujući protein 1 ili disbindin (DTNBP1) smješten na kromosomu 6, regija 6p22.3, ima ulogu u presinaptičkoj glutamatnoj funkciji (107). Gen aktivator D-aminokiselinske oksidaze (DAOA) smješten na kromosomu 13, regija 13q22.34, također ima ulogu u glutamatnom sustavu (107).
Pored navedenih učestalih varijanti gena od kojih svaka ima mali učinak, postoje rijetke varijante poput varijacije broja kopija (engl. *copy number variants*, CNV) koje imaju veći utjecaj na rizik nastanka shizofrenije (98). Postoji značajna povezanost shizofrenije i rijetkih CNV-ova (s frekvencijom manjom od 1%), koje uključuju delecije na kromosomskim regijama: 1q21.1, 3q29,

15q13.3 i 22q11.2 i duplikacije na kromosomskim regijama 16p11.2 i 16p13.11 (109). Ove genske varijacije kod shizofrenije mogu biti naslijeđene i novonastale, *de novo* (109).

Veliki međunarodni konzorciji su istraživali brojne polimorfizme na vrlo velikom broj ispitanika, te su GWAS studijama dokazali brojne gene povezane sa shizofrenijom. U najvećem međunarodnom istraživanju bilo je uključeno gotovo 37 tisuća bolesnika i 113 tisuća zdravih kontrola, te je identificirano 108 rizičnih lokusa (110).
Uz pomoć GWAS studija uočeno je i preklapanje gena između shizofrenije i drugih psihijatrijskih poremećaja, poput bipolarnog afektivnog poremećaja (111). Navedene GWAS studije su uz dotadašnje gene kandidate koji kodiraju proteine uključene uglavnom u procese neurotransmisije, pridružile skupinu gena koja se primarno vezuje uz funkciju imunološkog sustava. Glavni kompleks tkivne podudarnosti (engl. *major histocompatibility complex*, MHC) povezan je sa shizofrenijom i pridonosi hipotezi o povezanosti shizofrenije i imunološkog sustava (110).

Tablica 1.2. Geni kandidati za shizofreniju, kratice i nazivi.
Napravljeno prema Farrell i suradnici 2015. (101)

AKT1	engl. v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1
APOE	Apolipoprotein E (engl. Apolipoprotein E)
BDNF	Moždani neurotrofni čimbenik (engl. Brain-derived neurotrophic factor)
CHRNA7	Kolinergički nikotinski receptor α7 (engl. Cholinergic receptor, nicotinic, α7)
COMT	Katehol-O-metiltransferaza (engl. Catechol-O-methyltransferase)
DAO	D-aminokiselina oksidaza (engl. D-amino-acid oxidase)
DAOA	Aktivator D-aminokiselinske oksidaze (engl. D-amino acid oxidase activator)
DISC1	Protein poremećen u shizofreniji 1 (engl. Disrupted in schizophrenia 1)
DRD2	Dopaminski receptor D2 (engl. Dopamine receptor D2)
DRD3	Dopaminski receptor D3 (engl. Dopamine receptor D3)
DRD4	Dopaminski receptor D4 (engl. Dopamine receptor D4)
DTNBP1	Distrobrevin vezujući protein 1 (engl. Dystrobrevin binding protein 1)
GRM3	Glutamatni metabotropni receptor 3 (engl. Glutamate receptor, metabotropic 3)
HTR2A	Serotoninski receptor 2A (engl. Serotonin receptor 2A)
KCNN3	engl. Potassium intermediate/small conductance calcium-activated channel, subfamily N, member 3

MTHFR	Metilentetrahidrofolat reduktaza (engl. Methylenetetrahydrofolate reductase)
NOTCH4	Notch 4
NRG1	Neuregulin 1
PPP3CC	Protein fosfataza 3, katalitička podjedinica, γ izoenzim (engl. Protein phosphatase 3, catalytic subunit, γ isozyme)
PRODH	Prolin dehidrogenaza (oksidaza) 1 (engl. Proline dehydrogenase (oxidase) 1)
RGS4	Regulator signaliziranja G-proteina 4 (engl. Regulator of G-protein signaling 4)
SLC6A3	Dopaminski transporter (engl. Dopamine transporter)
SLC6A4	Serotoninski transporter (engl. Serotonin transporter)
TNF	Čimbenik nekroze tumora (engl. Tumor necrosis factor)
ZDHHC8	Cinkov prst DHHC- tip 8 (engl. Zinc finger, DHHC-type 8)

Shizofrenija je heterogena bolest s kompleksnom kliničkom slikom, pa je za potrebe otkrivanja rizičnih genotipova potrebno podijeliti cjelinu na manje dijelove, karakteristične simptome, odnosno određene fenotipove koje se istražuje. Fenotipovi koji se nalaze između rizičnih gena i fenotipova bolesti (intermedijarni fenotipovi ili endofenotipovi), mogu se čvršće povezati s promjenama funkcije gena nego dijagnostičke kategorije (78). Također, endofenotipovi mogu biti prisutni kod nekih od srodnika bolesnika koji nemaju razvijenu kliničku sliku bolesti (69). Prema tome bi ciljevi istraživanja endofenotipova trebali biti usmjereni na neuroanatomske promjene (mjerene neuroslikovnim metodama), te na neurokognitivno funkcioniranje, neurofiziološko funkcioniranje i osjetljivost na stres, koje može biti pod utjecajem genetskih varijanti (78).

Interakcija gena i okoliša (engl. *gene x environment, G x E*) je novija paradigma u istraživanju etiologije shizofrenije. Interakcije uključuju različite odnose između gena i okolišnih čimbenika (112). Ekspresija određenog genotipa ovisi o izloženosti određenom okolišu, a učinak okolišnih čimbenika ovisi o određenom genotipu. Tako neke genske varijante gena kandidata imaju značajnu ulogu u razvoju shizofrenije samo kada se u obzir uzimaju i određeni okolišni čimbenici (112).

U posljednje vrijeme sve više se istražuje epigenetska regulacija koja polazi od pretpostavke da okolišni čimbenici utječu na ekspresiju gena. Epigenetske su promjene one stabilne nasljedne promjene u ekspresiji gena ili staničnom fenotipu, koje se događaju bez promjena u rasporedu baza DNK. Pomoću epigenetskih mehanizama (metilacije, modifikacije histona i promjena

posredovanih nekodirajućim RNK) dolazi do promjena fenotipa i ekspresije gena, ali bez promjena nukleotidnog slijeda. U epigenetske mehanizme važne za shizofreniju se ubrajaju: modifikacije kromatina procesima poput DNK metilacije i posttranslacijske modifikacije histona (engl. *histone post-translational modification*, HPTM), te utišavanje izazvano s nekodirajućom miRNK (113). DNK metilacija je epigenetski mehanizam koje je najviše opisan, a odnosi se na metilaciju citozina koja onemogućava vezivanje transkripcijskih čimbenika i promotora, te posljedično regulira gensku ekspresiju i gensko utišavanje (114). HPTM se odnosi na modifikacije proteina koji organiziraju DNK u nukleosome i najčešće uključuje histone 3 i 4, a navedene modifikacije utječu na transkripciju (115). Treći mehanizam uključuje mikro RNK (miRNK), jednostruke nekodirajuće RNK koje su uključene u posttranskripcijsko potiskivanje i destabilizaciju mRNK za mnoge gene (116).

1.7. Polimorfizmi gena za katehol-O-metiltransferazu (COMT)

COMT je enzim koji inaktivira kateholamine (dopamin, noradrenalin i adrenalin) procesom metilacije. Njegova aktivnost predstavlja jedan od glavnih mehanizama inaktivacije dopamina, osobito u prefrontalnom korteksu (117). Postoje dvije izoforme enzima, kraća topiva verzija S-COMT (S, engl. *soluble*) i duža membranska MB-COMT (MB, engl. *membrane bound*) koja u mozgu katalizira metilaciju kateholamina (118). Također, postoje razlike među spolovima u aktivnosti COMT-a (119). U postmortalnoj analizi pokazana je 17% veća aktivnost COMT-a u dorzolateralnom prefrontalnom korteksu muškaraca, u odnosu na žene (119). Međutim, u istom istraživanju je količina COMT proteina i mRNK molekula bila jednaka kod oba spola (119).
Prema dostupnoj literaturi može se primijetiti da je gen za COMT već duže vremena u fokusu znanstvenih istraživanja u psihijatriji (107). Jedan je od dvadesetak gena kandidata koji se povezuju s patogenezom shizofrenije (101). Gen se nalazi na dugom kraku 22. kromosoma, na lokusu 22q11.21.

1.7.1. COMT rs4680

Vjerojatno jedan od najistraživanijih polimorfizama gena za COMT, te polimorfizama u psihijatriji uopće, je Val108/158Met ili rs4680. Nastaje zamjenom gvanina (G) u adenozin (A) u kodonu 158 za MB-COMT i kodonu 108 za S-COMT, te rezultira zamjenom aminokiseline valin (Val) s aminokiselinom metionin (Met) (90). Taj se funkcionalni polimorfizam naziva COMT Val108/158Met ili rs4680 i osobe mogu biti nosioci Val/Val (GG), Val/Met (GA) ili Met/Met (AA) genotipa (120).

Navedena promjena ima za posljedicu smanjenu razinu enzimske aktivnosti tri do četiri puta u osoba nosioca A alela (120), iako su neka istraživanja utvrdila i manju razliku, npr. osobe s GG genotipom su imale oko 38% veću aktivnost COMT-a u dorzolateralnom prefrontalnom korteksu nego one s AA genotipom (119). Kod eksperimentalnih životinja (miševa) je prisutnost A alela povezana s 20-40% povećanom aktivnosti COMT-a u prednjem mozgu (121). S druge strane, miševi bez aktivnosti COMT-a (engl. *COMT knockout mice*) su imali 60% veću količinu dopamina u prefrontalnom korteksu nego „divlji" miševi (engl. *wild type mice*) koji imaju normalnu koncentraciju enzima COMT, međutim, koncentracija dopamina u strijatumu i nukleusu akumbensu uopće nije bila različita između ova dva soja miševa (122).

Varijanta A je termolabilna, enzimski manje aktivna i posljedično povezana s većom dopaminskom aktivnošću u odnosu na G varijantu (119,123). Posljedično, A varijanta rezultira većim razinama dopamina u prefrontalnom korteksu (124). Osim izravnog učinka na razinu kortikalnog dopamina, postoje nalazi da COMT na indirektan način modulira dopaminsku aktivnost na subkortikalnoj razini, pa je prisutnost A alela povezana sa smanjenom dopaminskom sintezom u strijatumu zdravih ispitanika (125).

Aleli A i G djeluju na kodominantan način (126). U istraživanju na zdravim ispitanicima u Hrvatskoj je utvrđeno da su G (51%) alel i A (49%) alel prisutni podjednako (127).

Povezanost polimorfizma COMT rs4680 i shizofrenije je nađena u nekim studijama (128), iako u meta-analizi iz 2005. godine nije potvrđena (129), dok je nova meta-analiza s više od 32 tisuće ispitanika, potvrdila tu povezanost (130). Dakle, postoje kontradiktorni podaci u literaturi i studije koje nalaze povezanost, ali i one koje nisu našle povezanost između ovog polimorfizma i shizofrenije. Postoje i istraživanja koja su utvrdila povezanost COMT rs4680 polimorfizma sa

shizofrenijom samo u žena (131). U istraživanju provedenom na hrvatskoj populaciji je pokazano kako ne postoji značajna povezanost COMT rs4680 polimorfizma i shizofrenije (132). Iako je studija prvenstveno istraživala povezanost COMT rs4680 i ovisnosti o nikotinu iz cigareta, ona je na uključenom velikom broju ispitanika sa shizofrenijom (N=828) te zdravih kontrolnih ispitanika (N=1058) hrvatskog porijekla, pokazala kako nema značajne povezanosti između COMT rs4680 i shizofrenije jer nisu utvrđene značajne razlike u raspodjeli COMT rs4680 AA, GA i GG genotipova između ispitanika sa shizofrenijom i zdravih ispitanika (132).

Polimorfizam COMT rs4680 bio je značajno povezan s anhedonijom u srodnika oboljelih od shizofrenije (133), jer su homozigoti GG pokazali značajno višu razinu anhedonije od A nosioca. Nadalje, utvrđena je povezanost AA homozigotnog genotipa i učenja u sustavu nagrade (engl. *reward learning*) kod zdravih ispitanika (134), odnosno veći odgovor na nagradu prilikom ispitivanja (135).

Povezanost polimorfizma COMT rs4680 i negativnih simptoma shizofrenije ispitivana je u više studija (136–138). Tako su u kineskoj populaciji nosioci G alela imali veći broj bodova za negativne simptome, osobito za zaravnjen afekt, u odnosu na nosioce A alela (136). Kod bolesnika s prvom psihotičnom epizodom, GG genotip bio je povezan sa značajno većim vrijednostima na ljestvici SANS za negativne simptome, te su se simptomi javili ranije nego kod A nosioca (137). Međutim, u poljskoj studiji koja je istražila povezanost deficitarnog sindroma s ovim polimorfizmom, pronađena je veća učestalost GG homozigotnog genotipa u grupi bolesnika koja nije imala deficitarni sindrom od grupe bolesnika s deficitarnim sindromom (138).

Nađeno je da nosioci GG genotipa imaju teže psihotične simptome i lošiji odgovor na antipsihotičnu terapiju od nosioca AA i GA genotipova (139). U hrvatskom istraživanju na 150 muških bolesnika sa shizofrenijom, nije pronađena povezanost polimorfizma COMT rs4680 i simptomatske remisije uz monoterapiju olanzapinom (140).

Povezanost polimorfizma COMT rs4680 sa suicidom istražena je u slovenskoj populaciji i ta je studija pokazala da je prisutnost genotipa AA bila protektivna za suicid kod muških ispitanika (141) u odnosu na genotip GG ili GA. U meta-analizi šest studija je pokazana značajna povezanost između polimorfizma COMT rs4680 i suicidalnog ponašanja (142). No, u drugoj meta-analizi koja je uključivala 12 studija, ta povezanost nije potvrđena (143). U studiji na hrvatskoj populaciji je istražena povezanost COMT rs4680 sa suicidalnošću kod ovisnika o alkoholu, te je nađena veća učestalost AA genotipa ili A alela kod muških ovisnika o alkoholu koji su pokušali suicid u odnosu

na muškarce ovisne o alkoholu koji nisu pokušali suicid (144). U drugom istraživanju na hrvatskoj populaciji je također nađena veća učestalost AA genotipa kod bolesnika ovisnih o alkoholu koju su pokušali suicid, te veća učestalost GG genotipa kod bolesnika s ranim razvojem ovisnosti o alkoholu (145). Nadalje, A alel je bio povezan s agresivnim i nasilnim ponašanjem kod bolesnika sa shizofrenijom (146,147).

Istražena je i povezanost polimorfizma COMT rs4680 s konzumacijom kanabisa i razvojem psihoze (148). U longitudinalnom novozelandskom istraživanju su nosioci GG homozigotnog genotipa imali veći rizik za razvoj psihoze u odrasloj dobi ako su konzumirali kanabis tijekom adolescencije prema nosiocima GA i AA genotipa (148). U drugom, španjolskom istraživanju, bolesnici sa shizofrenijom koji su bili AA homozigoti imali su dvostruko veću učestalost konzumacije kanabisa od nosioca GG homozigotnog genotipa (149).

Povezanost s ovisnošću o nikotinu (pušenjem) je istražena na hrvatskoj populaciji zdravih ispitanika, te je pronađena značajna povezanost s polimorfizmom COMT rs4680, odnosno veća učestalost GG homozigota kod muškaraca koji puše cigarete u odnosu na muškarce nepušače (127).

Osim sa shizofrenijom COMT rs4680 se povezuje i s drugim psihijatrijskim poremećajima, pa je u meta-analizi 363 istraživanja, nađena povezanost između G alela s ADHD-om (poremećaj pažnje s hiperaktivnošću, engl. *attention deficit hyperactivity disorder*) i paničnim poremećajem kod bijele populacije, povezanost G alela s ovisnosti kod azijske populacije, povezanost A alela s bipolarnim afektivnim poremećajem kod azijske populacije i povezanost A alela s obuzeto-prisilnim poremećajem kod muških osoba (150). U istraživanjima depresivnog poremećaja, nađena je povezanost A alela s povećanom aktivnosti u limbičkom sustavu i prefrontalnom korteksu, te boljim odgovorom na antidepresivnu terapiju (151). Postoje nalazi da je COMT rs4680 značajan prediktor za razvoj PTSP-a nakon izloženosti traumatskom opterećenju (engl. *traumatic load*), pa su nosioci G alela pokazivali povezanost po tipu doza-odgovor, a nosioci GG genotipa su imali veći rizik za razvoj PTSP-a bez obzira na traumatsko opterećenje (152).

1.7.2. COMT rs4818

Drugi polimorfizam na genu COMT koji smo istraživali je sinonimni polimorfizam rs4818. Nastaje zamjenom citozina (C) u gvanin (G) u kodonu 136 za MB-COMT i kodonu 86 za S-COMT. Ova zamjena nukleotida ne rezultira i zamjenom aminokiseline leucin. No, varijanta G ovog polimorfizma je povezana s većim aktivnošću COMT-a i posljedičnom smanjenom dopaminskom aktivnošću u prefrontalnom korteksu (153). Također, smatra se da je polimorfizam COMT rs4818 odgovoran za veću varijabilnost u aktivnosti COMT-a od polimorfizma rs4680 zbog smanjene količine translatiranog proteina (154). Polimorfizmi COMT rs4680 i rs4818 često se zajedno nasljeđuju kao haplotipski blok (155).

COMT rs4818 polimorfizam je istražen u odnosu na rezistenciju na lijekove te odgovor na lijekove u shizofreniji, i to u haplotipskoj kombinaciji s COMT rs4680 (156,157). Pokazano je da je haplotipska kombinacija COMT rs4680 i rs4818 (COMT rs4680–rs4818 C-A haplotip) povezana s dobrim odgovorom na liječenje u shizofreniji (156), ali je ista kombinacija bila povezana u ispitanika hrvatskog porijekla s rezistencijom na liječenje kod ženskih, ali ne i muških bolesnika sa shizofrenijom (157). Međutim, taj je polimorfizam u haplotipskoj kombinaciji s COMT rs4680 (COMT rs4680–rs4818 C-A haplotip) bio povezan s boljim terapijskim odgovorom na olanzapin, ali ne na risperidon, klozapin ili druge antipsihotike, u bolesnika sa shizofrenijom (158).

Povezanost s negativnim simptomima u kineskoj populaciji istražena je za dva polimorfizma gena COMT, rs740603 i rs4818 (159). Pronađena je povezanost haplotipske kombinacije rs740603(G)-rs4818(G) i negativnih simptoma shizofrenije, osobito među bolesnicama (159). Na velikom broju kineskih ispitanika COMT rs4818 nije bio povezan sa shizofrenijom, no utvrđena je značajna povezanost COMT haplotipa rs740603(G)-rs4818(G) s negativnim simptomima u shizofreniji (159).

U drugom kineskom istraživanju je ispitana povezanost osam polimorfizama gena COMT na 279 bolesnika sa shizofrenijom i 100 zdravih kontrola, te nije bilo značajne povezanosti sa shizofrenijom niti za jedan od osam polimorfizama: rs4680, rs4818, rs165599, rs737865, rs2075507, rs6267, rs6269 i rs4633 (160).

1.8. Polimorfizmi gena za monoaminooksidazu tipa B (MAO-B)

MAO je enzim vezan za vanjsku membranu mitohondrija i postoji u dvije izoforme, A i B, koje se razlikuju po smještaju i supstratima (161). MAO-A prvenstveno razgrađuje serotonin, noradrenalin i adrenalin, dok MAO-B razgrađuje ß-feniletilamin i benzilamin. Oba izoenzima razgrađuju dopamin, triptamin i tiramin. Histaminski i serotoninski neuroni, te astrociti, bogati su s MAO-B, a kateholaminski (dopaminski i noradrenalinski) neuroni uglavnom sadrže MAO-A podjedinicu (162). Međutim, na lokacijama gdje nedostaje jedan izoenzim, drugi preuzima njegovu ulogu. Oba MAO izoenzima imaju vitalnu funkciju u inaktivaciji neurotransmitera, pa se promjene u funkciji ovih enzima istražuju u brojnim psihijatrijskim i neurološkim poremećajima, poput shizofrenije, depresije, PTSP-u, Alzheimerovoj bolesti, Parkinsonovoj bolesti i migreni (163).

Kod bolesnika sa shizofrenijom zabilježena je smanjena aktivnost MAO enzima u trombocitima (164). Trombociti sadrže samo MAO-B enzim koji je identičan MAO-B enzimu u frontalnom korteksu (165). Promijenjena aktivnost trombocitne MAO-B povezana je sa psihopatskim i agresivnim crtama ličnosti (166). Kod bolesnika sa shizofrenijom pronađena je povezanost agitacije i veće aktivnosti trombocitnog MAO-B nego kod bolesnika bez agitacije (167). Također, postoji studija koja je pokazala da selegilin, koji je selektivni inhibitor MAO-B, u kombinaciji s antipsihotikom može smanjiti negativne simptome kod bolesnika sa shizofrenijom (168). Selegilin se koristi kao antiparkinsonik, a u SAD-u, ali ne u Europi, je indiciran i u liječenju velikog depresivnog poremećaja (169).

Geni za MAO-A i MAO-B su smješteni na kratkom kraku X kromosoma, jedan uz drugog na lokaciji Xp11.23-p22.1 i sadrže svaki po 15 egzona, te imaju jednaku organizaciju egzona i introna (170). Geni za MAO su također predloženi kao geni kandidati u patogenezi shizofrenije (171). Kako su geni smješteni na X kromosomu, muškarci su konstitucijski hemizigoti jer imaju jedan X kromosom i po jedan alel (G ili A) za MAO-B rs1799836 polimorfizam, dok žene imaju tri genotipa (GG, GA i AA) tj. dva alela (G i A) za MAO-B rs1799836 polimorfizam.

Najučestaliji polimorfizam gena za MAO-B je A644G, rs1799836, koji se nalazi u 13. intronu i za kojeg se smatra da je povezan s enzimskom aktivnošću u mozgu (172). Nastaje zamjenom adenozina (A) u gvanin (G). Ovaj polimorfizam se nalazi u nekodirajućoj regiji MAO-B gena, te

ne mijenja strukturu enzima, no pretpostavlja se da zbog svoje pozicije, polimorfizam utječe na stabilnost i/ili translaciju mRNK za MAO-B, te posljedično regulira ekspresiju ovog enzima (172,173). Na postmortalnim uzorcima frontalnog korteksa zdravih muških ispitanika, nosioci A alela imali su veću aktivnost MAO-B u mozgu od nosioca G alela, iako je aktivnost enzima bila različita, razina ekspresije mRNK je bila jednaka kod obje skupine (172). Slično, aktivnost MAO-B u plazmi bila je značajno snižena u dječaka s autizmom, koji su bili nosioci G alela, iako razlika nije utvrđena u djevojčica s autizmom (174). Međutim, *in vitro* ispitivanje je pokazalo veću enzimsku aktivnost kod G alela u odnosu na A alel (173). Kod zdravih muškaraca, nepušača, nosioca G alela, pokazana je i veća aktivnost MAO-B u trombocitima od nosioca A alela (175). Međutim, taj je nalaz utvrđen na manjem broju (N=53) ispitanika. No, na većem broju ispitanika hrvatskog porijekla nije dokazana povezanost ovog polimorfizma i aktivnosti trombocitne MAO-B kod zdravih muškaraca (176), ili kod muških osoba sa shizofrenijom ili adolescenata s poremećajem ophođenja (167) ili kod muških ispitanika s PTSP-om (176,177).
Naime, aktivnost MAO-B u trombocitima nije se razlikovala značajno između muških zdravih ispitanika koji su bili nosioci A ili G alela (167). Stoga se može utvrditi da nema značajne povezanosti MAO-B rs1799836 polimorfizma i aktivnosti MAO-B u trombocitima. Međutim, utvrđena je povezanost G alela ovog polimorfizma sa sniženom aktivnošću MAO-B u mozgu (172), povezanost A alela s povećanom ekspresijom MAO-B RNK i proteina, te aktivnošću u trombocitima osoba oboljelih od Parkinsonove bolesti (178).

U studiji na španjolskoj populaciji, G alel ovog polimorfizma, bio je povezan s razvojem shizofrenije kod bolesnica (179). U studiji na kineskoj populaciji, također je G alel bio identificiran kao rizičan čimbenik za razvoj bolesti (180). Povezanost MAO-B rs1799836 polimorfizma i shizofrenije nije potvrđena na meksičkoj populaciji bolesnika, međutim, ovaj je polimorfizam bio povezan s negativnim simptomima samo kod bolesnica, tj. kod onih koje su bile GG nosioci bila je veća izraženost afektivne zaravnjenosti (171). Međutim, ovi rezultati nisu potvrđeni u regresijskoj analizi (171). Isto tako, nije utvrđena povezanost MAO-B rs1799836 polimorfizma s agitacijom u muškaraca sa shizofrenijom ili adolescenata s poremećajem ophođenja (167) ili kod muških ispitanika s PTSP-om (177). Nadalje, u muškaraca sa shizofrenijom je zapažen protektivan učinak A alela na nastanak hiperprolaktinemije uzrokovane antipsihoticima, iako ovaj učinak nije potvrđen u podskupini bolesnika koji su bili liječeni risperidonom ili paliperidonom (181).

Povezanost ovog polimorfizma sa psihotičnim simptomima istražena je i kod muškaraca s PTSP-om, gdje nije utvrđena razlika između nosioca A ili G alela i povezanosti s odabranim psihotičnim simptomima mjerene ljestvicom PANSS (sumanute ideje, dezorganizirano mišljenje, halucinacije i sumnjičavost) (177).

Ovaj polimorfizam je također istraživan i kod osoba s Parkinsonovom bolešću jer je kod ove bolesti najviše pokazatelja za disfunkcionalnosti dopaminskog sustava. U ovih bolesnika postoji nekoliko studija koje upućuju na povezanost MAO-B rs1799836 polimorfizma i Parkinsonove bolesti: povećana aktivnost MAO-B utvrđena je u osoba s Parkinsonovom bolešću, te se čak smatra i obilježjem ove bolesti (178). Alel A polimorfizma MAO-B rs1799836, bio je povezan s porastom ekspresije MAO-B proteina i posljedično s porastom aktivnosti trombocitne MAO-B kod bolesnika s Parkinsonovom bolešću (178). Takvi rezultati u skladu su s hipotezom da je G alel ovog polimorfizma protektivan, a AA genotip te prisustvo A alela rizičan čimbenik za razvoj Parkinsonove bolesti (182). Nadalje, u oboljelih od Parkinsonove bolesti utvrđeno je pomoću PET studije, da je MAO-B rs1799836 polimorfizam imao izravan utjecaj na dopaminsku aktivnost u strijatumu. Kada su osobe s novonastalom Parkinsonovom bolešću podijeljene na one s visokom, te malom do srednjom aktivnošću MAO-B, a na osnovi istraživanja koje je utvrdilo da je G alel povezan s nižom enzimskom aktivnošću (172), utvrđeno je da su osobe s A alelom (koji se povezuje s visokom aktivnošću MAO-B) imale veću razgradnju dopamina u strijatumu (183).

Uz brojne druge polimorfizme unutar gena MAO-B često se istražuje i polimorfizam rs6651806 kod kojeg dolazi do zamjene adenozina (A) u citozin (C) (184). Nosioci C alela imaju tri dodatna mjesta za vezivanje transkripcijskih čimbenika, u odnosu na nosioce A alela, što može promijeniti veličinu transkripcije (184). Za ovaj polimorfizam gena MAO-B ima mnogo manje podataka u literaturi nego za rs1799836 polimorfizam. Kod zdravih ispitanika, istražena je povezanost različitih polimorfizama MAO-B i crta ličnosti, pri čemu je utvrđena povezanost negativne emocionalnosti i polimorfizama rs10521432 i rs6651806 gena MAO-B (184). Kod polimorfizma rs6651806, alel A je bio povezan s većim rezultatom negativne emocionalnosti, u odnosu na nositelje C alela (184). Ovi rezultati prošireni su i haplotipskom analizom, koja je utvrdila da je haplotip GACG za 4 SNP-a (rs1799836, rs10521432, rs6651806 i rs590551) bio značajno povezan s nižim rezultatom na ljestvici negativne emocionalnosti (184).

Polimorfizam rs6651806 bio je nominalno povezan s koncentracijom 3-metoksi-4-hidroksifenilglikola (MHPG), metabolita noradrenalina, u likvoru kod psihotičnih muških bolesnika, iako ne i u zdravih osoba, od kojih većina nije uzimala antipsihotike u vrijeme uzimanja uzorka (185). U istraživanju na španjolskoj populaciji, koje je uključivalo 242 bolesnika i 373 zdrave kontrole, nije dokazana povezanost MAO-B rs6651806 polimorfizma i shizofrenije (186). Kod obuzeto-prisilnog poremećaja, haplotipska kombinacija koja je uključila 4 MAO-B SNP-a je bila značajno povezana s poremećajem (rs1799836, rs5905449, rs6651806 i rs5905512); naime osobe nosioci MAO-B haplotipa CACG imale su povećan rizik za razvoj obuzeto-prisilnog poremećaja od osoba nosioca AGCG haplotipa (187).

Dosadašnja istraživanja ukazuju na bitnu ulogu enzima COMT i MAO-B u razgradnji dopamina, te na dopaminsku disfunkciju kod shizofrenije, kao i povezanosti anhedonije s disfunkcijom dopaminskog sustava (61–63). Međutim, vrlo malo je podataka o povezanosti anhedonije s aktivnošću COMT i MAO-B, uključujući i polimorfizme ovih enzima, kod osoba sa shizofrenijom. Nisu do sada provedena istraživanja o povezanosti COMT rs4818 polimorfizma s anhedonijom niti u jednoj populaciji, dok je povezanost COMT rs4680 polimorfizma i anhedonije istraživana samo u zdravih osoba (134). Nadalje, samo je jedna studija istraživala povezanost MAO-B rs1799836 polimorfizma s negativnim simptomima (uključujući i anhedoniju) u osoba sa shizofrenijom u Meksiku (171). Međutim, u tom istraživanju je anhedonija mjerena samo kao jedno pitanje na ljestvici za procjenu negativnih simptoma. Imajući u vidu složenost koncepta anhedonije (35), potrebna su detaljnija istraživanja različitih vrsta anhedonije (npr. fizičke i socijalne) i polimorfizama dopaminskog sustava.

2. HIPOTEZA

Anhedonija kod bolesnika sa shizofrenijom povezana je s polimorfizmima gena COMT (rs4680 i rs4818) i MAO-B (rs1799836 i rs6651806).

3. CILJEVI RADA

3.1. Opći cilj

Istražiti povezanost anhedonije i polimorfizama rs4680 i rs4818 gena COMT, te rs1799836 i rs6651806 gena MAO-B kod bolesnika sa shizofrenijom.

3.2. Specifični ciljevi

1. Istražiti raspodjelu alela/genotipova i haplotipskih kombinacija polimorfizama rs4680 i rs4818 gena COMT, te rs1799836 i rs6651806 gena MAO-B kod bolesnika sa shizofrenijom s ili bez anhedonije.

2. Istražiti raspodjelu alela/genotipova i haplotipskih kombinacija polimorfizama rs4680 i rs4818 gena COMT, te rs1799836 i rs6651806 gena MAO-B kod bolesnika sa shizofrenijom s ili bez negativnih simptoma.

3. Istražiti povezanost negativnih simptoma i polimorfizama rs4680 i rs4818 gena COMT, te rs1799836 i rs6651806 gena MAO-B.

4. Istražiti povezanost anhedonije s negativnim simptomima i sociodemografskim karakteristikama bolesnika.

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Ispitanici

Ovo presječno istraživanje je obuhvatilo 302 osobe oboljele od shizofrenije, koje se liječe u Klinici za psihijatriju i psihološku medicinu Kliničkog bolničkog centra Zagreb. Dijagnoza shizofrenije postavljena je prema važećim klasifikacijama, MKB-10 i DSM-5. Demografski podaci i podaci o povijesti bolesti ispitanika prikupljeni su tijekom kliničkog intervjua, te iz medicinske dokumentacije. Uključeni su ispitanici oba spola s dijagnozom shizofrenije u dobi između 18 i 65 godina, koji su bili dovoljno suradljivi da pristanu na uključenje u studiju te ispune ocjenske ljestvice i upitnike. Ispitanici su bili isključeni iz studije ukoliko su imali: dijagnosticiranu ozbiljnu neurološku bolest, uključujući i one koje mogu smanjiti kapacitet za doživljavanje ugode, poput Parkinsonove bolesti, anamnezu o težoj traumi glave, teži kognitivni poremećaj koji onemogućuje razumijevanje pitanja u upitnicima, naglašene simptome shizofrenije koji smanjuju suradljivost prilikom intervjua i ispunjavanja upitnika, poput jače izraženih sumanutih ideja i halucinacija, sumnjičavosti, psihomotorne uzbuđenosti te agresivnosti, dijagnosticiranu tešku tjelesnu bolest npr. malignu bolest, tešku bolest srca, bubrega, jetre, pluća ili metaboličku bolest, te ovisnost bilo koje vrste u zadnjih šest mjeseci (osim ovisnosti o nikotinu i kofeinu).
U istraživanje su bile uključene samo osobe koje su pristale sudjelovati u istraživanju i dati uzorak krvi, što su i potvrdile svojim potpisanim informativnim pristankom. Istraživanje je u potpunosti provedeno u skladu s Helsinškom deklaracijom, te odobreno od strane Etičkog povjerenstva KBC-a Zagreb i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

4.2. Klinički dio istraživanja

Klinička procjena i uključivanje ispitanika u istraživanje učinjeni su neposredno prije uzimanja uzorka za genotipizaciju, tako da tijekom ocjenjivanja uz pomoć ocjenskih ljestvica nije bio poznat genotip ispitanika. S druge strane, klinički podaci nisu bili poznati istraživačima koji su provodili laboratorijski dio istraživanja sve do završetka istraživanja i statističke obrade podataka.

4.2.1. Sociodemografski i klinički podaci

Prikupljeni su sociodemografski podaci: dob, spol, indeks tjelesne mase, dob prvog psihijatrijskog pregleda, stručna sprema, bračni status, radni status, navike pušenja cigareta, konzumacija alkohola, povijest uzimanja droga, cjeloživotni pokušaji suicida, terapija antipsihoticima i terapijska doza antipsihotika u ekvivalentnoj dozi klorpromazina. Ekvivalentne doze klorpromazina izračunate su prema Leucht i suradnicima (188).

4.2.2. Procjena težine simptoma

Klinička procjena intenziteta bolesti i pojedinih skupina simptoma učinjena je uz pomoć ocjenskih ljestvica: ljestvicom pozitivnih i negativnih sindroma PANSS (22), Calgary ljestvicom za procjenu depresivnih simptoma u shizofreniji CDSS (engl. *Calgary Depression Scale for Schizophrenia*) (189), ljestvicom za opću procjenu funkcioniranja GAF (engl. *Global Assessment of Functioning*) (190), ljestvicama za procjenu negativnih simptoma: klinička ljestvica za procjenu negativnih simptoma CAINS (engl. *Clinical Assessment Interview for Negative Symptoms*) i kratka ljestvica za negativne simptome BNSS (engl. *Brief Negative Symptom Scale*).

PANSS je ljestvica koja se široko primjenjuje u istraživanjima shizofrenije. Sadrži 30 čestica koje su podijeljene u tri podljestvice: pozitivni simptomi (7 čestica), negativni simptomi (7 čestica) i opći psihopatološki simptomi (13 čestica). Svaka čestica se ocjenjuje od 1 (odsutan simptom) do 7 (simptom ekstremno izražen).

GAF je ljestvica opće procjene funkcioniranja s kojom se procjenjuje ukupno funkcioniranje i utjecaj simptoma na funkcioniranje ispitanika. Boduje se od 1 do 100, a veći broj predstavlja bolje funkcioniranje i manje simptoma. Ljestvica je podijeljena u 10 jednakih dijelova, te su definirane karakteristike za svaki interval od 10 bodova.

CDSS je ljestvica s kojom se procjenjuje depresivne simptome kod bolesnika sa shizofrenijom. Sadrži 9 čestica koje se ocjenjuju od 0 (odsutan simptom) do 3 (jako izražen simptom). Depresivnim se smatra bolesnik koji ima ukupno više od 6 bodova.

CAINS je ljestvica koja ocjenjuje negativne simptome, sadrži ukupno 13 čestica, koje su podijeljene u 4 podljestvice: socijalizacija (4 čestice), posao/škola (2 čestice), rekreacija (3 čestice)

i ekspresija (4 čestice). Svaka čestica se ocjenjuje od 0 (odsutan simptom) do 4 (jako izražen simptom). U podljestvicama socijalizacija, posao/škola i rekreacija, procjenjuje se koliko je prisutna motivacija i ugoda u navedenim aktivnostima. U podljestvici ekspresija je sadržana facijalna, vokalna i gestikulacijska ekspresija, te količina govora.

BNSS je ljestvica koja također ocjenjuje negativne simptome, a sadrži ukupno 13 čestica. U sebi sadrži 6 podljestvica: anhedonija (3 čestice), distres (1 čestica), asocijalnost (2 čestice), avolicija (2 čestice), zaravnjen afekt (3 čestice) i alogija (2 čestice). Svaka čestica se ocjenjuje od 0 (odsutan simptom) do 6 (jako izražen simptom). U podljestvici distres se procjenjuje u kojoj mjeri je u bolesnika odsutan stres kod uobičajeno stresnih situacija i problema.

4.2.2.1. Procjena anhedonije

Postojanje i izraženost anhedonije određena je samoocjenskim ljestvicama za socijalnu i fizičku anhedoniju pomoću revidirane ljestvice za socijalnu anhedoniju, RSAS (engl. *Revised Social Anhedonia Scale*), te revidirane ljestvice za fizičku anhedoniju, RPAS (engl. *Revised Physical Anhedonia Scale*) (38). RPAS ljestvicom procjenjuje se sposobnost doživljavanja zadovoljstva prilikom ugodnih tjelesnih podražaja kao što su hrana (npr. *Kad jedem omiljenu hranu, često nastojim jesti polako kako bi dulje trajalo*), seksualnost (npr. *Smatram da je vođenje ljubavi uglavnom vrlo ugodan doživljaj*), dodir (npr. *Uživam u dodiru svile, baršuna ili krzna*), tjelesna aktivnost (npr. *Šetnje su mi oduvijek bile opuštajuće i ugodne*), glazbeni i vizualni podražaji (npr. *Lijep krajolik izaziva u meni oduševljenje*). Ljestvica sadrži 61 pitanje s odgovorima: TOČNO – NETOČNO. Anhedoničnim se smatraju ženske ispitanice koje imaju 20 ili više bodova, te muški ispitanici s 28 ili više bodova. RSAS ljestvicom procjenjuje se sposobnost doživljavanja zadovoljstva prilikom socijalnih aktivnosti kao što su druženje, razgovor, razmjena iskustava i osjećaja (npr: *Radije gledam TV nego da izlazim van s drugim ljudima. Kada me nešto smeta, volim o tome razgovarati s drugim ljudima. Vožnja automobilom mi je ugodnija ako je netko sa mnom*). Sadrži 40 pitanja, s odgovorima: TOČNO – NETOČNO. Anhedoničnim se smatraju ženske ispitanice sa 16 ili više bodova, a muški ispitanici s 20 ili više bodova (38).

4.3. Eksperimentalni dio istraživanja

Eksperimentalni dio istraživanja proveden je u Laboratoriju za molekularnu neuropsihijatriju, pri Zavodu za molekularnu medicinu, Instituta Ruđer Bošković. Uzorci krvi (oko 5 ml u epruveti s ACD antikoagulansom) kod svih ispitanika uključenih u istraživanje uzeti su u vrijeme kada je učinjena klinička procjena težine simptoma pomoću psihijatrijskih instrumenata i ljestvica**.**

4.3.1. Izolacija DNK

Izolacija DNK iz pune krvi učinjena je metodom isoljavanja prema Milleru (191). Postupak izolacije DNK nakon odmrzavanja uzorka, započinje s 20 minuta miješanja na miješalici koja rotira, potom se iz uzorka odvoji 300 µl krvi u mikroepruvete od 1,5 ml (Eppendorf), a na to se dodaje 900 µl pufera za lizu eritrocita (RCLB, engl. *red cell lysis buffer*), dobro se promiješa vorteks miješalicom i ostavi na ledu 10 min. Nakon toga slijedi postupak centrifugiranja 13000 x g, u trajanju od 2 minute pri temperaturi od 4°C, te se prilikom toga netaknuti leukociti istalože. Potom se supernatant ukloni, a talog se prema potrebi pročišćava resuspendiranjem u RCLB-u (900 µl) i centrifugiranjem na isti način kako je navedeno (13000 x g, 2 min, 4°C). Na dovoljno čisti talog dodaje se 300 µl SE pufera i 30 µl 10%-og natrijevog dodecil sulfata (SDS). Smjesa se potom lagano promiješa okretanjem mikroepruvete, doda se 1,5 µl proteinaze K i uzorci se inkubiraju u zagrijanom bloku u trajanju od 2 sata na temperaturi od 56°C, pri čemu leukociti liziraju. Nakon provedene inkubacije se dodaje 110 µl 5 mM NaCl i sve skupa još promiješa vorteks miješalicom 10 sekundi. Nakon toga se uzorci centrifugiraju 13000 x g 5 minuta na sobnoj temperaturi, te se tako dobije DNK u supernatantu, a ostali stanični dijelovi ostanu u talogu. Potom se supernatant prelije u novu sterilnu mikroepruvetu i dodaju se 2 volumna udjela oko 800 µl hladnog izopropanola te se lagano promiješa. Na taj način se izazove taloženje DNK koja postane vidljiva kao netopiv splet. Nakon toga se centrifugira 2 minute na 13000 x g, a talog se spušta na dno mikroepruvete. Supernatant se odlije, a preostali talog ispire dodatkom 200 µl 75%-og etanola i centrifugira ponovo 2 minute na 13000 x g pri sobnoj temperaturi. Supernatant se odlije, a mikroepruvete se dodatno posuše, prislone na papir i suše 20 minuta s otvorenim poklopcem u digestoru. Nakon toga se osušenom talogu dodaje 100 µl TE pufera i sve se ostavi preko noći na

sobnoj temperaturi kako bi se DNK u potpunosti otopila. Nakon toga se uzorci DNK mogu pohraniti na temperaturi od +4°C.

Kod postupka su upotrijebljene kemikalije u sastavu: pufer za lizu eritrocita sadrži: 10 mM Tris, 5 mM MgCl2, 10 mM NaCl; pH 7.6; pufer SE sadrži: 75 mM NaCl, 25 mM EDTA; pH 8; 5 M NaCl; proteinaza K (20 mg/ml); 10% natrijev dodecil sulfat (SDS); etanol 96%, 70%; izopropanol; pufer TE: 10 mM Tris, 1 mM EDTA; pH 7.6.

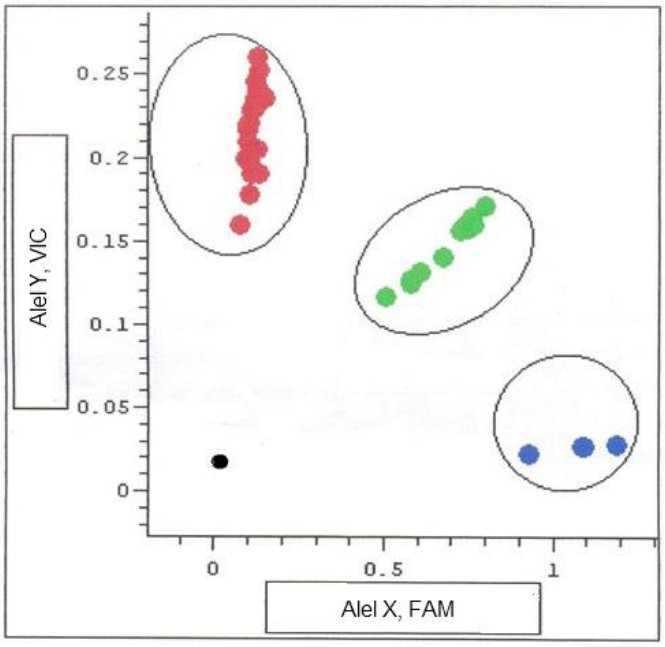
4.3.2. Genotipizacija obzirom na polimorfizme gena COMT i MAO-B

Genotipovi u ispitanika s obzirom na polimorfizme rs4680 i rs4818 gena COMT, te rs1799836 i rs6651806 gena MAO-B određeni su metodom lančane reakcije polimeraze (PCR) u stvarnom vremenu (engl. *real-time PCR*). Korišteni su komercijalno dostupni kompleti za određivanje tih polimofrizama, tj. zamjene jedne baze ili SNP-ova tvrtke Applied Biosystems (SAD) i uređaja „ABI Prism 7300 Sequence Detection System“ istog proizvođača.

Metoda genotipizacije se temelji na hibridizaciji obilježenih oligonukleotidnih proba i njima komplementarnih mjesta na lancu DNK. Probe se na 5' kraju obilježavaju jednom fluorescentnom bojom (VIC i FAM), te se vežu za specifičan slijed koji sadrži jednu promijenjenu bazu. Na 3' kraju obje probe imaju vezan utišivač fluorescencije (engl. *nonfluorescent quencher*, NFQ). Kada je proba vezana za komplementarni slijed na lancu DNK, koji u isto vrijeme služi kao kalup u lančanoj reakciji polimerazom (PCR), utišivač fluorescencije i fluorescentna boja se nalaze na takvoj udaljenosti koja omogućuje utišivaču da spriječi fluorescenciju boje. Tijekom produljivanja početnica (engl. *primer*), enzim DNK polimeraza pocijepa vezane probe, pa boja više nije pod utjecajem utišivača boje i počinje fluorescirati što se onda bilježi uređajem kao signal. Upravo jačina i vrsta zabilježenog signala omogućuje određivanje genotipa. Slijedom navedenog, fluorescencija jedne boje upućuje na homozigotnost i prisutnost jednog alela, a fluorescencija obje boje upućuje na prisutnost oba alela i heterozigotnost. Prilikom genotipizacije metodom PCR-a u stvarnom vremenu potreban je određeni sastav reakcijske smjese i uvjeti reakcije. Smjesa sadrži: TaqMan univerzalnu matičnu mješavinu (12,5 µl za COMT i MAO-B); TaqMan mješavinu proba i početnica (1,25 µl za COMT i 0,625 µl za MAO-B); DNK (1-20 ng) otopljenu u vodi (11,25 µl za COMT i MAO-B); što na kraju čini 25 µl (za COMT i MAO-B) ukupnog volumena.

Pristupni brojevi kod Applied Biosystems: C_25746809_50 za rs4680 (COMT), C_2538750_10 za rs4818 (COMT), C_8878790_10 za rs1799836 (MAO-B) i C_29047318_10 za rs6651806 (MAO-B).

Potrebni uvjeti reakcije prilikom genotipizacije metodom PCR-a u stvarnom vremenu su: početni koraci: 95°C, 10 min za COMT i MAO-B; denaturacija: 92°C, 15 s za COMT i MAO-B; vezanje i produljenje početnica: 60°C i 1,5 min za COMT, te 60°C i 1 min za MAO-B. Prije početka same reakcije, uređaj bilježi početnu, a nakon završetka reakcije i završnu razinu fluorescencije u reakcijskoj smjesi. Računalni program daje izračun i vizualni prikaz razine fluorescencije za svaku boju, te konačan rezultat uključuje ispis razine fluorescencije za svaku boju i grafički prikaz kao na Slici 4.1.



Slika 4.1. Grafički prikaz rezultata genotipizacije metodom PCR-a u stvarnom vremenu. Na osima x i y su vrijednosti fluorescencije nastale za vrijeme reakcije (na osi x obilježene su bojom FAM, a one na osi y bojom VIC). Crveni i plavi krugovi označavaju homozigote za jedan ili drugi alel, a zeleni krugovi heterozigote kod kojih se javlja podjednaka fluorescencija obiju boja; dok je crni krug negativna kontrola, kod koje ne dolazi do reakcije uslijed nedostataka kalupa.

4.4. Statistička obrada podataka

Analiza veličine učinka, dovoljnog broja uzoraka i snage statističkog testa prije istraživanja, *a priori,* utvrđena je pomoću G*power 3.1.6. testa.

Statistička obrada podataka provedena je u programu Graph Prism version 7.00 (GraphPad Software, Inc.). Normalnost distribucije numeričkih varijabli ispitana je Kolmogorov-Smirnov testom. S obzirom da je većina podataka odstupala od normalne distribucije, u obradi su korišteni neparametrijski statistički testovi. Kruskal-Wallisova analiza varijance (ANOVA) i Mann-Whitneyev test rangova korišteni su pri usporedbi broja bodova na psihometrijskim i kliničkim ljestvicama između dvije ili više grupa. Prosječne vrijednosti iskazane su kao medijan i interkvartilni rang (25. i 75. percentila) i rezultati većine slika su prikazani kao medijani i interkvartilni rangovi (25. i 75. percentila) ili kao postotci. Za utvrđivanje razlike u distribuciji genotipova i haplotipova između dvije ili više grupa ispitanika korišten je hi-kvadrat test (χ^2 - test) (192). Višestruka linearna regresija korištena je kako bi se utvrdio učinak više prediktora na ostvareni broj bodova na psihometrijskim ljestvicama.

Haplotipska analiza provedena je u programima Haploview v. 4.2 (193) i PLINK v. 1.07 (194). Neravnoteža udruživanja (LD, engl. *linkage disequilibrium*) je određena za parove polimorfizama jedne baze (SNP, engl. *single nucleotide polymorphism*) gena COMT (rs4680 i rs4818) i MAO-B (rs1799836 i rs6651806) pri čemu su lokusi smatrani u neravnoteži ukoliko je D' koeficijent bio veći od 0,80. Za svakog bolesnika određeni su najvjerojatniji haplotipski parovi koristeći algoritam maksimizacije očekivanja (EM-algoritam, engl. *expectation maximization algorithm*) koristeći PLINK v. 1.07. S obzirom da se oba ispitivana polimorfizma gena MAO-B nalaze na X-kromosomu, osim genotipske analize provedena je i analiza alela kod svih ispitanika, te posebna analiza prema spolu. Svi testovi su bili dvostrani, a razina značajnosti je postavljena na p=0,05.

5. REZULTATI

5.1. Demografski podaci

Istraživanje je uključivalo ukupno 302 ispitanika oboljelih od shizofrenije (prosječni broj bodova na ljestvici PANSS je bio 68), koji nisu bili međusobno u rodu, prosječne dobi 42 godine, pri čemu je muških ispitanika bilo 178 (58,9%), a ispitanica 124 (41,1%). Tablica 5.1. prikazuje demografske podatke ispitanika iz čega je vidljivo da su ispitanici oba spola u prosjeku bili slične stručne spreme i radnog statusa. Kod oba spola najviše su bili zastupljene osobe srednje stručne spreme (73,0% kod muških ispitanika i 59,7% kod ispitanica) koje su najčešće bile umirovljene (37,6% kod muških ispitanika i 39,5% kod ispitanica) ili u radnom odnosu (37,6% kod muških ispitanika i 31,5% kod ispitanica). Međutim, značajno više muških ispitanika je bilo neoženjeno (78,7%) naspram 48,4% neudanih ispitanica, dok je postotak udanih ispitanica bio značajno viši (35,5%) nego postotak oženjenih muških ispitanika (14,6%) (χ^2=30,225; df=3; p<0,001).
Značajne razlike primijećene su i u odnosu na pušenje (χ^2=7,649; df=1; p=0,006), konzumaciju alkohola (χ^2=4,914; df=1; p=0,027) i prethodno uzimanje droga (χ^2=15,927; df=1; p<0,001) pri čemu su muški ispitanici češće bili pušači (57,3%), dok je postotak ispitanica koje puše bio 41,1% u ispitivanoj skupini. Također, zastupljenost muških ispitanika koji konzumiraju alkohol (16,9%) i koji imaju povijest uzimanja droga (29,8%) je značajno veći nego postotak ispitanica koje konzumiraju alkohol (8,1%) i koje imaju povijest uzimanja droga (10,5%) (Tablica 5.1.).
Nije bilo značajnih razlika između spolova u učestalosti terapije tipičnim i atipičnim antipsihoticima (u tipične antipsihotike uvršteni su haloperidol, flufenazin, promazin, levopromazin i zuklopentiksol, a u atipične sulpirid, amisulprid, olanzapin, klozapin, risperidon, paliperidon, aripiprazol, ziprasidon, kvetiapin i sertindol) (χ^2=2,230; df=2; p=0,328) kao ni u terapijskoj dozi izraženoj u ekvivalentima klorpromazina (U=10818,5; p=0,771). Također, postotak ispitanika koji su ikada pokušali suicid bio je podjednak kod muških (21,9%) i ženskih (23,4%) (Tablica 5.1.).

Tablica 5.1. Demografski podaci ispitanika podijeljenih po spolu prikazani kao broj (N) i frekvencija pojavljivanja (%) ili kao medijan i interkvartilni rang.

	Muškarci (N=178)		Žene (N=124)		Statistika
Dob	41 (31;50)		45 (38;53)		U=9235,0; **p=0,016**
Indeks tjelesne mase / kg	27,5 (24,3;30,9)		27,3 (23,6;32,4)		U=11002,5; p=0,964
Dob prvog pregleda	23 (19;30)		25 (19;33)		U=10102,0; p=0,210
Stručna sprema					
Niža	17	9,6%	12	9,7%	
Srednja	130	73,0%	74	59,7%	
Viša	11	6,2%	9	7,3%	χ^2=8,784; df=4; p=0,067
Visoka	19	10,7%	27	21,8%	
Mr. sc.	1	0,6%	2	1,6%	
Bračni status					
Neoženjen/a	140	78,7%	60	48,4%	
Oženjen/a	26	14,6%	44	35,5%	χ^2=30,225; df=3; **p<0,001**
Rastavljen/a	11	6,2%	17	13,7%	
Udovac/udovica	1	0,6%	3	2,4%	
Radni status					
Školovanje	6	3,4%	6	4,8%	
Zaposlen/a	67	37,6%	39	31,5%	χ^2=1,524; df=3; p=0,677
Nezaposlen/a	38	21,3%	30	24,2%	
Umirovljen/a	67	37,6%	49	39,5%	
Pušenje					
Nepušači	76	42,7%	73	58,9%	χ^2=7,649; df=1; **p=0,006**
Pušači	102	57,3%	51	41,1%	
Konzumacija alkohola					
Ne	148	83,1%	114	91,9%	χ^2=4,914; df=1; **p=0,027**
Da	30	16,9%	10	8,1%	
Povijest uzimanja droga					
Ne	125	70,2%	111	89,5%	χ^2=15,927; df=1; **p<0,001**
Da	53	29,8%	13	10,5%	
Pokušaj suicida					
Ne	139	78,1%	95	76,6%	χ^2=0,091; df=1; p=0,762

Da	39	21,9%	29	23,4%	
Terapija antipsihoticima					
Tipični	9	5,1%	8	6,6%	
Atipični	123	69,5%	74	61,2%	χ^2=2,230; df=2; p=0,328
Kombinirana terapija	45	25,4%	39	32,2%	
Terapijska doza antipsihotika / mg/dan[1]	550 (375;850)		538 (350;900)		U=10818,5; p=0,771

[1] Doze antipsihotika su prikazane u ekvivalentima klorpromazina
χ^2 – hi-kvadrat; U – Mann Whitney U vrijednost

Tablica 5.2. prikazuje kliničke podatke ispitanika podijeljenih po spolu, odnosno broj bodova ostvarenih na različitim ljestvicama koje procjenjuju težinu simptoma shizofrenije, prisutnost anhedonije, odnosno težinu negativnih simptoma. Nije bilo značajnih razlika između spolova s obzirom na broj bodova ostvarenih na ljestvici pozitivnih i negativnih sindroma shizofrenije (PANSS) (U=10700,5; p=0,653) niti na globalnoj procjeni funkcionalnosti (GAF) (U=11016; p=0,979), što upućuje na sličnu težinu kliničke slike shizofrenije kod oba spola u ispitanom uzorku (Tablica 5.2.).

Muški ispitanici su imali značajno veći ukupni broj bodova ostvarenih na revidiranoj ljestvici za procjenu fizičke anhedonije (RPAS) od ispitanica (U=9302,0; p=0,020), ali sličan broj bodova na revidiranoj ljestvici za procjenu socijalne anhedonije (RSAS) kao i ispitanice (U=10613,5; p=0,571) (Tablica 5.2. i Slika 5.1.).

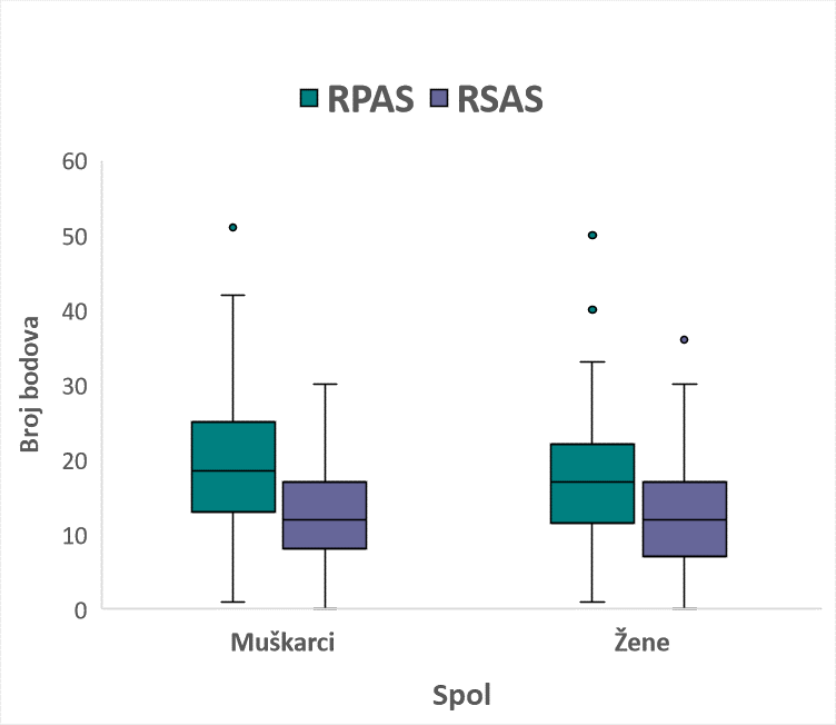
Značajne su razlike pronađene između spolova ovisno o prisutnosti fizičke i socijalne anhedonije (koja se definira kao broj bodova 28 ili više za muškarce, te 20 ili više za žene na ljestvici za procjenu fizičke anhedonije; odnosno 20 ili više za muškarce, te 16 ili više za žene na ljestvici za procjenu socijalne anhedonije). Postotak ispitanica kod kojih je prisutna fizička anhedonija (37,1%) bio je značajno veći od postotka muških ispitanika s fizičkom anhedonijom (20,8%) (χ^2=9,755; df=1; p=0,002). U skladu s tim, postotak ispitanica sa socijalnom anhedonijom (36,0%) bio je značajno veći od muških ispitanika kod kojih je ona bila prisutna (15,2%) (χ^2=8,509; df=1; p=0,004) (Tablica 5.2. i Slika 5.2.).

Broj bodova na ljestvicama za procjenu depresije i negativnih simptoma poput Calgary ljestvice depresije za shizofreniju (CDSS) (U=9755,5; p=0,080), intervjua za kliničku procjenu negativnih simptoma (CAINS) (U=9904,0; p=0,129) i kratke ljestvice negativnih simptoma (BNSS) (U=9938,5; p=0,141), nije se značajno razlikovao između spolova (Tablica 5.2.).

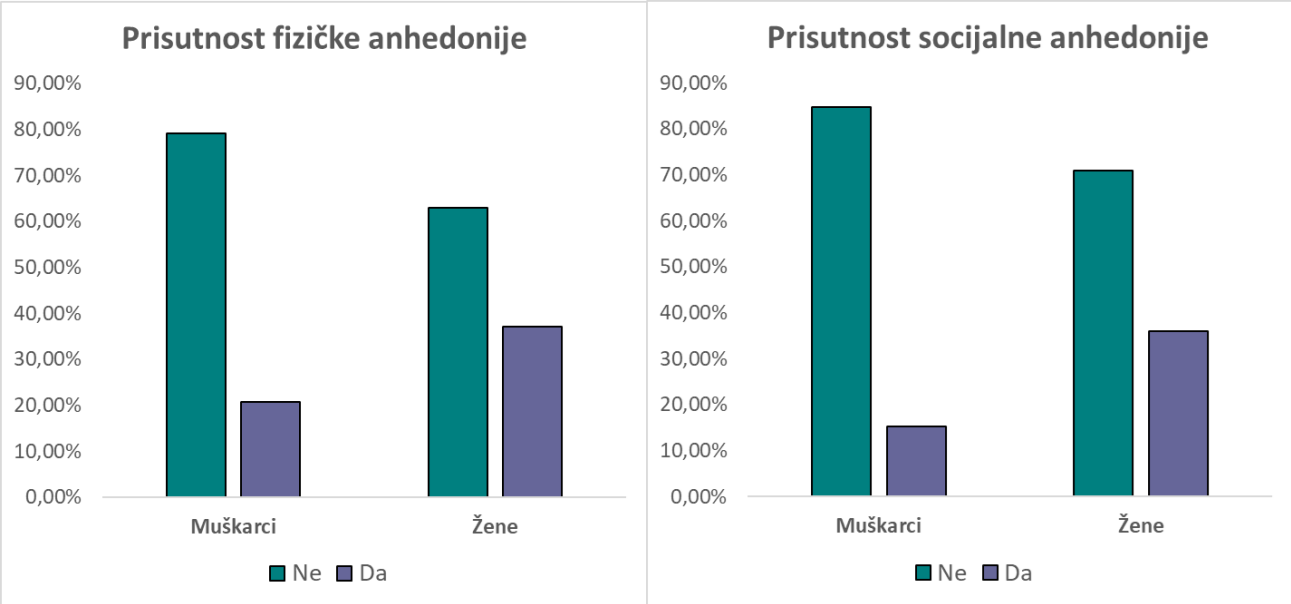
Tablica 5.2. Klinički podaci ispitanika podijeljenih po spolu, prikazani kao broj i frekvencija pojavljivanja (%) ili kao medijan i interkvartilni rang.

	Muškarci (N=178)	Žene (N=124)	Statistika
RPAS	19 (13;25)	17 (12;22)	U=9302,0; **p=0,020**
Fizička anhedonija			
Ne	141 79,2%	78 62,9%	χ^2=9,755; df=1; **p=0,002**
Da	37 20,8%	46 37,1%	
RSAS	12 (8;17)	12 (7;17)	U=10613,5; p=0,571
Socijalna anhedonija			
Ne	151 84,8%	88 71,0%	χ^2=8,509; df=1; **p=0,004**
Da	27 15,2%	36 36,0%	
PANSS	68 (60;79)	67 (59;81)	U=10700,5; p=0,653
CDSS	1 (0;4)	2 (0;6)	U=9755,5; p=0,080
CAINS	23 (17;28)	21 (15;26)	U=9904,0; p=0,129
BNSS	29 (22;37)	27 (21;35)	U=9938,5; p=0,141
GAF	50 (41;61)	51 (41;65)	U=11016; p=0,979

BNSS - Kratka ljestvica negativnih simptoma; CAINS - Intervju za kliničku procjenu negativnih simptoma; CDSS – Calgary ljestvica depresije za shizofreniju; GAF - Globalna procjena funkcionalnosti; PANSS – Ljestvica pozitivnih i negativnih sindroma shizofrenije; RPAS – Revidirana ljestvica za procjenu fizičke anhedonije; RSAS - Revidirana ljestvica za procjenu socijalne anhedonije



Slika 5.1. Težina simptoma fizičke (RPAS) i socijalne (RSAS) anhedonije kod ispitanika podijeljenih po spolu



Slika 5.2. Prisutnost fizičke i socijalne anhedonije kod ispitanika ovisno o spolu

Višestruka linearna regresija korištena je kako bi se ispitao učinak demografskih čimbenika (dobi, spola, stručne spreme, bračnog i radnog statusa, pušenja cigareta, konzumacije alkohola, prethodnog uzimanja droga, pokušaja samoubojstva kao i trenutne doze antipsihotika izražene u ekvivalentima klorpromazina) na težinu simptoma shizofrenije ispitane ljestvicom PANSS i opće funkcionalnosti procijenjene ljestvicom GAF (Tablica 5.3.), težinu simptoma fizičke i socijalne anhedonije s obzirom na broj bodova ostvarenih na ljestvicama RPAS i RSAS (Tablica 5.4.), te izraženost depresivnih i negativnih simptoma procijenjenih ljestvicama CDSS, CAINS i BNSS (Tablica 5.5.).

Primijećena je značajna pozitivna korelacija dobi i težine simptoma fizičke ($p=0,048$) i socijalne anhedonije ($p=0,035$), te potvrđen utjecaj spola na ljestvici za procjenu fizičke anhedonije, pri čemu su muški ispitanici imali veći broj bodova u odnosu na ispitanice (Tablica 5.4.), dok kod drugih ljestvica dob i spol ispitanika nisu bili značajni prediktori ostvarenih broja bodova (Tablica 5.3. i Tablica 5.5.).

Stručna sprema ispitanika bila je značajno povezana sa simptomima fizičke ($p=0,038$) i socijalne ($p=0,010$) anhedonije (Tablica 5.4.) pri čemu su najveći broj bodova na navedenim ljestvicama imali ispitanici sa nižom stručnom spremom, dok su najniži broj bodova ostvarili magistri znanosti (Slika 5.3.).

Radni status ispitanika bio je značajno povezan s ukupnim brojem bodova na ljestvicama PANSS ($p=0,002$), GAF ($p<0,001$) (Tablica 5.3.), te CAINS ($p<0,001$) i BNSS ($p=0,007$) (Tablica 5.5.), pri čemu su najveći broj bodova imali nezaposleni i umirovljeni ispitanici, a najniži broj bodova ispitanici u radnom odnosu na svim navedenim ljestvicama, osim na ljestvici GAF, gdje su najveći broj bodova imali zaposleni ispitanici, a najniži nezaposleni ispitanici (Slika 5.4.).

Pušenje se pokazalo značajnim prediktorom samo na težinu simptoma socijalne anhedonije ($p=0,039$) (Tablica 5.4.) pri čemu su nepušači imali izraženije simptome od pušača, dok značajan učinak pušenja nije primijećen na ukupan broj bodova na ostalim ljestvicama. Konzumacija alkohola i prethodno uzimanje droga nije bilo značajno povezano s brojem bodova na ispitivanim ljestvicama, osim kod procjene opće funkcionalnosti gdje su značajno viši broj bodova ostvarili ispitanici koji nisu konzumirali droge u prošlosti ($p=0,033$) (Tablica 5.3.).

Ispitanici koji su ranije pokušali suicid nisu imali značajno izraženije simptome shizofrenije, socijalne i fizičke anhedonije, depresije te negativne simptome, niti su imali različitu razinu opće funkcionalnosti (Tablica 5.3., Tablica 5.4. i Tablica 5.5.). Kao što je i bilo očekivano, terapijska

doza antipsihotika visoko je korelirala s ukupnim brojem bodova na ljestvicama PANSS (p<0,001), GAF (p<0,001), CAINS (p<0,001) i BNSS (p=0,001), pri čemu je viša doza antipsihotika odgovarala težim simptomima.

Tablica 5.3. Utjecaj demografskih čimbenika na broj bodova ostvarenih na ljestvicama PANSS i GAF, procijenjen višestrukom linearnom regresijom

	PANSS		GAF	
	F	p	F	p
Dob	1,124	0,290	1,766	0,185
Spol	0,202	0,653	2,013	0,157
Stručna sprema	1,506	0,200	2,097	0,081
Bračni status	0,387	0,763	0,862	0,461
Radni status	5,005	**0,002**	20,329	**<0,001**
Pušenje	2,856	0,092	0,236	0,628
Konzumacija alkohola	2,029	0,155	0,526	0,469
Povijest uzimanja droga	1,907	0,168	4,589	**0,033**
Pokušaj suicida	0,964	0,327	0,285	0,594
Terapijska doza antipsihotika	26,906	**<0,001**	26,416	**<0,001**
Model	R^2=0,143		R^2=0,329	

PANSS – Ljestvica pozitivnih i negativnih sindroma shizofrenije; GAF - Globalna procjena funkcionalnosti

Tablica 5.4. Utjecaj demografskih čimbenika na broj bodova ostvarenih na ljestvicama RPAS i RSAS, procijenjen višestrukom linearnom regresijom

	RPAS		RSAS	
	F	p	F	p
Dob	3,933	**0,048**	4,476	**0,035**
Spol	6,391	**0,012**	0,285	0,594
Stručna sprema	2,567	**0,038**	3,394	**0,010**
Bračni status	0,210	0,889	0,231	0,875
Radni status	0,149	0,930	1,484	0,219

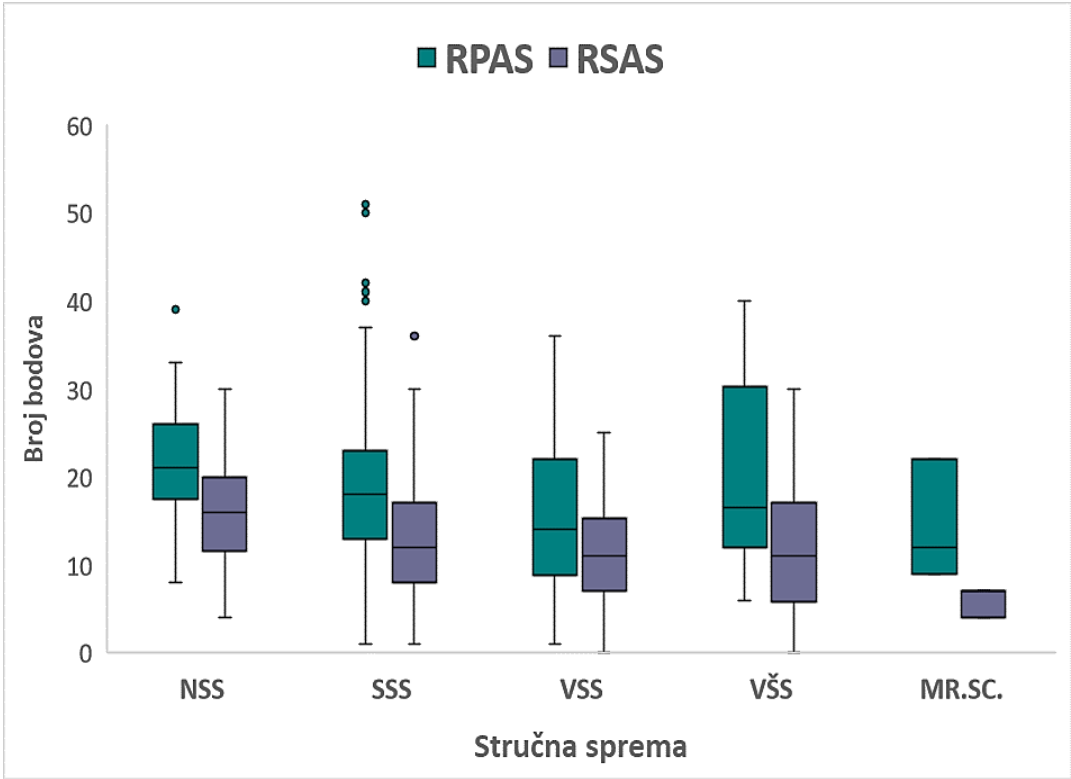
Pušenje	2,752	0,098	4,307	**0,039**
Konzumacija alkohola	0,047	0,828	0,256	0,613
Povijest uzimanja droga	0,263	0,609	0,315	0,575
Pokušaj suicida	0,328	0,567	0,263	0,608
Terapijska doza antipsihotika	0,588	0,444	1,671	0,197
Model	R^2=0,095		R^2=0,095	

RPAS – Revidirana ljestvica za procjenu fizičke anhedonije; RSAS - Revidirana ljestvica za procjenu socijalne anhedonije

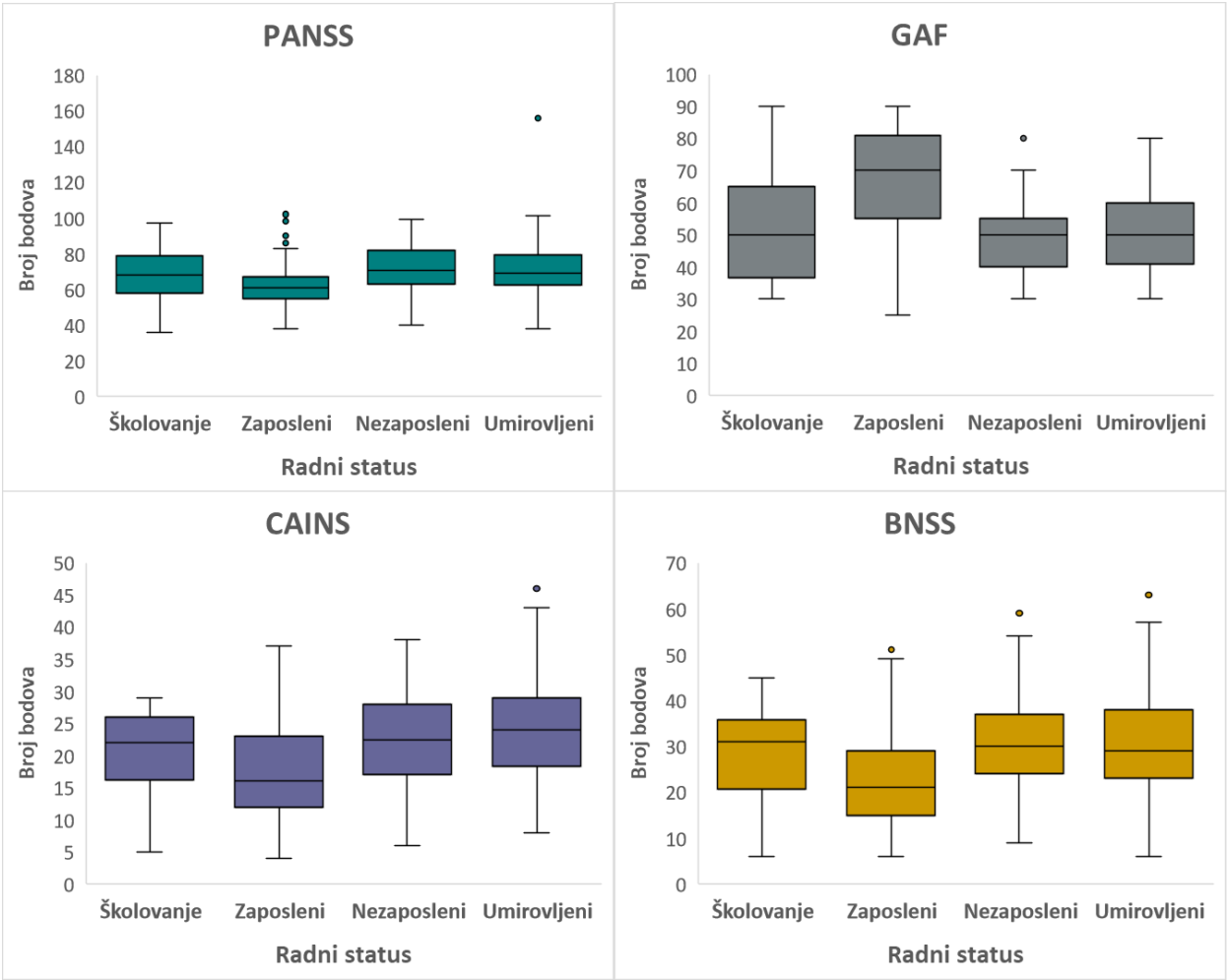
Tablica 5.5. Utjecaj demografskih čimbenika na broj bodova ostvarenih na ljestvicama CDSS, CAINS i BNSS, procijenjen višestrukom linearnom regresijom

	CDSS		CAINS		BNSS	
	F	p	F	p	F	p
Dob	0,058	0,810	3,430	0,065	0,956	0,329
Spol	2,261	0,134	0,717	0,398	0,532	0,467
Stručna sprema	1,685	0,153	1,888	0,113	1,392	0,237
Bračni status	1,626	0,184	0,473	0,701	1,457	0,226
Radni status	2,231	0,085	6,830	**<0,001**	4,164	**0,007**
Pušenje	0,190	0,663	1,483	0,224	2,034	0,155
Konzumacija alkohola	0,267	0,606	0,863	0,354	0,225	0,635
Povijest uzimanja droga	1,806	0,18	0,038	0,845	0,581	0,447
Pokušaj suicida	2,705	0,101	1,319	0,252	1,213	0,272
Terapijska doza antipsihotika	2,655	0,104	13,226	**<0,001**	11,314	**0,001**
Model	R^2=0,108		R^2=0,185		R^2=0,149	

CDSS – Calgary ljestvica depresije za shizofreniju; CAINS - Intervju za kliničku procjenu negativnih simptoma; BNSS - Kratka ljestvica negativnih simptoma



Slika 5.3. Težina simptoma fizičke (RPAS) i socijalne (RSAS) anhedonije ovisno o stručnoj spremi ispitanika



Slika 5.4. Broj bodova na ljestvicama PANSS, GAF, CAINS i BNSS kod ispitanika ovisno o radnom statusu

5.2. Povezanost polimorfizama gena za COMT s anhedonijom i negativnim simptomima

Zastupljenost genotipova i alela s obzirom na polimorfizme rs4680 i rs4818 gena COMT prema spolovima prikazana je u Tablici 5.6. Vidljivo je da su oba spola imala sličnu raspodjelu genotipova obzirom na COMT rs4680 i COMT rs4818, ali su pronađene značajne razlike u zastupljenosti alela A i G među spolovima (χ^2=4,215; df=1; p=0,040) s obzirom na polimorfizam COMT rs4680. Naime, kod ispitanica je bio značajno više zastupljen alel G (54,8%), dok je kod muških ispitanika G alel bio zastupljen s 46,3% (Tablica 5.6.).

Tablica 5.6. Zastupljenost pojedinih genotipova i alela s obzirom na polimorfizme rs4680 i rs4818 gena COMT između ispitanika ovisno o spolu

		Muškarci (N=178)		Žene (N=124)		Statistika
COMT rs4680						
Genotipovi	AA	51	28,7%	27	21,8%	χ^2=4,421; df=2; p=0,110
	AG	89	50,0%	58	46,8%	
	GG	38	21,3%	39	31,5%	
Aleli	A	191	53,7%	112	45,2%	χ^2=4,215; df=1; **p=0,040**
	G	165	46,3%	136	54,8%	
COMT rs4818						
Genotipovi	CC	69	38,8%	41	33,1%	χ^2=4,857; df=2; p=0,088
	CG	87	48,9%	56	45,2%	
	GG	22	12,4%	27	21,8%	
Aleli	C	225	63,2%	138	55,6%	χ^2=3,481; df=2; p=0,062
	G	131	36,8%	110	44,4%	

Ispitana je povezanost polimorfizama rs4680 i rs4818 gena COMT s brojem bodova ostvarenih na ljestvici pozitivnih i negativnih sindroma shizofrenije (PANSS) i globalnoj procjeni funkcionalnosti (GAF), revidiranoj ljestvici za fizičku i socijalnu anhedoniju (RPAS i RSAS), Calgary ljestvici depresije za shizofreniju (CDSS), te ljestvicama za procjenu negativnih simptoma CAINS i BNSS. Osim ukupnog broja bodova na ljestvicama CAINS i BNSS, utjecaj polimorfizama rs4680 i rs4818 ispitan je i na podljestvicama ovih dviju skala: CAINS podljestvici za socijalizaciju (CAINS-SOC), posao (CAINS-WORK), rekreaciju (CAINS-RECR) i ekspresiju (CAINS-EXPR), te BNSS podljestvici za anhedoniju (BNSS-ANH), asocijalnost (BNSS-ASOC), avoliciju (BNSS-AVOL), zaravnjen afekt (BNSS-BLAF) i alogiju (BNSS-ALOG). Razlike u broju ostvarenih bodova ispitane su između nosioca različitih genotipova, te nosioca pojedinih alela s obzirom na polimorfizme COMT rs4680 i rs4818 kod svih ispitanika, te posebno prema spolovima, korištenjem Kruskal-Wallis ANOVA-e testa i Mann Whitneyevog testa. Dodatno je istražena razlika u zastupljenosti pojedinih haplotipova, genotipova i alela između ispitanika kod kojih je bila prisutna fizička, odnosno socijalna anhedonija, te ispitanika kod kojih nije bila prisutna.

5.2.1. COMT rs4680

Polimorfizam rs4680 gena COMT bio je značajno povezan s testom globalne procjene funkcionalnosti, ali samo kod muških ispitanika, pri čemu su nosioci GG genotipa kod kojih je aktivnost enzima COMT najveća u odnosu na ostale genotipove, imali značajno viši broj bodova od nosioca AA genotipa koji je povezan s najmanjom aktivnosti COMT-a (H=12,074; df=2; p=0,002). Rezultati su potvrđeni i kad su promatrani samo aleli, pri čemu su muški nosioci G alela imali veći broj bodova na ljestvici GAF od muških nosioca A alela (U=12610,5; p=0,001). Kod ispitanica i kod svih ispitanika zajedno nije bilo značajnih razlika ovisno o prisutnom genotipu ili alelima (Tablica 5.7.). Također, nije bilo značajnih razlika između nosioca različitih COMT rs4680 genotipova i alela u odnosu na broj bodova na ljestvicama PANSS, CDSS te nijednoj ljestvici za anhedoniju (RPAS, RSAS) niti u ukupnom uzorku, niti kad su ispitanici promatrani posebno prema spolu.

Tablica 5.7. Težina simptoma fizičke i socijalne anhedonije, shizofrenije, depresije, te procijenjena opća funkcionalnost ispitanika obzirom na polimorfizam rs4680 gena COMT

		RPAS	RSAS	PANSS	CDSS	GAF
Svi ispitanici						
Genotipovi	AA	18 (13;23)	13 (7;16)	68 (61;80)	3 (0;4)	50 (41;60)
	AG	18 (13;23)	12 (7;16)	68 (57;78)	2 (0;5)	55 (41;70)
	GG	17 (12;22)	13 (8;18)	66 (60;80)	1 (0;4)	50 (41;65)
Statistika*		H=1,664; df=2; p=0,435	H=1,198; df=2; p=0,549	H=0,662; df=2; p=0,718	H=1,857; df=2; p=0,395	H=4,496; df=2; p=0,106
Aleli	A	18 (13;23)	12 (7;16)	68 (59;79)	2 (0;5)	50 (41;61)
	G	18 (12;23)	13 (8;17)	67 (59;78)	1 (0;5)	51 (41;65)
Statistika**		U=43103,5; p=0,244	U=44291,5; p=0,541	U=43895,5; p=0,426	U=42989,5; p=0,214	U=42064,5; p=0,098
Muškarci						
Genotipovi	AA	20 (13;27)	13 (8;17)	70 (63;80)	3 (0;4)	45 (41;50)
	AG	19 (14;25)	11 (8;16)	68 (57;78)	1 (0;4)	55 (41;70)
	GG	16 (12;22)	14 (8;18)	66 (60;73)	1 (0;3)	55 (50;70)

Statistika*		H=3,433; df=2; p=0,180	H=1,851; df=2; p=0,396	H=2,168; df=2; p=0,338	H=3,093; df=2; p=0,213	H=12,074; df=2; **p=0,002**
Aleli	A	20 (14;26)	12 (8;16)	69 (61;79)	2 (0;4)	50 (41;60)
	G	17 (17;23)	12 (8;17)	67 (59;77)	1 (0;4)	55 (45;70)
Statistika**		U=14072,5; p=0,082	U=15491,5; p=0,783	U=14429,5; p=0,170	U=14136,5; p=0,086	U=12610,5; **p=0,001**
Žene						
Genotipovi	AA	14 (10;21)	11 (6;14)	65 (58;76)	2 (0;4)	51 (45;65)
	AG	18 (12;22)	12 (7;16)	69 (57;79)	3 (1;7)	55 (40;70)
	GG	18 (11;23)	13 (7;17)	66 (59;82)	0 (0;5)	50 (40;61)
Statistika*		H=0,595; df=2; p=0,743	H=0,567; df=2; p=0,753	H=0,375; df=2; p=0,829	H=2,895; df=2; p=0,235	H=1,096; df=2; p=0,578
Aleli	A	17 (17;21)	12 (7;15)	67 (58;77)	3 (1;5)	51 (41;65)
	G	18 (12;22)	13 (7;17)	66 (59;82)	2 (0;6)	50 (40;63)
Statistika**		U=7215,0; p=0,475	U=7199; p=0,458	U=7457,0; p=0,777	U=7504,0; p=0,840	U=7030,0; p=0,296

*Kruskal-Wallis ANOVA; **Mann-Whitney test; CDSS – Calgary ljestvica depresije za shizofreniju; GAF – globalna procjena funkcionalnosti; PANSS – Ljestvica pozitivnih i negativnih sindroma shizofrenije; RPAS – Revidirana ljestvica za procjenu fizičke anhedonije; RSAS - Revidirana ljestvica za procjenu socijalne anhedonije

Iako nije utvrđena značajna povezanost COMT rs4680 sa simptomima fizičke i socijalne anhedonije procijenjene ljestvicama RPAS i RSAS, polimorfizam COMT rs4680 bio je značajno povezan s ostalim ljestvicama koje mjere negativne simptome, ali samo kod ispitanica. Naime, nositeljice genotipa GG imale su značajno veći broj bodova na CAINS podljestvici za socijalizaciju u odnosu na nositeljice drugih genotipova (H=6,719; df=2; p=0,035). Također, prisustvo alela G je bilo povezano s većim ukupnim brojem bodova na ljestvici CAINS (U=6245,0; p=0,015) te podljestvicama za socijalizaciju (U=6144,0; p=0,008), posao (U=6499,0; p=0,044) i rekreaciju (U=6384,0; p=0,025), (Tablica 5.8.) te na BNSS podljestvici za anhedoniju (U=6336,0; p=0,022) (Tablica 5.9. i Slika 5.5.), isključivo kod ispitanica. Kod muških ispitanika i kod svih ispitanika zajedno, nije pronađena značajna povezanost polimorfizma COMT rs4680 i težine negativnih simptoma.

Tablica 5.8. Težina negativnih simptoma ispitanika procijenjena pomoću intervjua za kliničku procjenu negativnih simptoma (CAINS) i podljestvicama za socijalizaciju, posao, rekreaciju i ekspresiju s obzirom na polimorfizam rs4680 gena COMT

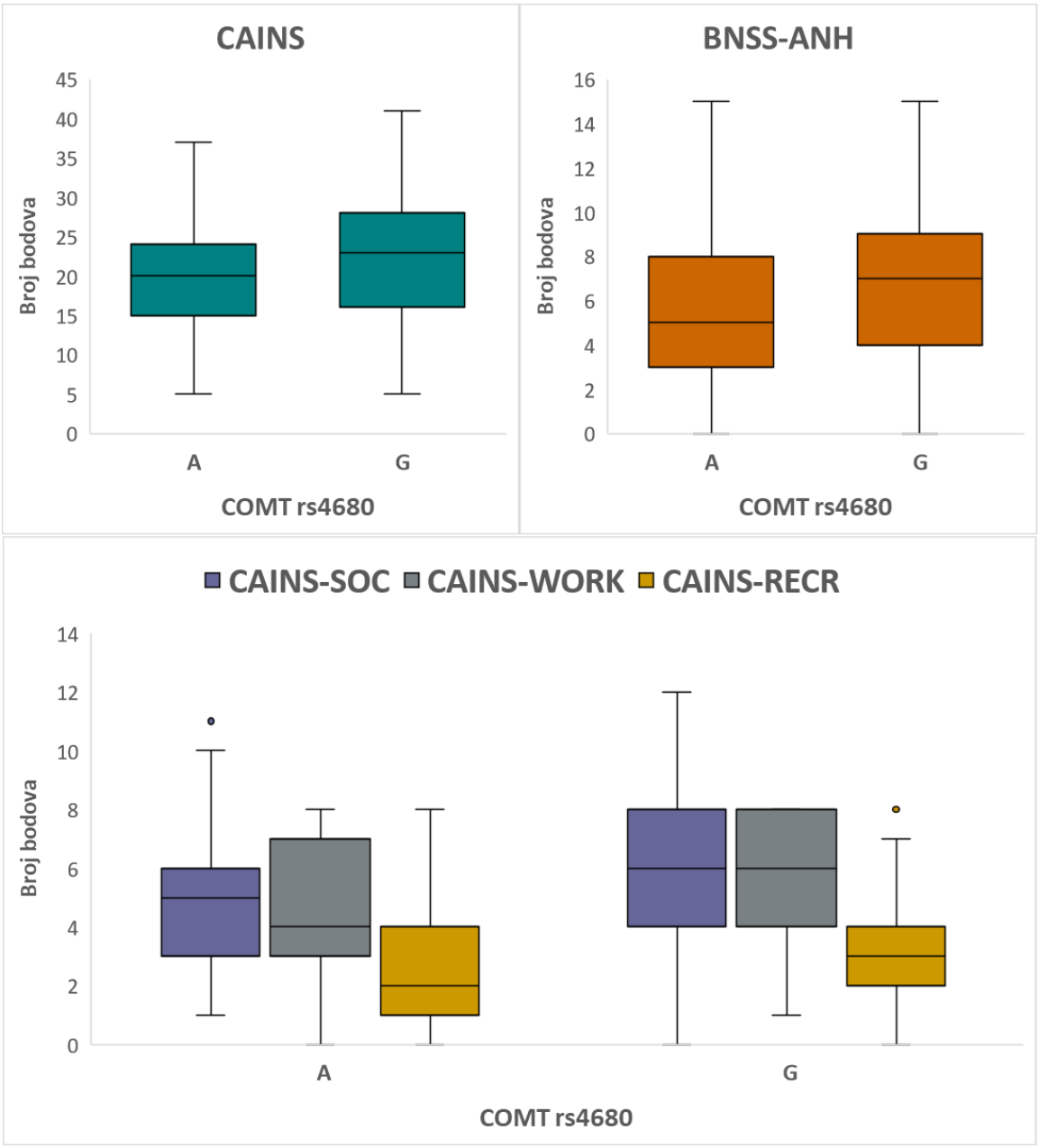
		CAINS	CAINS-SOC	CAINS-WORK	CAINS-RECR	CAINS-EXPR
Svi ispitanici						
Genotipovi	AA	21 (17;27)	6 (4;8)	6 (3;7)	3 (2;4)	7 (4;9)
	AG	22 (15;27)	6 (4;7)	5 (3;7)	3 (2;4)	6 (5;9)
	GG	23 (18;28)	6 (5;8)	6 (4;7)	3 (2;4)	6 (5;9)
Statistika*		H=1,732; df=2; p=0,421	H=2,557; df=2; p=0,278	H=1,946; df=2; p=0,378	H=1,595; df=2; p=0,450	H=0,389; df=2; p=0,823
Aleli	A	21 (16;27)	6 (4;8)	5 (3;7)	3 (2;4)	6 (4;9)
	G	23 (16;28)	6 (4;8)	5 (4;7)	3 (2;4)	6 (5;9)
Statistika**		U=43221,5; p=0,267	U=42547,5; p=0,152	U=44213,5; p=0,513	U=42946,5; p=0,205	U=45191,5; p=0,848
Muškarci						
Genotipovi	AA	23 (18;29)	6 (4;9)	4 (7;3)	2 (4;7)	7 (5;9)
	AG	23 (16;28)	6 (4;8)	3 (7;3)	2 (4;7)	7 (5;9)
	GG	23 (17;28)	6 (5;8)	3 (7;3)	2 (4;7)	7 (5;9)
Statistika*		H=0,350; df=2;p=0,839	H=0,230; df=2; p=0,891	H=2,401; df=2; p=0,301	H=0,063; df=2; p=0,969	H=0,248; df=2; p=0,884
Aleli	A	23 (17;28)	6 (4;8)	6 (4;7)	3 (2;4)	7 (5;9)
	G	23 (17;28)	6 (4;8)	5 (3;7)	3 (2;4)	7 (5;9)
Statistika**		U=15428,5; p=0,734	U=15658,5; p=0,918	U=14911,5; p=0,378	U=15571,5; p=0,844	U=15666,5; p=0,925
Žene						
Genotipovi	AA	19 (15;23)	5 (2;6)	4 (3;7)	2 (1;3)	6 (4;8)
	AG	21 (15;26)	5 (2;7)	5 (3;7)	3 (2;4)	6 (4;9)
	GG	24 (18;28)	6 (4;8)	6 (4;8)	3 (2;4)	6 (4;10)
Statistika*		H=5,573; df=2; p=0,056	H=6,719; df=2; **p=0,035**	H=3,830; df=2; p=0,147	H=4,901; df=2; p=0,086	H=0,323; df=2; p=0,851
Aleli	A	20 (15;24)	5 (3;6)	5 (3;7)	2 (2;4)	6 (4;8)
	G	22 (16;28)	6 (4;7)	6 (4;8)	3 (2;4)	6 (4;9)
Statistika**		U=6245,0; **p=0,015**	U=6144,0; **p=0,008**	U=6499,0; **p=0,044**	U=6384,0; **p=0,025**	U=7342; p=0,624

*Kruskal-Wallis ANOVA; **Mann-Whitney test; CAINS - Intervju za kliničku procjenu negativnih simptoma; CAINS-EXPR – podljestvica za ekspresiju; CAINS-RECR – podljestvica za rekreaciju; CAINS-SOC – podljestvica za socijalizaciju, CAINS-

Tablica 5.9. Težina negativnih simptoma ispitanika procijenjena pomoću kratke ljestvice negativnih simptoma (BNSS) i podljestvica za anhedoniju, asocijalnost, avoliciju, zaravnjen afekt i alogiju s obzirom na polimorfizam rs4680 gena COMT

		BNSS	BNSS-ANH	BNSS-ASOC	BNSS-AVOL	BNSS-BLAF	BNSS-ALOG
Svi ispitanici							
Genotipovi	AA	28 (23;35)	6 (3;8)	4 (2;4)	6 (4;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
	AG	28 (19;37)	6 (3;9)	4 (2;4)	5 (3;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
	GG	28 (24;37)	7 (4;9)	4 (3;5)	6 (3;8)	8 (6;11)	2 (1;4)
Statistika*		H=1,244; df=2; p=0,537	H=1,858; df=2; p=0,395	H=1,655; df=2; p=0,437	H=2,120; df=2; p=0,346	H=0,521; df=2; p=0,771	H=0,615; df=2; p=0,735
Aleli	A	28 (21;35)	6 (3;9)	4 (2;4)	5 (4;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
	G	28 (22;37)	6 (4;9)	4 (2;5)	6 (3;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
Statistika**		U=44225,5; p=0,521	U=42661,5; p=0,168	U=44185,5; p=0,495	U=45184,5; p=0,845	U=44819,5; p=0,714	U=44085,5; p=0,471
Muškarci							
Genotipovi	AA	28 (23;36)	6 (5;8)	4 (3;5)	6 (4;8)	8 (6;11)	2 (1;4)
	AG	29 (20;37)	6 (4;9)	4 (2;5)	5 (3;7)	8 (6;11)	3 (0;4)
	GG	28 (23;35)	6 (4;9)	4 (3;5)	6 (3;8)	8 (6;11)	2 (1;4)
Statistika*		H=0,073; df=2; p=0,964	H=0,460; df=2; p=0,794	H=0,156; df=2; p=0,925	H=2,223; df=2; p=0,329	H=0,578; df=2; p=0,749	H=0,907; df=2; p=0,635
Aleli	A	29 (23;36)	6 (4;9)	4 (3;5)	6 (4;8)	8 (6;11)	2 (1;4)
	G	29 (21;37)	6 (4;9)	4 (3;5)	5 (3;7)	8 (6;11)	2 (1;4)
Statistika**		U=15497,5; p=0,788	U=15640,5; p=0,903	U=15620,5; p=0,884	U=14588,5; p=0,224	U=15744,5; p=0,989	U=15502,5; p=0,789
Žene							
Genotipovi	AA	14 (10;21)	5 (3;7)	3 (2;4)	4 (4;7)	8 (6;10)	2 (0;4)
	AG	18 (12;22)	5 (3;9)	3 (2;4)	5 (3;6)	8 (5;11)	2 (0;4)
	GG	18 (11;23)	8 (5;10)	4 (2;5)	6 (4;8)	8 (6;12)	2 (0;5)
Statistika*		H=0,595; df=2; p=0,743	H=5,286; df=2; p=0,071	H=4,295; df=2; p=0,117	H=2,688; df=2; p=0,261	H=0,295; df=2; p=0,863	H=1,146; df=2; p=0,564
Aleli	A	25 (19;33)	5 (3;8)	3 (2;4)	4 (3;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
	G	27 (22;37)	7 (4;9)	4 (2;4)	6 (3;7)	8 (6;12)	2 (0;4)
Statistika**		U=6674,0; p=0,094	U=6336,0; **p=0,022**	U=6676,0; p=0,081	U=6874,0; p=0,183	U=7303,0; p=0,576	U=7075,0; p=0,323

*Kruskal-Wallis ANOVA; **Mann-Whitney test rangova; BNSS - Kratka ljestvica negativnih simptoma; BNSS-ANH – podljestvica za anhedoniju; BNSS-ASOC – podljestvica za asocijalnost; BNSS-AVOL - podljestvica za avoliciju, BNSS-BLAF - podljestvica za zaravnjen afekt; BNSS-ALOG - podljestvica za alogiju



Slika 5.5. Broj bodova na intervjuu za kliničku procjenu negativnih simptoma (CAINS) i podljestvicama za socijalizaciju (CAINS-SOC), posao (CAINS-WORK) i rekreaciju (CAINS-RECR), te kratkoj ljestvici negativnih simptoma - podljestvici za anhedoniju (BNSS-ANH), kod ispitanica ovisno o alelima A ili G polimorfizma rs4680 gena COMT

Hi-kvadrat testom ispitana je razlika u frekvenciji pojavljivanja različitih genotipova i alela s obzirom na polimorfizam rs4680 gena COMT, ovisno o prisutnosti fizičke i socijalne anhedonije. Nije bilo značajnih razlika u zastupljenosti pojedinih genotipova i alela između ispitanika s i bez fizičke, odnosno s i bez socijalne anhedonije. Razlike nisu pronađene niti kad su analizirani ispitanici posebno prema spolu (Tablica 5.10.).

Tablica 5.10. Zastupljenost pojedinih genotipova i alela s obzirom na polimorfizam rs4680 gena COMT između ispitanika ovisno o prisutnosti fizičke i socijalne anhedonije

		Fizička anhedonija				Socijalna anhedonija			
		Ne (N=219)		Da (N=83)		Ne (N=239)		Da (N=63)	
Genotipovi	AA	57	26,0%	21	25,3%	66	27,6%	12	19,0%
	AG	106	48,4%	41	49,4%	116	48,5%	31	49,2%
	GG	56	25,6%	21	25,3%	57	23,8%	20	31,7%
Statistika*		χ^2=0,026; df=2; p=0,987				χ^2=2,641; df=2; p=0,267			
Aleli	A	220	50,2%	83	50,0%	248	51,9%	55	43,7%
	G	218	49,8%	83	50,0%	230	48,1%	71	56,3%
Statistika**		χ^2=0,003; df=1; p=0,960				χ^2=2,703; df=1; p=0,100			
Muškarci									
Genotipovi	AA	40	28,4%	11	29,7%	44	29,1%	7	25,9%
	AG	70	49,6%	19	51,4%	75	49,7%	14	51,9%
	GG	31	22,0%	7	18,9%	32	21,2%	6	22,2%
Statistika*		χ^2=0,165; df=2; p=0,912				χ^2=1,116; df=2; p=0,944			
Aleli	A	150	53,2%	41	55,4%	163	54,0%	28	51,9%
	G	132	46,8%	33	44,6%	139	46,0%	26	48,1%
Statistika**		χ^2=0,116; df=1; p=0,734				χ^2=0,083; df=1; p=0,773			
Žene									
Genotipovi	AA	17	21,8%	10	21,7%	22	25,0%	5	13,9%
	AG	36	46,2%	22	47,8%	41	46,6%	17	47,2%
	GG	25	32,1%	14	30,4%	25	28,4%	14	38,9%
Statistika*		χ^2=0,041; df=2; p=0,980				χ^2=2,343; df=2; p=0,310			
Aleli	A	70	44,9%	42	45,7%	85	48,3%	27	37,5%
	G	86	55,1%	50	54,3%	91	51,7%	45	62,5%
Statistika**		χ^2=0,014; df=1; p=0,905				χ^2=2,404; df=1; p=0,121			

5.2.2. COMT rs4818

Kao i kod polimorfizma COMT rs4680, značajan utjecaj polimorfizma COMT rs4818 primijećen je samo kod muških ispitanika kod globalne procjene funkcionalnosti (GAF), pri čemu su najveći broj bodova na ljestvici GAF imali heterozigoti, odnosno nositelji CG genotipa (H=8,482; df=2; p=0,014), dok je analizom C ili G alela uočen viši broj bodova kod nositelja alela G (U=12631,5; p=0,024), (Tablica 5.11.) u odnosu na nositelje alela C obzirom na COMT rs4818. Kod svih ispitanika i posebno kod ispitanica nisu uočene značajne razlike u ostvarenim bodovima na ljestvici GAF s obzirom na polimorfizam COMT rs4818. Značajne razlike nisu uočene u težini simptoma shizofrenije (PANSS), fizičke i socijalne anhedonije (RPAS, RSAS) niti depresije (CDSS) kod ispitanika s obzirom na polimorfizam COMT rs4818, niti nakon podjele ispitanika prema spolu (Tablica 5.11.).

Tablica 5.11. Težina simptoma fizičke i socijalne anhedonije, shizofrenije, depresije te procijenjena opća funkcionalnost ispitanika s obzirom na polimorfizam rs4818 gena COMT

		RPAS	RSAS	PANSS	CDSS	GAF
Svi ispitanici						
Genotipovi	CC	18 (13;23)	12 (7;16)	68 (59;79)	2 (0;4)	50 (41;60)
	CG	18 (13;24)	12 (7;17)	68 (58; 78)	1 (0;5)	55 (41;70)
	GG	17 (12;21)	13 (8;17)	68 (60;82)	2 (0;6)	50 (41;65)
Statistika*		H=1,194; df=2; p=0,550	H=1,092; df=2; p=0,579	H=0,032; df=2; p=0,984	U=0,884; df=2; p=0,643	H=1,420; df=2; p=0,492
Aleli	C	18 (13;23)	12 (7;16)	68 (59;79)	2 (0;4)	50 (41;61)
	G	18 (12;23)	13 (8;17)	68 (60;79)	2 (0;5)	51 (41;65)
Statistika**		U=41649,5; p=0,319	U=41666,5; p=0,323	U=43507,5; p=0,911	U=43026,5; p=0,949	U=41878,5; p=0,373
Muškarci						
Genotipovi	CC	20 (13;26)	12 (8;17)	70 (63;80)	2 (0;4)	50 (41;55)
	CG	19 (13;25)	12 (7;16)	67 (57;75)	1 (0;4)	55 (41;70)
	GG	17 (13;20)	14 (8;18)	70 (60;82)	1 (0;6)	50 (45;65)
Statistika*		H=1,896; df=2; p=0,387	H=1,168; df=2; p=0,558	H=2,907; df=2; p=0,234	H=2,608; df=2; p=0,271	H=8,482; df=2; **p=0,014**
Aleli	C	19 (13;25)	12 (8;17)	68 (61;79)	2 (0;4)	50 (41;60)

	G	18 (13;23)	13 (8;17)	68 (59;77)	1 (0;4)	51 (41;70)
Statistika**		U=13528,5; p=0,196	U=14669,5; p=0,942	U=13997,5; p=0,429	U=13767,5; p=0,289	U=12631,5; **p=0,024**
Žene						
Genotipovi	CC	17 (12;21)	10 (6;14)	64 (57;71)	2 (0;4)	51 (45;70)
	CG	18 (13;22)	13 (8;17)	70 (61;83)	3 (0;6)	50 (40;63)
	GG	17 (10;23)	13 (7;17)	66 (59;82)	2 (1;7)	51 (41;61)
Statistika*		H=0,223; df=2; p=0,895	H=2,789; df=2; p=0,248	H=3,695; df=2; p=0,158	H=1,064; df=2; p=0,587	H=2,530; df=2; p=0,282
Aleli	C	17 (12;21)	11 (7;15)	66 (57;78)	2 (0;5)	51 (41;70)
	G	18 (11;22)	13 (7;17)	68 (60;82)	2 (0;6)	51 (40;61)
Statistika**		U=7388,0; p=0,719	U=6732,0; p=0,126	U=7008,0; p=0,300	U=7061,0; p=0,339	U=6951,0; p=0,254

*Kruskal-Wallis ANOVA; **Mann-Whitney test; CDSS – Calgary ljestvica depresije za shizofreniju; GAF – globalna procjena funkcionalnosti; PANSS – Ljestvica pozitivnih i negativnih sindroma shizofrenije; RPAS – Revidirana ljestvica za procjenu fizičke anhedonije; RSAS - Revidirana ljestvica za procjenu socijalne anhedonije

Slično kao i kod prethodnog polimorfizma, kod ispitanica je opažena povezanost polimorfizma COMT rs4818 s negativnim simptomima. Naime, ispitanice s GG genotipom gena COMT rs4818 imale su značajno veći broj bodova na ljestvici CAINS (H=6,838; df=2; p=0,033), CAINS podljestvicama za socijalizaciju (H=8,813; df=2; p=0,012) i posao (H=7,835; df=2; p=0,020) (Tablica 5.11.), te BNSS podljestvici za anhedoniju (H=6,653; df=2; p=0,034) (Tablica 5.12.), u odnosu na nositeljice CC genotipa. Također, nositeljice G alela imale su značajno veći broj bodova na navedenim ljestvicama, te dodatno na CAINS podljestvici za rekreaciju u odnosu na nositeljice alela C (U=6349,0; p=0,024) (Tablica 5.12. i Slika 5.6.).

Tablica 5.12. Težina negativnih simptoma ispitanika procijenjena pomoću intervjua za kliničku procjenu negativnih simptoma (CAINS) i podljestvicama za socijalizaciju, posao, rekreaciju i ekspresiju s obzirom na polimorfizam rs4818 gena COMT

		CAINS	CAINS-SOC	CAINS-WORK	CAINS-RECR	CAINS-EXPR
Svi ispitanici						
Genotipovi	CC	21 (17;26)	5 (4;8)	5 (3;7)	3 (2;4)	7 (4;9)
	CG	22 (16;28)	6 (4;8)	5 (4;7)	3 (2;4)	6 (4;8)
	GG	23 (19;28)	7 (5;8)	6 (4;7)	3 (2;4)	7 (5;9)

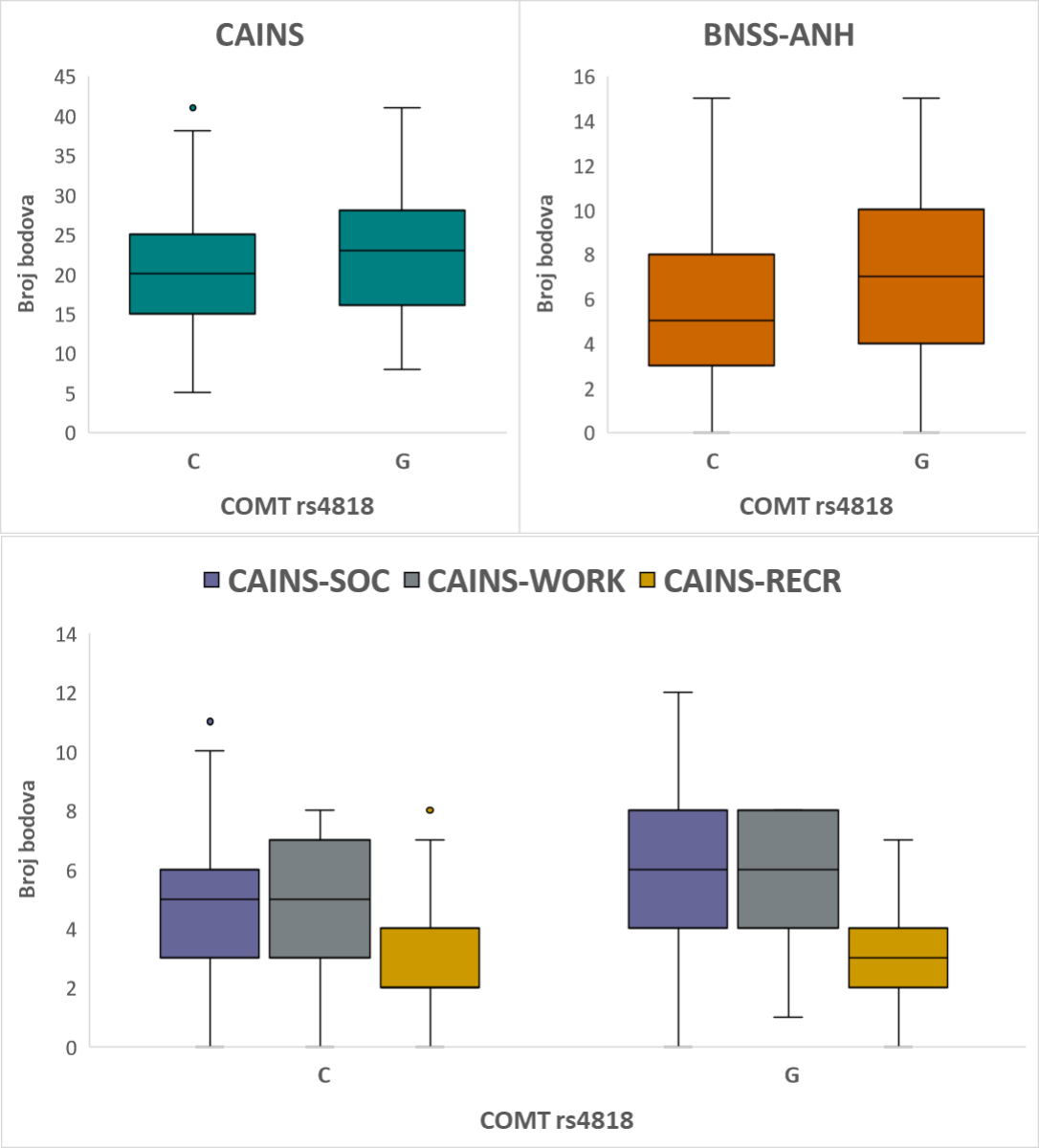
Statistika*		U=2,208; df=2; p=0,332	H=3,795; df=2; p=0,150	H=1,512; df=2; p=0,470	H=1,992; df=2; p=0,799	H=0,449; df=2; p=0,799
Aleli	C	21 (16;27)	6 (4;8)	5 (3;7)	3 (2;4)	6 (4;9)
	G	23 (16;28)	6 (4;8)	5 (4;7)	3 (2;4)	6 (5;9)
Statistika**		U=40862,5; p=0,170	U=40322,5; p=0,101	U=41172,5; p=0,217	U=40887,5; p=0,165	U=43226,5; p=0,805
Muškarci						
Genotipovi	CC	23 (18;28)	6 (4;8)	6 (4;7)	3 (2;4)	7 (5;9)
	CG	22 (16;28)	6 (4;8)	5 (3;7)	3 (2;4)	6 (5;8)
	GG	23 (19;28)	7 (5;8)	5 (3;7)	3 (2;4)	8 (5;9)
Statistika*		H=0,559; df=2; p=0,756	H=0,379; df=2; p=0,827	H=1,006; df=2; p=0,605	H=0,041; df=2; p=0,980	H=1,598; df=2; p=0,450
Aleli	C	23 (17;28)	6 (4;8)	6 (4;7)	3 (2;4)	7 (5;9)
	G	23 (16;28)	6 (4;8)	5 (3;7)	3 (2;4)	7 (5;9)
Statistika**		U=14431,5; p=0,744	U=14677,5; p=0,949	U=14004,5; p=0,429	U=14635,5; p=0,911	U=14634,4; p=0,912
Žene						
Genotipovi	CC	19 (15;23)	5 (3;6)	4 (3;6)	2 (1;3)	6 (4;8)
	CG	22 (15;27)	5 (4;7)	6 (4;8)	3 (2;4)	6 (4;9)
	GG	24 (18;29)	7 (5;8)	6 (4;8)	4 (2;4)	6 (4;8)
Statistika*		H=6,838; df=2; **p=0,033**	H=8,813; df=2; **p=0,012**	H=7,835; df=2; **p=0,020**	H=4,817; df=2; p=0,090	H=0,433; df=2; p=0,805
Aleli	C	20 (15;24)	5 (3;6)	5 (3;7)	2 (2;4)	6 (4;8)
	G	23 (16;28)	6 (4;8)	6 (4;8)	3 (2;4)	6 (4;9)
Statistika**		U=6063,0; **p=0,006**	U=5931,0; **p=0,003**	U=6076,0; **p=0,006**	U=6349,0; **p=0,024**	U=7274,0; p=0,571

*Kruskal-Wallis ANOVA; **Mann-Whitney test; CAINS - Intervju za kliničku procjenu negativnih simptoma; CAINS-EXPR – podljestvica za ekspresiju; CAINS-RECR – podljestvica za rekreaciju; CAINS-SOC – podljestvica za socijalizaciju, CAINS-WORK – podljestvica za posao

Tablica 5.13. Težina negativnih simptoma ispitanika procijenjena pomoću kratke ljestvice negativnih simptoma (BNSS) i podljestvica za anhedoniju, asocijalnost, avoliciju, zaravnjen afekt i alogiju s obzirom na polimorfizam rs4818 gena COMT

		BNSS	BNSS-ANH	BNSS-ASOC	BNSS-AVOL	BNSS-BLAF	BNSS-ALOG
Svi ispitanici							
Genotipovi	CC	27 (21;35)	5 (3;8)	4 (2;4)	5 (4;7)	8 (5;11)	2 (0;4)
	CG	29 (20;37)	6 (4;9)	4 (2;5)	5 (3;7)	8 (6;11)	2 (1;4)
	GG	28 (24;35)	7 (4;10)	4 (3;5)	6 (3;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
Statistika*		H=0,556; df=2; p=0,757	H=3,618; df=2; p=0,164	H=1,529; df=2; p=0,466	H=0,027; df=2; p=0,986	H=0,325; df=2; p=0,850	H=0,748; df=2; p=0,688
Aleli	C	28 (21;36)	6 (3;9)	4 (2;5)	5 (4;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
	G	28 (22;37)	7 (4;10)	4 (2;5)	6 (3;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
Statistika**		U=42245,5; p=0,476	U=39887,5; p=0,065	U=42389,5; p=0,506	U=43644,5; p=0,963	U=42570,5; p=0,992	U=43720,5; p=0,992
Muškarci							
Genotipovi	CC	28 (23;36)	6 (5;8)	4 (3;5)	6 (4;8)	8 (5;11)	2 (1;4)
	CG	29 (20;37)	6 (4;10)	4 (2;5)	5 (2;7)	8 (6;11)	2 (1;4)
	GG	29 (23;34)	6 (4;9)	4 (3;4)	6 (3;7)	8 (6;11)	2 (1;4)
Statistika		H=0,110; df=2; p=0,946	H=0,332; df=2; p=0,847	H=0,244; df=2; p=0,885	H=1,093; df=2; p=0,386	H=0,251; df=2; p=0,882	H=0,706; df=2; p=0,703
Aleli	C	29 (22;37)	6 (4;9)	4 (2;5)	6 (4;8)	8 (6;11)	2 (1;4)
	G	29 (22;37)	6 (4;10)	4 (3;5)	5 (3;7)	8 (6;11)	2 (1;4)
Statistika		U=14495,5; p=0,796	U=14583,5; p=0,869	U=14578,5; p=0,861	U=13614,5; p=0,227	U=14683,5; p=0,954	U=14727,5; p=0,991
Žene							
Genotipovi	CC	24 (18;32)	5 (3;7)	3 (2;4)	4 (2;6)	8 (6;10)	2 (0;3)
	CG	27 (20;38)	7 (4;9)	3 (2;4)	5 (3;8)	8 (6;12)	2 (0;4)
	GG	27 (24;37)	8 (4;10)	4 (2;5)	6 (3;8)	8 (6;12)	2 (0;4)
Statistika		H=2,650; df=2; p=0,266	H=6,653; df=2; **p=0,034**	H=3,406; df=2; p=0,182	H=2,656; df=2; p=0,265	H=1,230; df=2; p=0,541	H=0,115; df=2; p=0,944
Aleli	C	27 (19;33)	5 (3;8)	3 (2;4)	5 (3;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
	G	27 (22;37)	7 (4;10)	4 (2;4)	6 (3;8)	8 (6;12)	2 (0;4)
Statistika		U=6649,0; p=0,093	U=6119,0; **p=0,008**	U=6700,0; p=0,098	U=6752,0; p=0,132	U=7149,0; p=0,430	U=7515,0; p=0,891

*Kruskal-Wallis ANOVA; **Mann-Whitney test; BNSS - Kratka ljestvica negativnih simptoma; BNSS-ANH – podljestvica za anhedoniju; BNSS-ASOC – podljestvica za asocijalnost; BNSS-AVOL - podljestvica za avoliciju, BNSS-BLAF - podljestvica za zaravnjen afekt; BNSS-ALOG - podljestvica za alogiju



Slika 5.6. Broj bodova na intervjuu za kliničku procjenu negativnih simptoma (CAINS) i podljestvicama za socijalizaciju (CAINS-SOC), posao (CAINS-WORK) i rekreaciju (CAINS-RECR), te kratkoj ljestvici negativnih simptoma - podljestvici za anhedoniju (BNSS-ANH), kod ispitanica ovisno o alelima C i G polimorfizma rs4818 gena COMT

Nije primijećena razlika u frekvenciji pojavljivanja genotipova i alela s obzirom na polimorfizam rs4818 gena COMT između ispitanika s fizičkom ili socijalnom anhedonijom u odnosu na ispitanike bez anhedonije (Tablica 5.14.) kod svih ispitanika zajedno, niti posebno kod muških

ispitanika. Međutim, ispitanice koje su imale socijalnu anhedoniju su češće bile nositeljice alela G (54,2%) u odnosu na ispitanice bez socijalne anhedonije kod kojih je alel G bio rjeđe zastupljen (40,3%).

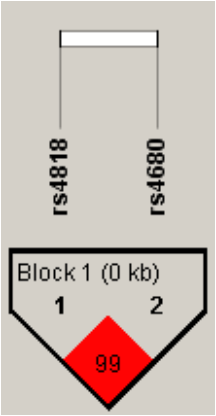
Tablica 5.14. Zastupljenost pojedinih genotipova i alela s obzirom na polimorfizam rs4818 gena COMT između ispitanika ovisno o prisutnosti fizičke, odnosno socijalne anhedonije

		Fizička anhedonija				Socijalna anhedonija			
		Ne (N=219)		Da (N=83)		Ne (N=239)		Da (N=63)	
Svi ispitanici									
Genotipovi	CC	81	37,0%	29	34,9%	92	38,5%	18	28,6%
	CG	102	46,6%	41	49,4%	111	46,4%	32	50,8%
	GG	36	16,4%	13	15,7%	36	15,1%	13	20,6%
Statistika		χ^2=0,193; df=2; p=0,908				χ^2=2,501; df=2; p=0,283			
Aleli	C	264	60,3%	99	59,6%	295	61,7%	68	54,0%
	G	174	39,7%	67	40,4%	183	38,3%	58	46,0%
Statistika		χ^2=0,020; df=1; p=0,887				χ^2=2,496; df=1; p=0,114			
Muškarci									
Genotipovi	CC	55	39,0%	14	37,8%	58	38,4%	11	40,7%
	CG	68	48,2%	19	51,4%	74	49,0%	13	48,1%
	GG	18	12,8%	4	10,8%	19	12,6%	3	11,1%
Statistika		χ^2=0,160; df=2; p=0,923				χ^2=0,076; df=2; p=0,963			
Aleli	C	178	63,1%	47	63,5%	190	62,9%	35	64,8%
	G	104	36,9%	27	36,5%	112	37,1%	19	35,2%
Statistika		χ^2=0,004; df=1; p=0,950				χ^2=0,071; df=1; p=0,790			
Žene									
Genotipovi	CC	26	33,3%	15	32,6%	34	38,6%	7	19,4%
	CG	34	43,6%	22	47,8%	37	42,0%	19	52,8%
	GG	18	23,1%	9	19,6%	17	19,3%	10	27,8%
Statistika		χ^2=0,283; df=2; p=0,868				χ^2=4,337; df=2; p=0,114			
Aleli	C	86	55,1%	52	56,5%	105	59,7%	33	45,8%
	G	70	44,9%	40	43,5%	71	40,3%	39	54,2%
Statistika		χ^2=0,046; df=1; p=0,831				χ^2=3,957; df=1; **p=0,047**			

5.2.3. Haplotipska analiza COMT rs4818-rs4680

Kombinacijom dvaju polimorfizama i njihovih alela, za rs4818 aleli C i G, te za rs4680 aleli A i G, nastaju haplotipovi: CA, CG, GA, i GG.

Neravnoteža udruživanja (engl. *linkage disequilibrium*, LD) za polimorfizme rs4680 i rs4818 gena COMT izračunata je pomoću Haploview programa v. 4.2 i prikazana na Slici 5.7. Obzirom da su lokusi bili snažno povezani (D'=99, LOD>2), za svakog ispitanika su određeni haplotipski parovi pomoću programa PLINK v. 1.07. Zastupljenost pojedinih haplotipova kod ispitanika je iznosila 48,6% za haplotip CA, 38,6% za haplotip GG, 9,8% za CG, te 0,2% za haplotip GA. Pri čemu je kod muških ispitanika zastupljenost haplotipova CA, GG, CG i GA bila redom 53,4%, 36,5%, 9,8% i 0,3%, a kod ispitanica 45,2%, 44,4%, 10,5%, 0,0%. Nije bilo razlike u zastupljenosti pojedinih haplotipova s obzirom na spol (χ^2=4,289; df=2; p=0,117). S obzirom da je haplotip GA bio prisutan u samo jednog ispitanika (<1%), nije ulazio u daljnju statističku obradu.



Slika 5.7. Grafički prikaz neravnoteže udruživanja (LD) za 2 polimorfizma gena COMT (rs4818 i rs4680) kod ispitanika. Koeficijent neravnoteže udruživanja (D') prikazan je u crvenom kvadratu.

Haplotip rs4818-rs4680 nije bio značajno povezan s brojem bodova ostvarenim na ljestvicama za fizičku i socijalnu anhedoniju, PANSS ljestvici i Calgary ljestvici za depresiju niti nakon podjele po spolu (Tablica 5.15.). Međutim, muški ispitanici nositelji CG haplotipa su imali značajno viši broj bodova na GAF ljestvici u odnosu na nositelje CA (H=10,804; df=2; p=0,005). Značajne razlike u općoj funkcionalnosti ovisno o haplotipu nisu primijećene kod ispitanica (Tablica 5.15.).

Tablica 5.15. Težina simptoma fizičke i socijalne anhedonije, shizofrenije, depresije te procijenjena opća funkcionalnost ispitanika s obzirom na haplotip rs4818-rs4680 gena COMT

	RPAS	RSAS	PANSS	CDSS	GAF
Svi ispitanici					
CA	18 (13;23)	12 (7;16)	68 (59;79)	2 (0;5)	50 (41;61)
GG	18 (12;23)	13 (8;17)	68 (60;80)	2 (0;5)	51 (41;65)
CG	18 (12;23)	11 (7;17)	66 (56;75)	1 (0;4)	51 (45;70)
Statistika*	H=1,342; df=2; p=0,511	H=0,958; df=2; p=0,619	H=2,083; df=2; p=0,353	H=4,007; df=2; p=0,135	H=3,167; df=2; p=0,205
Muškarci					
CA	20 (14;26)	12 (8;16)	69 (61;79)	2 (0;4)	50 (41;60)
GG	18 (13;23)	13 (8;18)	68 (59;77)	1 (0;4)	53 (41;70)
CG	17 (12;24)	12 (8;18)	66 (58;74)	1 (0;3)	55 (50;61)
Statistika	H=3,027; df=2; p=0,220	H=0,255; df=2; p=0,880	H=1,996; df=2; p=0,369	H=2,754; df=2; p=0,252	H=10,804; df=2; **p=0,005**
Žene					
CA	17 (12;21)	12 (7;15)	67 (58;77)	3 (1;5)	51 (41;65)
GG	18 (11;22)	13 (7;17)	68 (60;82)	2 (0;6)	51 (40;61)
CG	19 (13;22)	11 (6;14)	66 (54;80)	1 (0;5)	50 (41;70)
Statistika	H=0,648; df=2; p=0,723	H=3,065; df=2; p=0,216	H=1,981; df=2; p=0,371	H=3,689; df=2; p=0,158	H=1,346; df=2; p=0,510

*Kruskal-Wallis ANOVA; **Mann-Whitney test; CDSS – Calgary ljestvica depresije za shizofreniju; GAF – globalna procjena funkcionalnosti; PANSS – Ljestvica pozitivnih i negativnih sindroma shizofrenije; RPAS – Revidirana ljestvica za procjenu fizičke anhedonije; RSAS - Revidirana ljestvica za procjenu socijalne anhedonije

Uočena je značajna povezanost GG haplotipa rs4818-rs4680 s negativnim simptomima, odnosno ukupnom broju bodova ostvarenom na ljestvici CAINS (H=7,579; df=2; p=0,023), te podljestvicama za socijalizaciju (H=9,026; df=2; p=0,011) i posao (H=7,564; df=2; p=0,023), te na BNSS podljestvici za anhedoniju (H=7,0421; df=2; p=0,030), ali samo kod ispitanica (Tablica 5.16. i Slika 5.8.). Kod muških ispitanika i kod svih ispitanika zajedno ova značajna povezanost nije postojala.

Tablica 5.16. Težina negativnih simptoma ispitanika procijenjena pomoću intervjua za kliničku procjenu negativnih simptoma (CAINS) i podljestvicama za socijalizaciju, posao, rekreaciju i ekspresiju s obzirom na haplotip rs4818-rs4680 gena COMT

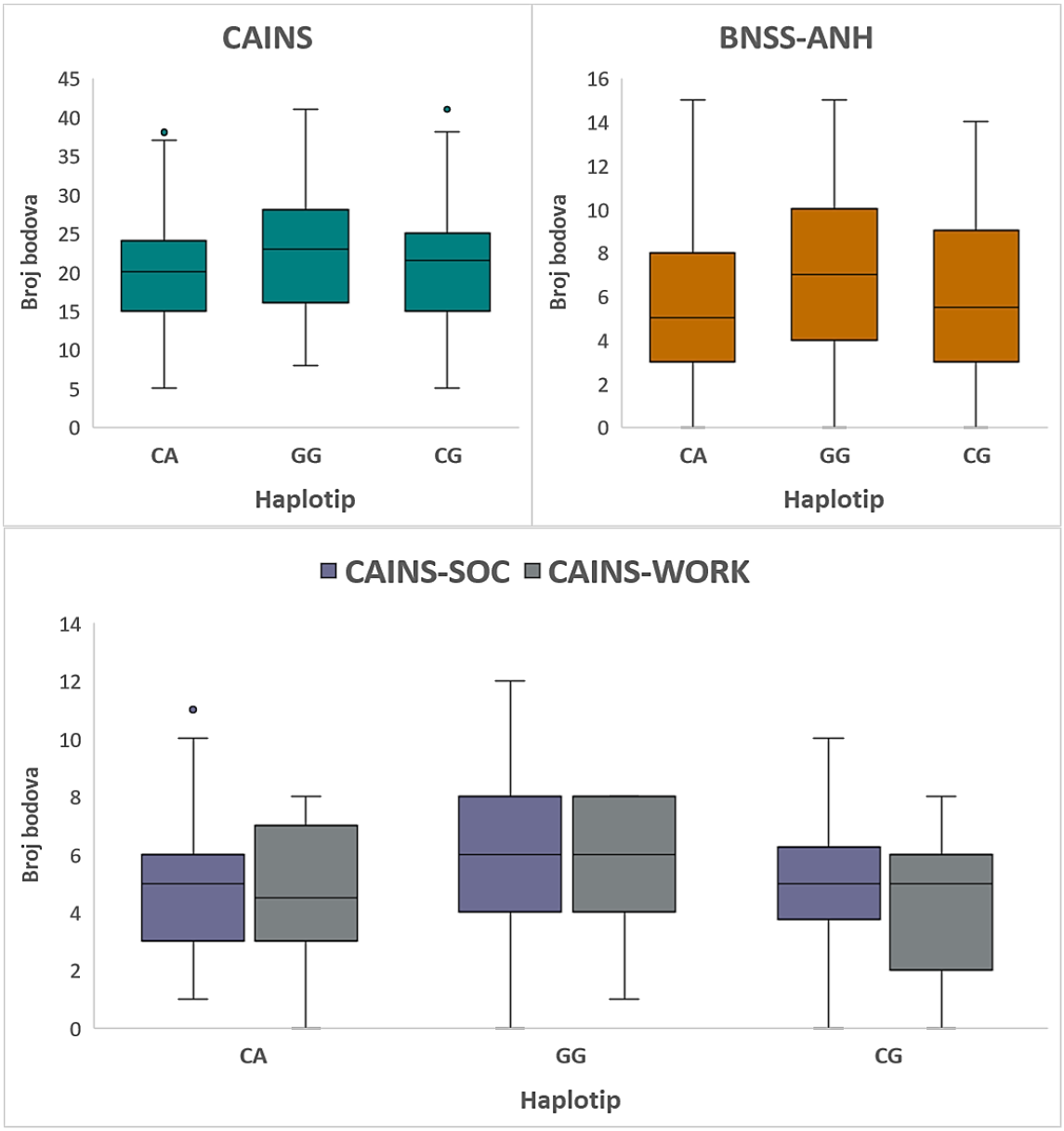
	CAINS	CAINS-SOC	CAINS-WORK	CAINS-RECR	CAINS-EXPR
Svi ispitanici					
CA	21 (16;27)	6 (4;8)	5 (3;7)	3 (2;4)	6 (4;9)
GG	23 (16;28)	6 (4;8)	5 (4;7)	3 (2;4)	6 (5;9)
CG	22 (16;27)	6 (4;8)	5 (3;7)	3 (2;4)	6 (4;9)
Statistika*	H=1,761; df=2; p=0,414	H=2,629; df=2; p=0,269	H=1,524; df=2; p=0,467	H=1,939; df=2; p=0,379	H=0,089; df=2; p=0,956
Muškarci					
CA	23 (17;28)	6 (4;8)	6 (4;7)	3 (2;4)	7 (5;9)
GG	23 (16;28)	6 (4;8)	5 (3;7)	3 (2;4)	7 (5;9)
CG	23 (17;28)	6 (5;8)	6 (3;7)	3 (2;4)	6 (4;9)
Statistika	H=0,164; df=2; p=0,921	H=0,054; df=2; p=0,973	H=0,824; df=2; p=0,662	H=0,048; df=2; p=0,976	H=0,024; df=2; p=0,988
Žene					
CA	20 (15;24)	5 (3;6)	5 (3;7)	2 (2;4)	6 (4;8)
GG	23 (16;28)	6 (4;8)	6 (4;8)	3 (2;4)	6 (4;9)
CG	22 (15;25)	5 (4;6)	5 (2;6)	3 (2;4)	6 (4;10)
Statistika	H=7,579; df=2; **p=0,023**	H=9,026; df=2; **p=0,011**	H=7,564; df=2; **p=0,023**	H=5,585; df=2; p=0,061	H=0,324; df=2; p=0,850

*Kruskal-Wallis ANOVA; CAINS - Intervju za kliničku procjenu negativnih simptoma; CAINS-EXPR – podljestvica za ekspresiju; CAINS-RECR – podljestvica za rekreaciju; CAINS-SOC – podljestvica za socijalizaciju, CAINS-WORK – podljestvica za posao

Tablica 5.17. Težina negativnih simptoma ispitanika procijenjena pomoću kratke ljestvice negativnih simptoma (BNSS) i podljestvica za anhedoniju, asocijalnost, avoliciju, zaravnjen afekt i alogiju s obzirom na haplotip rs4818-rs4680 gena COMT

	BNSS	BNSS-ANH	BNSS-ASOC	BNSS-AVOL	BNSS-BLAF	BNSS-ALOG
Svi ispitanici						
CA	28 (21;35)	6 (3;9)	4 (4;4)	5 (4;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
GG	28 (22;37)	7 (4;10)	4 (2;5)	6 (3;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
CG	28 (20;37)	6 (4;9)	4 (2;5)	6 (3;7)	8 (5;11)	2 (2;4)
Statistika*	H=0,502; df=2; p=0,778	H=3,216; df=2; p=0,200	H=0,564; df=2; p=0,754	H=0,025; df=2; p=0,988	H=0,426; df=2; p=0,808	H=1,517; df=2; p=0,468
Muškarci						
CA	29 (23;36)	6 (4;9)	4 (3;5)	6 (4;8)	8 (6;11)	2 (1;4)
GG	29 (22;37)	6 (4;9)	4 (3;5)	5 (3;7)	8 (6;11)	2 (1;4)
CG	28 (20;39)	6 (4;9)	4 (2;5)	6 (3;8)	8 (6;12)	3 (0;4)
Statistika	H=0,089; df=2; p=0,956	H=0,072; df=2; p=0,965	H=0,162; df=2; p=0,922	H=1,696; df=2; p=0,428	H=0,053; df=2; p=0,974	H=0,187; df=2; p=0,911
Žene						
CA	25 (19;33)	5 (3;8)	3 (2;4)	4 (3;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
GG	27 (22;37)	7 (4;10)	4 (2;4)	6 (3;8)	8 (6;12)	2 (0;4)
CG	29 (16;33)	6 (3;9)	4 (2;6)	6 (2;7)	8 (4;11)	2 (2;5)
Statistika	H=3,108; df=2; p=0,211	H=7,0421; df=2; **p=0,030**	H=3,206; df=2; p=0,201	H=2,305; df=2; p=0,316	H=0,641; df=2; p=0,726	H=2,260; df=2; p=0,323

*Kruskal-Wallis ANOVA; BNSS - Kratka ljestvica negativnih simptoma; BNSS-ANH – podljestvica za anhedoniju; BNSS-ASOC – podljestvica za asocijalnost; BNSS-AVOL - podljestvica za avoliciju, BNSS-BLAF - podljestvica za zaravnjen afekt; BNSS-ALOG - podljestvica za alogiju



Slika 5.8. Broj bodova na intervjuu za kliničku procjenu negativnih simptoma (CAINS) i podljestvicama za socijalizaciju (CAINS-SOC), posao (CAINS-WORK), te kratkoj ljestvici negativnih simptoma - podljestvici za anhedoniju (BNSS-ANH), kod ispitanica ovisno o haplotipu rs4818-rs4680 gena COMT

Nije bilo značajnih razlika u frekvenciji pojavljivanja pojedinih haplotipova gena COMT ovisno o prisutnosti fizičke ili socijalne anhedonije kod svih ispitanika, niti posebno kod ženskih ili muških ispitanika (Tablica 5.18.).

Tablica 5.18. Zastupljenost pojedinih genotipova i alela s obzirom na haplotip rs4818-rs4680 gena COMT između ispitanika ovisno o prisutnosti fizičke, odnosno socijalne anhedonije

	Fizička anhedonija		Socijalna anhedonija	
	Ne (N=219)	Da (N=83)	Ne (N=239)	Da (N=63)
Svi ispitanici				
CA	50,1%	50,0%	51,8%	43,7%
GG	39,6%	40,4%	38,2%	46,0%
CG	10,3%	9,6%	10,1%	10,3%
Statistika	χ^2=0,070; df=2; p=0,966		χ^2=2,876; df=2; p=0,237	
Muškarci				
CA	53,0%	55,4%	53,8%	51,9%
GG	36,7%	36,5%	36,9%	35,2%
CG	10,3%	8,1%	9,3%	13,0%
Statistika	χ^2=0,353; df=2; p=0,838		χ^2=0,691; df=2; p=0,708	
Žene				
CA	44,9%	45,7%	48,3%	37,5%
GG	44,9%	43,5%	40,3%	54,2%
CG	10,3%	10,9%	11,4%	8,3%
Statistika	χ^2=0,054; df=2; p=0,973		χ^2=3,968; df=2; p=0,138	

5.3. Povezanost polimorfizama gena za MAO-B s anhedonijom i negativnim simptomima

Tablica 5.19. prikazuje zastupljenost genotipova i alela s obzirom na polimorfizme rs1799836 i rs6651806 gena MAO-B kod ispitanika, prema spolu. Obzirom da se oba lokusa nalaze na X kromosomu, genotipovi postoje kod žena dok su kod muškaraca istraživani aleli. Za polimorfizam rs1799836, kod muškaraca su to A ili G aleli, dok su kod žena genotipovi AA, GA i GG. Za polimorfizam rs6651806, kod muškaraca su to A ili C aleli, dok su kod žena genotipovi bili AA, AC ili CC, odnosno A i C aleli. Međutim, raspodjela alela kod oba spola bila je otprilike podjednaka za oba polimorfizma. Aleli A i G polimorfizma rs1799836 bili su otprilike zastupljeni u omjeru 1:1 i kod oba spola (χ^2=0,030; df=1; p=0,860), dok je alel A polimorfizma rs6651806 bio kod oba spola zastupljen otprilike 70%, a alel C s 30% (χ^2=3,481; df=1; p=0,062) (Tablica

5.19.).

U istraživanje je uključeno ukupno 302 ispitanika, ali za MAO-B polimorfizme 16 uzoraka nije bilo zadovoljavajuće kvalitete i zbog toga nisu uključeni u studiju, pa je analizirano 286 uzoraka.

Tablica 5.19. Zastupljenost pojedinih genotipova i alela s obzirom na polimorfizme rs1799836 i rs6651806 gena MAO-B između ispitanika ovisno o spolu

		Muškarci (N=166)		Žene (N=120)		Statistika
MAO-B rs1799836						
Genotipovi	AA/A	85	51,2%	32	26,7%	
	GA	0	0,0%	61	50,8%	
	GG/G	81	48,8%	27	22,5%	
Aleli	A	85	51,2%	125	52,1%	χ^2=0,030; df=1; p=0,860
	G	81	48,8%	115	47,9%	
MAO-B rs6651806						
Genotipovi	AA/A	119	71,7%	59	49,2%	
	AC	0	0,0%	47	39,2%	
	CC/C	47	28,3%	14	11,7%	
Aleli	A	119	71,7%	165	68,8%	χ^2=3,481; df=1; p=0,062
	C	47	28,3%	75	31,3%	

Istražene su razlike u broju bodova ostvarenih na ljestvicama PANSS, CDSS, GAF, RPAS, RSAS, CAINS i BNSS, te njihovim podljestvicama za socijalizaciju (CAINS-SOC), posao (CAINS-WORK), rekreaciju (CAINS-RECR) i ekspresiju (CAINS-EXPR), te BNSS podljestvici za anhedoniju (BNSS-ANH), asocijalnost (BNSS-ASOC), avoliciju (BNSS-AVOL), zaravnjen afekt (BNSS-BLAF) i alogiju (BNSS-ALOG) u odnosu na polimorfizme rs1799836 i rs6651806 gena MAO-B kod svih ispitanika zajedno, te posebno prema spolu. Dodatno je istražena razlika u zastupljenosti pojedinih haplotipova, genotipova i alela ovisno o prisutnosti fizičke i socijalne anhedonije.

5.3.1. MAO-B rs1799836

Broj bodova na ljestvicama PANSS, CDSS, GAF, RPAS, RSAS, CAINS i BNSS kao i na njihovim podljestvicama nije bio značajno povezan s polimorfizmom rs1799836 gena MAO-B kod svih ispitanika zajedno, niti nakon podjele prema spolu (Tablica 5.20., Tablica 5.21. i Tablica 5.22.). Jedina značajnost uočena je kod BNSS podljestvice za alogiju kod koje su muški ispitanici, nosioci A alela, imali značajno veći broj bodova nego muški ispitanici nosioci G alela (U=2765,0; p=0,026). Kod ispitanica ili kod svih ispitanika zajedno u ukupnom uzorku ta značajnost nije potvrđena (Tablica 5.22.).

Tablica 5.20. Težina simptoma fizičke i socijalne anhedonije, shizofrenije, depresije te procijenjena opća funkcionalnost ispitanika s obzirom na polimorfizam rs1799836 gena MAO-B

		RPAS	RSAS	PANSS	CDSS	GAF
Svi ispitanici						
Aleli	A	18 (13;22)	13 (7;17)	67 (59;81)	2 (0;5)	50 (41;61)
	G	18 (12;22)	12 (7;16)	66 (59;78)	2 (0;5)	51 (41;65)
Statistika**		U=19674,0; p=0,443	U=18882,5; p=0,150	U=20133,0; p=0,705	U=19902,0; p=0,559	U=19219,0; p=0,248
Muškarci						
Aleli	A	19 (13;24)	13 (8;17)	68 (60;81)	2 (0;4)	50 (40;60)
	G	18 (12;23)	12 (8;17)	66 (59;76)	1 (0;4)	50 (45;65)
Statistika*		U=3259,0; p=0,553	U=3296,5; p=0,637	U=3111,0; p=0,284	U=3327,0; p=0,702	U=2889,0; p=0,072
Žene						
Genotipovi	AA	17 (10;23)	14 (7;20)	67 (56;79)	3 (0;6)	51 (41;70)
	GA	18 (13;22)	13 (7;17)	66 (61;82)	2 (0;5)	51 (41;61)
	GG	17 (12;20)	11 (6;14)	68 (57;81)	3 (1;6)	60 (40;70)
Statistika**		H=1,173; df=2; p=0,556	H=2,592; df=2; p=0,274	H=0,387; df=2; p=0,824	H=0,989; df=2; p=0,610	H=0,838; df=2; p=0,658
Aleli	A	18 (11;22)	13 (7;17)	67 (59;80)	2 (0;5)	51 (41;65)
	G	17 (12;21)	11 (7;16)	68 (59;81)	3 (1;6)	51 (40;65)
Statistika*		U=6880,5; p=0,567	U=6381,5; p=0,133	U=7008,5; p=0,709	U=6675,5; p=0,334	U=7136,5; p=0,924

*Kruskal-Wallis ANOVA; **Mann-Whitney test; CDSS – Calgary ljestvica depresije za shizofreniju; GAF – globalna procjena funkcionalnosti; PANSS – Ljestvica pozitivnih i negativnih sindroma shizofrenije; RPAS – Revidirana ljestvica za procjenu fizičke

anhedonije; RSAS - Revidirana ljestvica za procjenu socijalne anhedonije

Tablica 5.21. Težina negativnih simptoma ispitanika procijenjena pomoću intervjua za kliničku procjenu negativnih simptoma (CAINS) i podljestvicama za socijalizaciju, posao, rekreaciju i ekspresiju s obzirom na polimorfizam rs1799836 gena MAO-B

		CAINS	CAINS-SOC	CAINS-WORK	CAINS-RECR	CAINS-EXPR
Svi ispitanici						
Aleli	A	23 (16;28)	6 (4;8)	5 (4;7)	3 (2;4)	6 (5;9)
	G	21 (16;26)	5 (4;7)	5 (3;7)	3 (2;4)	6 (4;8)
Statistika**		U=18566,0; p=0,088	U=18647,5; p=0,100	U=20295,5; p=0,808	U=19099,0; p=0,200	U=19332,0; p=0,288
Muškarci						
Aleli	A	24 (18;8)	6 (4;8)	5 (4;7)	3 (2;4)	7 (5;9)
	G	22 (17;28)	6 (4;8)	6 (3;7)	3 (2;4)	6 (4;8)
Statistika**		U=2982,5; p=0,137	U=3223,5; p=0,477	U=3416,0; p=0,931	U=3159,0; p=0,348	U=2866,5; p=0,061
Žene						
Genotipovi	AA	23 (14;26)	6 (4;8)	6 (4;7)	3 (2;4)	6 (4;8)
	GA	22 (16;28)	5 (4;7)	6 (4;7)	3 (2;4)	7 (5;9)
	GG	20 (15;24)	5 (3;6)	4 (3;8)	3 (1;4)	6 (4;8)
Statistika*		H=1,771; df=2; p=0,413	H=2,287; df=2; p=0,319	H=1,194; df=2; p=0,551	H=0,960; df=2; p=0,619	H=1,688; df=2; p=0,430
Aleli	A	22 (15;26)	6 (4;7)	6 (4;7)	3 (2;4)	6 (4;9)
	G	21 (15;26)	5 (4;6)	5 (3;7)	3 (2;4)	6 (4;9)
Statistika**		U=6662,5; p=0,328	U=6404,5; p=0,142	U=7080,5; p=0,840	U=6724,5; p=0,379	U=7102,5; p=0,874

*Kruskal-Wallis ANOVA; **Mann-Whitney test; CAINS - Intervju za kliničku procjenu negativnih simptoma; CAINS-EXPR – podljestvica za ekspresiju; CAINS-RECR – podljestvica za rekreaciju; CAINS-SOC – podljestvica za socijalizaciju, CAINS-WORK – podljestvica za posao

Tablica 5.22. Težina negativnih simptoma ispitanika procijenjena pomoću kratke ljestvice negativnih simptoma (BNSS) i podljestvica za anhedoniju, asocijalnost, avoliciju, zaravnjen afekt i alogiju s obzirom na polimorfizam rs1799836 gena MAO-B

		BNSS	BNSS-ANH	BNSS-ASOC	BNSS-AVOL	BNSS-BLAF	BNSS-ALOG
Svi ispitanici							
Aleli	A	29 (22;36)	6 (4;9)	4 (2;4)	6 (4;7)	8 (6;11)	2 (1;4)
	G	27 (20;33)	6 (3;9)	4 (2;4)	5 (3;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
Statistika**		U=18426,5; p=0,068	U=19286,5; p=0,271	U=19208,0; p=0,229	U=19619,0; p=0,412	U=19590,0; p=0,400	U=18829,0; p=0,130
Muškarci							
Aleli	A	31 (23;37)	6 (5;9)	4 (3;5)	6 (4;8)	8 (7;11)	2 (2;4)
	G	27 (21;35)	6 (3;9)	4 (2;5)	6 (4;7)	7 (5;11)	2 (0;4)
Statistika**		U=2943,5; p=0,107	U=3140,0; p=0,511	U=3243,0; p=0,505	U=3382,0; p=0,844	U=3062,5; p=0,218	U=2765,0; **p=0,026**
Žene							
Genotipovi	AA	28 (23;36)	7 (5;9)	4 (2;4)	6 (3;7)	9 (6;10)	2 (0;4)
	GA	27 (22;37)	6 (4;9)	4 (2;4)	6 (4;7)	8 (6;12)	2 (1;4)
	GG	23 (19;31)	5 (3;9)	3 (2;4)	4 (2;6)	8 (5;11)	2 (0;3)
Statistika*		H=1,865; df=2; p=0,394	H=0,779; df=2; p=0,677	H=1,744; df=2; p=0,418	H=2,951; df=2; p=0,229	H=0,325; df=2; p=0,850	H=3,266; df=2; p=0,195
Aleli	A	28 (22;36)	7 (4;9)	4 (2;4)	6 (4;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
	G	25 (20;33)	5 (3;9)	3 (2;4)	5 (3;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
Statistika**		U=6620,5; p=0,291	U=6744,5; p=0,406	U=6648,5; p=0,297	U=6693,5; p=0,354	U=7231,5; p=0,917	U=7180,5; p=0,989

*Kruskal-Wallis ANOVA; **Mann-Whitney test; BNSS - Kratka ljestvica negativnih simptoma; BNSS-ANH – podljestvica za anhedoniju; BNSS-ASOC – podljestvica za asocijalnost; BNSS-AVOL - podljestvica za avoliciju, BNSS-BLAF - podljestvica za zaravnjen afekt; BNSS-ALOG - podljestvica za alogiju

Polimorfizam rs1799836 gena MAO-B nije bio značajno povezan s ukupnim brojem bodova ostvarenim na ljestvicama za fizičku i socijalnu anhedoniju (Tablica 5.23.). Nisu pronađene značajne razlike u raspodjeli A ili G alela (muški ispitanici), kao niti AA, GA ili GG genotipa, niti A ili G alela (ispitanice) s ili bez prisutnosti fizičke ili socijalne anhedonije.

Tablica 5.23. Zastupljenost pojedinih genotipova i alela s obzirom na polimorfizam rs1799836 gena MAO-B između ispitanika ovisno o prisutnosti fizičke, odnosno socijalne anhedonije

		Fizička anhedonija				Socijalna anhedonija			
		Ne (N=209)		Da (N=77)		Ne (N=227)		Da (N=59)	
Svi ispitanici									
Aleli	A	142	50,0%	68	55,7%	154	49,5%	56	58,9%
	G	142	50,0%	54	44,3%	157	50,5%	39	41,1%
Statistika		χ^2=1,125; df=1; p=0,289				χ^2=2,591; df=1; p=0,107			
Muškarci									
Aleli	A	70	52,2%	15	46,9%	72	50,3%	13	56,5%
	G	64	47,8%	17	53,1%	71	49,7%	10	43,5%
Statistika		χ^2=0,297; df=1; p=0,585				χ^2=0,302; df=1; p=0,583			
Žene									
Genotipovi	AA	17	22,7%	15	33,3%	20	23,8%	12	33,3%
	GA	38	50,7%	23	51,1%	42	50,0%	19	52,8%
	GG	20	26,7%	7	15,6%	22	26,2%	5	13,9%
Statistika		χ^2=2,744; df=2; p=0,254				χ^2=2,590; df=2; p=0,274			
Aleli	A	72	48,0%	53	58,9%	82	48,8%	43	59,7%
	G	78	52,0%	37	41,1%	86	51,2%	29	40,3%
Statistika		χ^2=2,672; df=1; p=0,102				χ^2=2,405; df=1; p=0,121			

5.3.2. MAO-B rs6651806

Polimorfizam rs6651806 gena MAO-B, odnosno raspodjela A i C alela bila je povezana s depresivnim simptomima mjerenim Calgary ljestvicom depresije za shizofreniju kod svih ispitanika (U=14990,5; p=0,023). Međutim, analizom alela je pokazano da C alel predstavlja veći čimbenik rizika za izraženije simptome depresije kod ispitanika (U=14990,5; p=0,023) (Tablica 5.24.). C alel je kod ispitanika bio povezan s nižim brojem bodova na ljestvici za socijalnu anhedoniju (U=15081,5; p=0,038) (Tablica 5.24.). Kod posebne analize po spolovima, ovo je potvrđeno samo kod ispitanica (U=5115,5; p=0,031) jer su nositeljice C alela imale niži broj bodova na RSAS u odnosu na nositeljice alela A (Tablica 5.24.).

Tablica 5.24. Težina simptoma fizičke i socijalne anhedonije, shizofrenije, depresije, te procijenjena opća funkcionalnost ispitanika s obzirom na polimorfizam rs6651806 gena MAO-B

		RPAS	RSAS	PANSS	CDSS	GAF
Svi ispitanici						
Aleli	A	18 (13;23)	13 (7;17)	67 (59;79)	2 (0;5)	50 (41;61)
	C	18 (12;22)	11 (7;16)	68 (61;82)	3 (1;6)	51 (40;65)
Statistika**		U=16422,5; p=0,405	U=15081,5; **p=0,038**	U=16450,5; p=0,420	U=14990,5; **p=0,023**	U=16515,5; p=0,454
Muškarci						
Aleli	A	18 (13;24)	13 (8;17)	68 (60;79)	1 (0;4)	50 (41;60)
	C	20 (13;23)	11 (8;17)	68 (57;78)	2 (0;6)	51 (45;70)
Statistika*		U=2742,5; p=0,846	U=2627,5; p=0,544	U=2685,0; p=0,689	U=2441,0; p=0,191	U=2481,0; p=0,255
Žene						
Genotipovi	AA	18 (12;22)	14 (7;19)	66 (56;76)	2 (0;5)	51 (41;70)
	AC	17 (11;22)	11 (6;14)	69 (61;84)	3 (1;7)	45 (40;60)
	CC	18 (13;19)	9 (5;14)	69 (63;71)	3 (1;6)	61 (50;70)
Statistika**		H=0,848; df=2; p=0,654	H=4,331; df=2; p=0,115	UH=2,641; df=2; p=0,267	H=3,387; df=2; p=0,184	H=5,083; df=2; p=0,079
Aleli	A	18 (12;22)	13 (7;17)	66 (58;79)	2 (0;5)	51 (41;65)
	C	17 (12;20)	11 (6;14)	69 (61;83)	3 (1;6)	55 (40;65)
Statistika*		U=5719,5; p=0,347	U=5115,5; **p=0,031**	U=5533,5; p=0,189	U=5386,5; p=0,104	U=6174,5; p=0,979

*Kruskal-Wallis ANOVA; **Mann-Whitney test; CDSS – Calgary ljestvica depresije za shizofreniju; GAF – globalna procjena funkcionalnosti; PANSS – Ljestvica pozitivnih i negativnih sindroma shizofrenije; RPAS – Revidirana ljestvica za procjenu fizičke anhedonije; RSAS - Revidirana ljestvica za procjenu socijalne anhedonije

Analizom negativnih simptoma ispitanika, uočena je značajna povezanost ukupnog broja bodova na ljestvicama CAINS (U=2212,5; p=0,036) i BNSS (U=2105,0; p=0,013), kao i na njihovim podljestvicama CAINS za rekreaciju (U=2223,0; p=0,035) i ekspresiju (U=2132,0; p=0,017), te BNSS podljestvici za anhedoniju (U=2208,5; p=0,034) i alogiju (U=1949,5; p=0,002), ali samo kod muških ispitanika. Nije bilo značajne povezanosti s nijednom od skala negativnih simptoma kod ispitanica (Tablica 5.25. i Tablica 5.26.). U svim slučajevima, muški nositelji A alela su imali veći broj bodova od nositelja alela C (Slika 5.9.).

Tablica 5.25. Težina negativnih simptoma ispitanika procijenjena pomoću intervjua za kliničku procjenu negativnih simptoma (CAINS) i podljestvicama za socijalizaciju, posao, rekreaciju i ekspresiju s obzirom na polimorfizam rs6651806 gena MAO-B

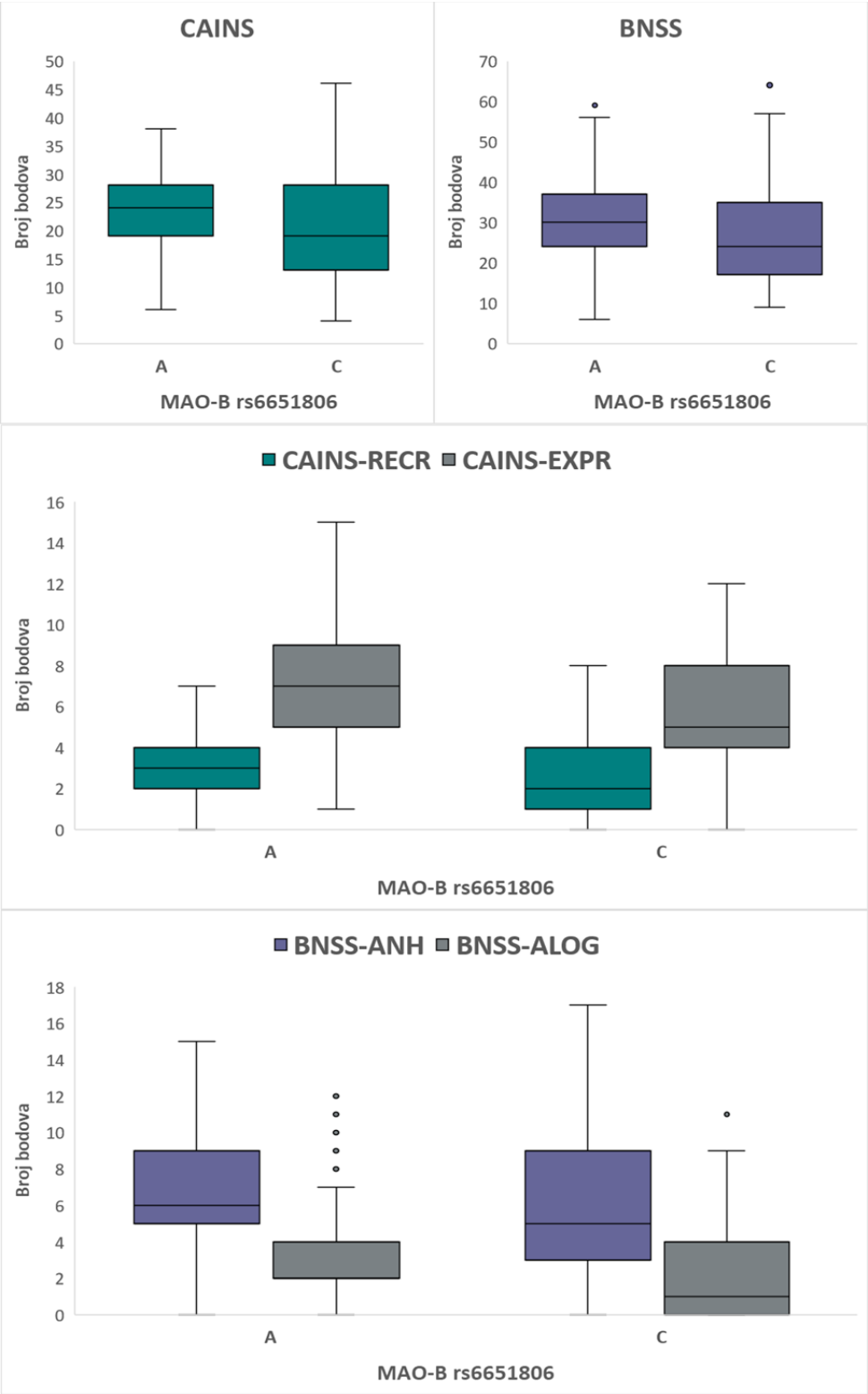
		CAINS	CAINS-SOC	CAINS-WORK	CAINS-RECR	CAINS-EXPR
Svi ispitanici						
Aleli	A	22 (17;27)	6 (4;7)	6 (4;7)	3 (2;4)	6 (5;9)
	C	21 (15;27)	6 (4;7)	5 (3;7)	3 (2;4)	6 (4;9)
Statistika**		U=15735,5; p=0,142	U=16670,5; p=0,544	U=15820,0; p=0,161	U=15988,0; p=0,208	U=16355,5; p=0,369
Muškarci						
Aleli	A	24 (19;28)	6 (4;8)	5 (4;7)	3 (2;4)	7 (5;9)
	C	20 (13;28)	6 (3;9)	4 (3;7)	2 (2;4)	5 (4;8)
Statistika**		U=2212,5; **p=0,036**	U=2721,0; p=0,785	U=2411,5; p=0,163	U=2223,0; **p=0,035**	U=2132,0; **p=0,017**
Žene						
Genotipovi	AA	21 (15;25)	6 (3;7)	6 (3;7)	3 (2;4)	6 (4;8)
	AC	21 (16;29)	5 (4;7)	6 (4;7)	3 (2;4)	6 (4;10)
	CC	21 (14;27)	6 (3;6)	4 (3;6)	2 (1;4)	7 (4;9)
Statistika*		H=0,533; df=2; p=0,766	H=0,333; df=2; p=0,847	H=1,522; df=2; p=0,467	H=2,501; df=2; p=0,286	H=0,555; df=2; p=0,758
Aleli	A	21 (16;25)	5 (4;7)	6 (4;7)	3 (2;4)	6 (4;8)
	C	21 (15;27)	5 (4;7)	5 (3;7)	3 (2;4)	7 (4;9)
Statistika**		U=6153,5; p=0,946	U=6037,5; p=0,762	U=5872,5; p=0,523	U=6129,5; p=0,905	U=5802,5; p=0,437

*Kruskal-Wallis ANOVA; CAINS - Intervju za kliničku procjenu negativnih simptoma; CAINS-EXPR – podljestvica za ekspresiju; CAINS-RECR – podljestvica za rekreaciju; CAINS-SOC – podljestvica za socijalizaciju, CAINS-WORK – podljestvica za posao

Tablica 5.26. Težina negativnih simptoma ispitanika procijenjena pomoću kratke ljestvice negativnih simptoma (BNSS) i podljestvica za anhedoniju, asocijalnost, avoliciju, zaravnjen efekt i alogiju s obzirom na polimorfizam rs6651806 gena MAO-B

		BNSS	BNSS-ANH	BNSS-ASOC	BNSS-AVOL	BNSS-BLAF	BNSS-ALOG
Aleli	A	28 (22;35)	6 (4;9)	4 (2;4)	6 (4;7)	8 (6;11)	2 (1;4)
	C	25 (19;35)	5 (3;9)	4 (2;4)	5 (3;7)	8 (5;12)	2 (0;4)
Statistika**		U=15405,0; p=0,077	U=16275,5; p=0,330	U=15399,5; p=0,066	U=16053,5; p=0,237	U=17274,0; p=0,963	U=15433,0; p=0,074
Muškarci							
Aleli	A	29 (24;37)	6 (5;9)	4 (3;5)	6 (4;7)	8 (6;11)	2 (2;4)
	C	24 (17;35)	5 (3;9)	4 (2;5)	5 (2;8)	7 (5;11)	1 (0;4)
Statistika**		U=2105,0; **p=0,013**	U=2208,5; **p=0,034**	U=2413,0; p=0,155	U=2587,0; p=0,449	U=2360,5; p=0,117	U=1949,5; **p=0,002**
Žene							
Genotipovi	AA	28 (21;33)	6 (3;8)	4 (2;4)	5 (4;8)	8 (6;10)	2 (0;4)
	AC	26 (20;40)	7 (4;10)	4 (2;4)	5 (4;7)	8 (5;12)	2 (0;4)
	CC	25 (21;32)	5 (3;9)	2 (2;4)	4 (2;6)	9 (9;11)	2 (1;4)
Statistika*		H=0,401; df=2; p=0,818	H=3,331; df=2; p=0,189	H=1,414; df=2; p=0,493	H=2,754; df=2; p=0,252	H=1,314; df=2; p=0,519	H=0,068; df=2; p=0,967
Aleli	A	27 (21;34)	6 (4;8)	4 (2;4)	5 (4;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
	C	26 (21;37)	6 (3;9)	3 (2;4)	5 (3;7)	8 (6;12)	2 (0;4)
Statistika**		U=6107,5; p=0,872	U=5937,5; p=0,613	U=5665,5; p=0,276	U=5745,5; p=0,371	U=5612,5; p=0,247	U=6062,5; p=0,797

*Kruskal-Wallis ANOVA; **Mann-Whitney; BNSS - Kratka ljestvica negativnih simptoma; BNSS-ANH – podljestvica za anhedoniju; BNSS-ASOC – podljestvica za asocijalnost; BNSS-AVOL - podljestvica za avoliciju, BNSS-BLAF - podljestvica za zaravnjen afekt; BNSS-ALOG - podljestvica za alogiju



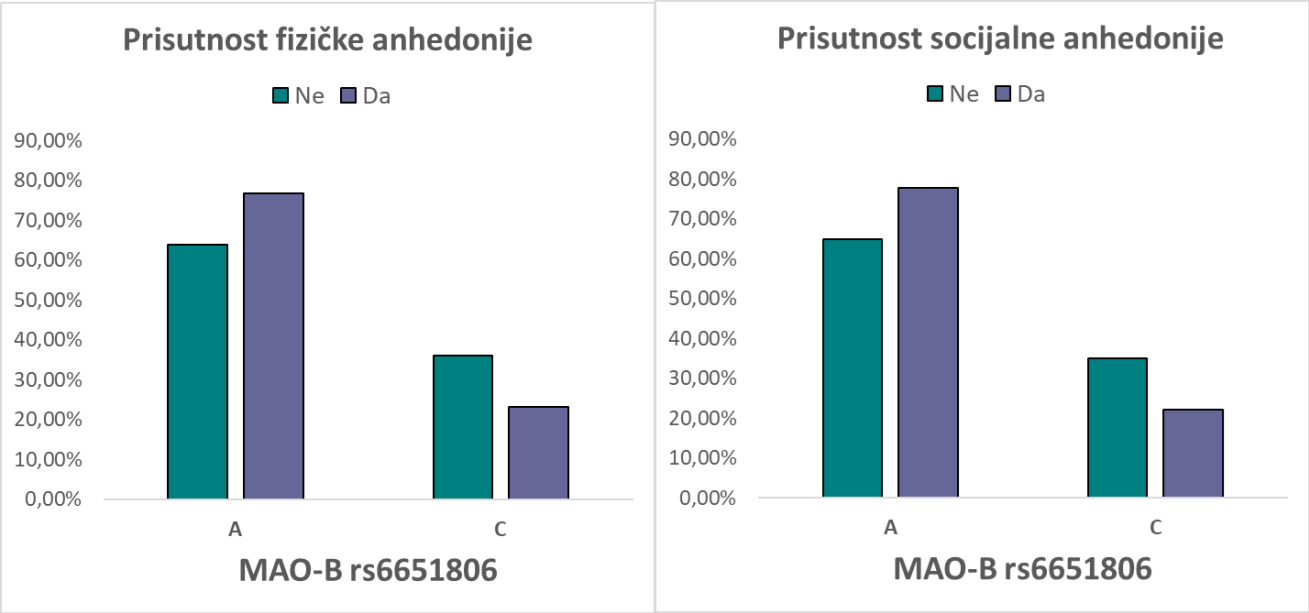
Slika 5.9. Broj bodova na intervjuu za kliničku procjenu negativnih simptoma (CAINS) i podljestvicama za rekreaciju (CAINS-RECR) i ekspresiju (CAINS-EXPR) te kratkoj ljestvici negativnih simptoma (BNSS) i podljestvici za anhedoniju (BNSS-ANH) i alogiju (BNSS-ALOG)

kod muških ispitanika s obzirom na polimorfizam rs6651806 gena MAO-B.

Zastupljenost genotipova i alela s obzirom na polimorfizam rs6651806 između ispitanika s i bez fizičke i socijalne anhedonije ispitana je hi-kvadrat testom. Postojale su značajne razlike u zastupljenosti alela i uočena je značajno veća frekvencija pojavljivanja A alela, te značajno manja pojavnost C alela u skupini s fizičkom anhedonijom kod analize oba spola zajedno (χ^2=5,202; df=1; p=0,023). Ovo je potvrđeno i kad su se ispitanice analizirale zasebno, jer je A alel bio značajno više zastupljen kod ispitanica s fizičkom (χ^2=4,201; df=2; p=0,040), ali i kod ispitanica sa socijalnom anhedonijom (χ^2=3,902; df=1; p=0,048), u odnosu na one bez anhedonije (Tablica 5.27. i Slika 5.10.).

Tablica 5.27. Zastupljenost pojedinih genotipova i alela s obzirom na polimorfizam rs6651806 gena MAO-B između ispitanika ovisno o prisutnosti fizičke, odnosno socijalne anhedonije

		Fizička anhedonija				Socijalna anhedonija			
		Ne (N=209)		Da (N=77)		Ne (N=227)		Da (N=59)	
Svi ispitanici									
Aleli	A	189	66,5%	95	77,9%	211	67,8%	73	76,8%
	C	95	33,5%	27	22,1%	100	32,2%	22	23,2%
Statistika		χ^2=5,202; df=1; **p=0,023**				χ^2=2,802; df=1; p=0,094			
Muškarci									
Aleli	A	93	69,4%	26	81,3%	102	71,3%	17	73,9%
	C	41	30,6%	6	18,8%	41	28,7%	6	26,1%
Statistika		χ^2=1,786; df=1; p=0,181				χ^2=0,065; df=1; p=0,798			
Žene									
Genotipovi	AA/A	33	44,0%	26	57,8%	36	42,9%	23	63,9%
	AC	30	40,0%	17	37,8%	37	44,0%	10	27,8%
	CC/C	12	16,0%	2	4,4%	11	13,1%	3	8,3%
Statistika		χ^2=4,340; df=2; p=0,114				χ^2=4,460; df=2; p=0,108			
Aleli	A	96	64,0%	69	76,7%	109	64,9%	56	77,8%
	C	54	36,0%	21	23,3%	59	35,1%	16	22,2%
Statistika		χ^2=4,201; df=2; **p=0,040**				χ^2=3,902; df=1; **p=0,048**			

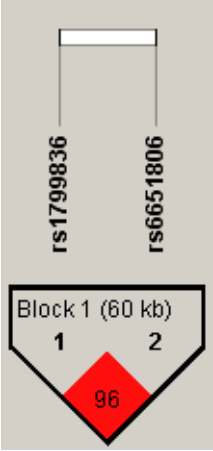


Slika 5.10. Zastupljenost alela s obzirom na polimorfizam rs6651806 gena MAO-B između ispitanica ovisno o prisutnosti fizičke i socijalne anhedonije

5.3.3. Haplotipska analiza MAO-B rs1799836 i rs6651806

Kombinacijom polimorfizama i njihovih alela, za MAO-B rs1799836 aleli A i G, te za MAO-B rs6651806 aleli A i C, nastaju haplotipovi: AA, AC, GA i GC.

Izračunata je neravnoteža udruživanja (engl. *linkage disequilibrium*, LD) za polimorfizme rs1799836 i rs6651806 gena MAO-B, te je zbog značajne povezanosti ova dva lokusa (D'=96; LOD>2) (Slika 5.11.) za svakog ispitanika određen njegov haplotipski par. Najzastupljeniji haplotip u ispitivanom uzorku bio je AA s 51,2%, potom GC s 29,9%, GA s 18,5%, dok je haplotip AC bio prisutan sa samo 0,50%, pri čemu se ovi omjeri nisu značajno razlikovali između spolova (χ^2=1,947; df=2; p=0,378). S obzirom na jako nisku zastupljenost haplotipa AC (<1%), bio je isključen iz statističke obrade.



Slika 5.11. Grafički prikaz neravnoteže udruživanja (LD) za 2 polimorfizma gena MAO-B (rs1799836 i rs6651806) kod ispitanika. Koeficijent neravnoteže udruživanja (D') prikazan je crvenom kvadratu.

Utvrđena je povezanost haplotipa rs1799836-rs6651806 gena MAO-B s brojem bodova ostvarenim na Calgary ljestvici depresije za shizofreniju (H=7,435; df=2; p=0,024) kod ženskih i muških ispitanika zajedno, pri čemu su nositelji GC haplotipa imali značajno najveći broj bodova. Međutim, ova povezanost se nije potvrdila kad su se zasebno analizirali muški ispitanici (H=5,514; df=2; p=0,063) i ispitanice (H=2,831; df=2; p=0,243). Ostvareni broj bodova na ljestvicama za fizičku i socijalnu anhedoniju, PANSS i GAF nije bio značajno različit između nositelja različitih haplotipova (Tablica 5.28).

Tablica 5.28. Težina simptoma fizičke i socijalne anhedonije, shizofrenije, depresije, te procijenjena opća funkcionalnost ispitanika s obzirom na haplotip rs1799836-rs6651806 gena MAO-B

	RPAS	RSAS	PANSS	CDSS	GAF
Svi ispitanici					
AA	18 (13;24)	13 (7;17)	68 (59;80)	2 (0;5)	50 (41;61)
GC	18 (12;22)	11 (7;16)	69 (61;82)	3 (1;6)	51 (40;65)
GA	17 (12;22)	12 (8;17)	65 (59;75)	1 (0;4)	51 (42;61)
Statistika*	H=0,835; df=2; p=0,659	H=3,995; df=2; p=0,136	H=3,312; df=2; p=0,191	H=7,435; df=2; **p=0,024**	H=0,997; df=2; p=0,608
Muškarci					

AA	19 (13;26)	13 (8;17)	70 (6;81)	2 (0;4)	50 (41;60)
GC	20 (13;25)	11 (8;17)	69 (58;77)	2 (0;6)	51 (45;65)
GA	17 (11;23)	12 (8;17)	65 (59;75)	1 (0;3)	53 (49;61)
Statistika*	H=1,558; df=2; p=0,459	H=0,576; df=2; p=0,750	H=3,091; df=2; p=0,213	H=5,514; df=2; p=0,063	H=3,566; df=2; p=0,168
Žene					
AA	18 (11;22)	13 (7;17)	67 (58;80)	2 (0;5)	51 (41;70)
GC	17 (11;20)	11 (6;14)	69 (61;83)	3 (1;6)	51 (40;65)
GA	18 (13;22)	13 (9;17)	65 (57;75)	2 (0;5)	51 (41;61)
Statistika*	H=0,898; df=2; p=0,638	H=4,565; df=2; p=0,102	H=2,116; df=2; p=0,347	H=2,831; df=2; p=0,243	H=0,073; df=2; p=0,964

*Kruskal-Wallis ANOVA; CDSS – Calgary ljestvica depresije za shizofreniju; GAF – globalna procjena funkcionalnosti; PANSS – Ljestvica pozitivnih i negativnih sindroma shizofrenije; RPAS – Revidirana ljestvica za procjenu fizičke anhedonije; RSAS - Revidirana ljestvica za procjenu socijalne anhedonije

Kod muških ispitanika je uočena značajna razlika u broju bodova na podljestvici CAINS za ekspresiju (H=6,308; df=2; p=0,043), kod koje su nositelji GC haplotipa imali značajno niži broj bodova od nositelja haplotipa AA i GA. Također, samo kod muških ispitanika je primijećen niži broj bodova kod nositelja GC haplotipa na ljestvicama BNSS (H=7,229; df=2; p=0,027) i podljestvici BNSS za alogiju (H=9,047; df=2; p=0,011) (Tablica 5.29, Tablica 5.30 i Slika 5.12). Značajna povezanost ovog haplotipa nije uočena kod ispitanica, niti kod analize svih ispitanika zajedno (Tablica 5.29 i Tablica 5.30).

Tablica 5.29. Težina negativnih simptoma ispitanika procijenjena pomoću intervjua za kliničku procjenu negativnih simptoma (CAINS) i podljestvicama za socijalizaciju, posao, rekreaciju i ekspresiju s obzirom na haplotip rs1799836-rs6651806 gena MAO-B

	CAINS	CAINS-SOC	CAINS-WORK	CAINS-RECR	CAINS-EXPR
Svi ispitanici					
AA	23 (16;28)	6 (4;8)	5 (4;7)	3 (2;4)	6 (5;9)
GC	21 (15;27)	6 (4;8)	5 (3;7)	2 (2;4)	6 (4;9)
GA	21 (17;26)	5 (4;7)	6 (4;7)	3 (2;4)	6 (4;8)
Statistika	H=3,077; df=2; p=0,215	H=2,687; df=2; p=0,261	H=1,399; df=2; p=0,497	H=2,083; df=2; p=0,353	H=2,085; df=2; p=0,353
Muškarci					

AA	24 (19;29)	6 (4;8)	5 (4;7)	3 (2;4)	7 (5;9)
GC	19 (13;25)	6 (3;8)	6 (3;7)	2 (1;4)	5 (4;8)
GA	23 (19;28)	6 (4;8)	6 (4;7)	3 (2;4)	7 (5;8)
Statistika	H=5,720; df=2; p=0,057	H=1,506; df=2; p=0,471	H=1,143; df=2; p=0,565	H=5,226; df=2; p=0,073	H=6,308; df=2; **p=0,043**
Žene					
AA	22 (15;26)	6 (4;7)	6 (4;7)	3 (2;4)	6 (4;9)
GC	22 (15;27)	5 (4;7)	5 (3;7)	3 (2;4)	6 (4;9)
GA	20 (17;24)	5 (3;6)	6 (3;8)	2 (1;4)	6 (4;8)
Statistika	H=1,197; df=2; p=0,550	H=1,846; df=2; p=0,397	H=0,438; df=2; p=0,803	H=1,742; df=2; p=0,419	H=0,704; df=2; p=0,703

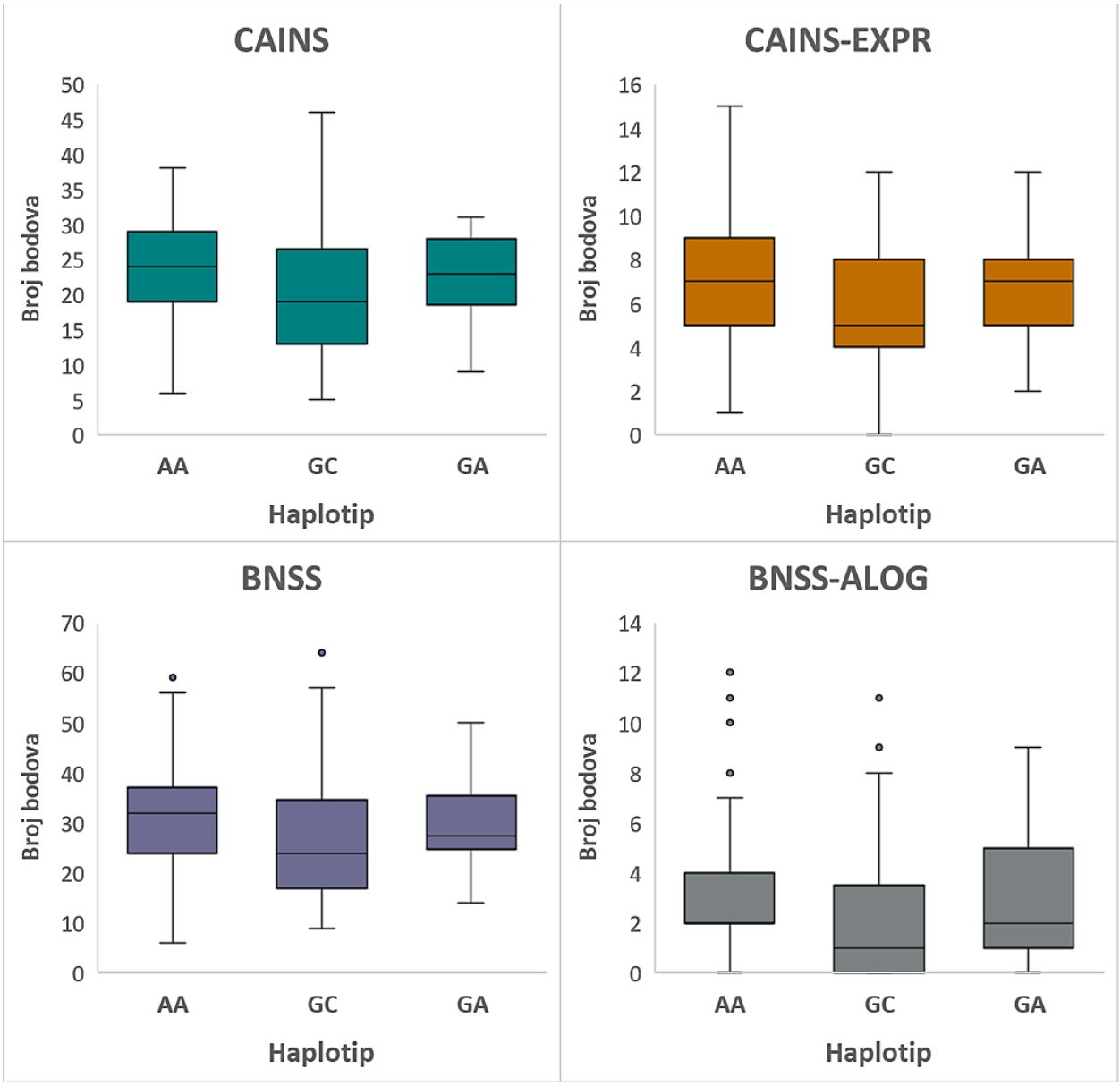
*Kruskal-Wallis ANOVA; CAINS - Intervju za kliničku procjenu negativnih simptoma; CAINS-EXPR – podljestvica za ekspresiju; CAINS-RECR – podljestvica za rekreaciju; CAINS-SOC – podljestvica za socijalizaciju, CAINS-WORK – podljestvica za posao

Tablica 5.30. Težina negativnih simptoma ispitanika procijenjena pomoću kratke ljestvice negativnih simptoma (BNSS) i podljestvica za anhedoniju, asocijalnost, avoliciju, zaravnjen afekt i alogiju s obzirom na haplotip rs1799836-rs6651806 gena MAO-B

	BNSS	BNSS-ANH	BNSS-ASOC	BNSS-AVOL	BNSS-BLAF	BNSS-ALOG
Svi ispitanici						
AA	29 (22;37)	6 (4;9)	4 (2;5)	6 (4;7)	8 (6;11)	2 (1;4)
GC	25 (19;35)	6 (3;9)	4 (2;4)	5 (3;7)	8 (5;11)	2 (0;4)
GA	27 (21;33)	6 (4;9)	4 (2;5)	5 (4;7)	8 (6;10)	2 (0;4)
Statistika	H=4,210; df=2; p=0,122	H=0,945; df=2; p=0,623	H=2,888; df=2; p=0,236	H=1,297; df=2; p=0,523	H=2,441; df=2; p=0,292	H=4,126; df=2; p=0,127
Muškarci						
AA	32 (24;37)	6 (5;9)	4 (3;5)	6 (4;8)	8 (7;11)	2 (2;4)
GC	24 (17;34)	5 (3;8)	4 (2;4)	5 (3;8)	7 (5;10)	1 (0;3)
GA	28 (25;35)	7 (5;9)	4 (3;5)	6 (4;7)	9 (6;11)	2 (1;5)
Statistika	H=7,229; df=2; **p=0,027**	H=4,963; df=2; p=0,084	H=2,358; df=2; p=0,308	H=0,627; df=2; p=0,731	H=3,861; df=2; p=0,145	H=9,047; df=2; **p=0,011**
Žene						
AA	28 (22;36)	7 (4;9)	4 (2;4)	6 (3;7)	8 (6;11)	2 (0;4)
GC	26 (21;37)	7 (3;10)	4 (2;4)	5 (3;7)	8 (6;12)	2 (0;4)
GA	25 (19;32)	5 (3;7)	3 (2;4)	5 (4;7)	8 (6;10)	2 (0;4)

Statistika	H=1,228; df=2; p=0,541	H=2,725; df=2; p=0,256	H=0,595; df=2; p=0,743	H=0,6337; df=2; p=0,727	H=2,918; df=2; p=0,232	H=0,210 df=2; p=0,900

*Kruskal-Wallis ANOVA; **Mann-Whitney test; BNSS - Kratka ljestvica negativnih simptoma; BNSS-ANH – podljestvica za anhedoniju; BNSS-ASOC – podljestvica za asocijalnost; BNSS-AVOL - podljestvica za avoliciju, BNSS-BLAF - podljestvica za zaravnjen afekt; BNSS-ALOG - podljestvica za alogiju



Slika 5.12. Broj bodova na intervjuu za kliničku procjenu negativnih simptoma (CAINS) i podljestvici za ekspresiju (CAINS-EXPR), te kratkoj ljestvici negativnih simptoma (BNSS) i podljestvici za alogiju (BNSS-ALOG), kod muških ispitanika ovisno o haplotipu rs1799836-

rs6651806 gena MAO-B

Frekvencija pojavljivanja pojedinih haplotipova nije bila značajno različita između ispitanika s fizičkom ili socijalnom anhedonijom u odnosu na ispitanike bez fizičke i socijalne anhedonije kod svih ispitanika zajedno, niti kod posebne analize prema spolovima (Tablica 5.31).

Tablica 5.31. Zastupljenost pojedinih genotipova i alela s obzirom na haplotip rs1799836-rs6651806 gena MAO-B između ispitanika ovisno o prisutnosti fizičke, odnosno socijalne anhedonije

	Fizička anhedonija		Socijalna anhedonija	
	Ne (N=209)	Da (N=77)	Ne (N=227)	Da (N=59)
Svi ispitanici				
AA	50,0%	55,8%	49,5%	59,2%
GC	32,9%	23,3%	32,2%	22,4%
GA	17,1%	20,9%	18,3%	18,4%
Statistika	χ^2=4,060; df=2; p=0,131		χ^2=3,740; df=2; p=0,154	
Muškarci				
AA	52,2%	48,6%	50,3%	57,7%
GC	29,0%	21,6%	28,2%	23,1%
GA	18,8%	29,7%	21,5%	19,2%
Statistika	χ^2=2,284; df=2; p=0,319		χ^2=0,497; df=2; p=0,780	
Žene				
AA	48,1%	58,7%	48,9%	59,7%
GC	36,4%	23,9%	35,6%	22,2%
GA	15,6%	17,4%	15,5%	18,1%
Statistika	χ^2=4,185; df=2; p=0,123		χ^2=4,247; df=2; p=0,120	

6. RASPRAVA

6.1. Sažetak glavnih rezultata

Prema nama dostupnim podacima ovo je bilo prvo istraživanje koje je istražilo povezanost polimorfizama gena za COMT (rs4680 i rs4818) i MAO-B (rs1799836 i rs6651806) i fizičke i socijalne anhedonije kod bolesnika sa shizofrenijom. Rezultati našeg istraživanja pokazali su da postoji značajna povezanost određenih alela kod istraživanih polimorfizama i anhedonije, te drugih negativnih simptoma shizofrenije.

COMT rs4680

Ispitanice sa shizofrenijom koje su nositeljice genotipa GG imale su značajno veći broj bodova na CAINS podljestvici za socijalizaciju, nego nositeljice genotipa AA i AG. Nositeljice G alela imale su veći ukupni broj bodova na ljestvici CAINS, podljestvicama za socijalizaciju, posao i rekreaciju, te na BNSS podljestvici za anhedoniju, nego nositeljice A alela.

COMT rs4818

Ispitanice sa shizofrenijom koje su imale socijalnu anhedoniju su češće bile nositeljice alela G nego alela C, u odnosu na one bez socijalne anhedonije. Nositeljice genotipa GG imale su značajno veći ukupni broj bodova na ljestvici CAINS, podljestvicama za socijalizaciju i posao, te BNSS podljestvici za anhedoniju, nego nositeljice genotipa CC i CG. Nositeljice G alela imale su značajno veći broj bodova na ukupnoj ljestvici CAINS, CAINS podljestvicama za socijalizaciju, posao i rekreaciju, te BNSS podljestvici za anhedoniju, nego nositeljice C alela.

Haplotip COMT rs4818-rs4680

Kod ispitanica je utvrđena značajna povezanost GG haplotipa s negativnim simptomima, odnosno ukupnom broju bodova na ljestvici CAINS, te broju bodova na podljestvicama za socijalizaciju i posao, te na BNSS podljestvici za anhedoniju, u odnosu na nositeljice CA i CG haplotipa rs4818-rs4680.

MAO-B rs1799836

Muški nositelji A alela imali su značajno veći broj bodova na BNSS podljestvici za alogiju od nositelja G alela.

MAO-B rs6651806

Nađena je značajno veća frekvencija pojavljivanja A alela u skupini s fizičkom anhedonijom kod analize oba spola zajedno i kod ispitanica zasebno, nego frekvencija C alela. A alel je bio značajno više zastupljen kod ispitanica i s fizičkom i socijalnom anhedonijom, nego C alel. Kod muških ispitanika nositelja A alela, uočen je značajno veći ukupni broj bodova na ljestvicama za negativne simptome CAINS i BNSS, kao i na njihovim podljestvicama CAINS za rekreaciju i ekspresiju, BNSS podljestvici za anhedoniju i alogiju, nego kod nositelja C alela.

Haplotip MAO-B rs1799836-rs6651806

Muški nositelji GC haplotipa imali su značajno niži broj bodova na podljestvici CAINS za ekspresiju i niži broj bodova na ukupnoj ljestvici BNSS i podljestvici BNSS za alogiju, nego nositelji AA i GA haplotipa.

6.2. Demografski podaci

U ovo istraživanje je bilo uključeno 302 ispitanika sa shizofrenijom, od toga 58,9% muških i 41,1% ženskih ispitanika.

Ispitanici sa shizofrenijom su najčešće bile umirovljeni (37,6% muških i 39,5% ženskih) ili u radnom odnosu (37,6% muških i 31,5% ženskih). Ti su podaci bolji od prosječnog funkcionalnog oporavka u bolesnika sa shizofrenijom koji je izmjeren u zemljama centralne i istočne Europe gdje je 20% bolesnika bilo zaposleno (195). Značajno više muških ispitanika je bilo neoženjeno (78,7%) naspram neudanih ispitanica (48,4%), dok je postotak udanih ispitanica bio značajno viši (35,5%) nego postotak oženjenih muških ispitanika (14,6%). U brojnim studijama je ponovljen ovaj nalaz (196,197).

Značajne razlike primijećene su u odnosu na pušenje, konzumaciju alkohola i prethodno uzimanje droga, pri čemu je 57,3% muških ispitanika pušilo, dok je postotak ispitanica koje puše bio 41,1%. U ovoj je studiji manje muških i ženskih ispitanika sa shizofrenijom pušilo nego u našoj prošloj

studiji s većim brojem ispitanika hrvatskog porijekla (N=931), gdje je utvrđeno da je pušilo 68,8% muških i 51,6% ženskih ispitanika sa shizofrenijom (157). S druge strane, na hrvatskim ispitanicima na bolničkom liječenju je utvrđeno u dvije studije s različitim ispitanicima iz drugog bolničkog centra da 62,8% muških i 37,2% ženskih ispitanika puši (198), odnosno da 65,3% muških i 34,7% ženskih ispitanika puši (199), što pokazuje veći postotak muških, ali manji postotak ženskih ispitanica sa shizofrenijom koje su ovisne o nikotinu iz cigarete u odnosu na rezultate ove studije. Pušenje je kod muškaraca sa shizofrenijom učestalije nego kod žena, a pušenje je češće kod bolesnika sa shizofrenijom nego u općoj populaciji, te kod drugih teških psihičkih poremećaja (200,201). Također, u našem istraživanju je zastupljenost muških ispitanika koji konzumiraju alkohol (16,9%) i koji su uzimali droge (29,8%) značajno veći nego postotak ispitanica koje konzumiraju alkohol (8,1%) i koje su uzimale droge (10,5%). Ovi podaci odgovaraju rezultatima prijašnjih studija prema kojima je učestalost konzumacije alkohola i droga veća kod muških bolesnika sa shizofrenijom (48%) u odnosu na bolesnice (20%) (202,203).

Prema težini kliničke slike mjerene ljestvicama PANSS, GAF, CDSS, CAINS i BNSS nije bilo značajnih razlika između spolova. U nekoliko prijašnjih studija pronađene su razlike između spolova, odnosno izraženiji negativni simptomi kod muških bolesnika (204–206), dok je u istraživanju na više od 1000 ispitanika sa psihozom, pronađeno više depresivnih simptoma i manje negativnih simptoma kod ženskih bolesnica (207). Međutim, druga istraživanja, kao i naše, nisu pronašla razlike u izraženosti simptoma između spolova (208,209).

U našem istraživanju nije bilo razlike među spolovima u vrsti antipsihotika (tipični, atipični i kombinirani) koji su primali u trenutku ispitivanja, kao niti u dozi antipsihotika prikazanoj u ekvivalentima klorpromazina. U prijašnjim istraživanjima, pronađene su određene razlike, pa je kod mlađih bolesnica bila potrebna prosječno manja doza antipsihotika (tipičnih) nego kod muških bolesnika (210). U nešto starijoj literaturi se navodi da ženske bolesnice sa shizofrenijom, nakon menopauze, trebaju veće doze antipsihotika nego muški bolesnici (211). U drugim istraživanjima nije bilo razlike između spolova (212), bez obzira na menstrualni status kod bolesnica sa shizofrenijom (213).

Postotak ispitanika koji su pokušali suicid bio je otprilike jednak kod muških ispitanika (21,9%) i ispitanica (23,4%). Pokušaji suicida kod bolesnika sa shizofrenijom su uobičajeni i kreću se od 20 do 40% (214), te se naš nalaz uklapa u dosadašnje podatke.

Obzirom na značajne spolno izazvane razlike u raspodjeli genotipova obzirom na gene COMT i MAO-B, dodatno smo još i posebno analizirali ispitanike prema spolu.
Radni status ispitanika bio je značajno povezan s ukupnim brojem bodova na ljestvicama PANSS, GAF, CAINS i BNSS, pri čemu su najveći broj bodova imali nezaposleni i umirovljeni ispitanici, a najniži ispitanici u radnom odnosu na svim navedenim ljestvicama, osim na ljestvici GAF, gdje je su najveći broj bodova imali zaposleni ispitanici, a najniži nezaposleni. Ovi rezultati su očekivani, jer su teži simptomi na ljestvicama za simptome shizofrenije, osobito negativne simptome, u korelaciji s narušenim funkcioniranjem i nezaposlenošću (13,15). Kod ljestvice GAF, gdje je veći broj bodova označava bolje funkcioniranje, također je očekivano da zaposleni ispitanici imaju veći broj bodova (190).

6.2.1. Demografski podaci i anhedonija

Anhedonija (mjerena kao lomna vrijednost na ljestvicama RPAS i RSAS) je bila češće prisutna kod ženskih nego kod muških ispitanika. Fizička anhedonija je bila prisutna kod 37,1% ispitanica i 20,8% muških ispitanika, a socijalna anhedonija je bila prisutna kod 36,0% ispitanica i 15,2% muških ispitanika. Prema dosadašnjim saznanjima (215–217), anhedonija se javlja samo kod dijela bolesnika sa shizofrenijom. Schürhoff i suradnici opisuju i podtip bolesnika sa shizofrenijom kod kojih je anhedonija posebno izražena, a njihovi srodnici imaju veći rizik za razvoj shizofrenije, kao i veću izraženost anhedonije (215). U hrvatskom istraživanju na ispitanicama sa shizofrenijom, socijalna anhedonija je bila prisutna kod 52%, a fizička kod 43% ispitanica (216). Drugo istraživanje je također utvrdilo veću socijalnu od fizičke anhedonije kod bolesnika sa shizofrenijom (217). Socijalna anhedonija povezana je s anksioznošću i zajedno imaju negativan učinak na socijalno funkcioniranje bolesnika (218).
Pronađena je značajna pozitivna korelacija dobi i težine simptoma fizičke i socijalne anhedonije, kada su vrijednosti na ljestvicama za anhedoniju uzimane kao apsolutne vrijednosti (inače se za anhedoniju koristila lomna vrijednost koja se razlikovala za muškarce i žene). U dosadašnjim istraživanjima anhedonija nije bila povezana s dobi, bila je stabilna ili su promjene tijekom vremena bile minimalne (58,59). Naš rezultat upućuje na određeni trend, ali nije prava mjera anhedonije jer se ona određuje kao lomna vrijednost, a ne apsolutna vrijednost bodova na ljestvici.

Na ljestvici za procjenu fizičke anhedonije, muški ispitanici su imali veći broj bodova u odnosu na ispitanice, ali ovdje je također uzimana apsolutna vrijednost, a ne lomna vrijednost za anhedoniju, koja je viša za muškarce. Kod konstrukcije ljestvice za anhedoniju (RPAS i RSAS), utvrđena je lomna vrijednost za anhedoniju, koja je za muškarce bila viša nego kod žena, te se od tada na taj način mjeri anhedonija navedenim ljestvicama (38). Stručna sprema bila je povezana s anhedonijom na način da su ispitanici s nižom stručnom spremom imali viši rezultat na ljestvicama za anhedoniju, što odgovara ranijim nalazima da je niža razina obrazovanja povezana s višom razinom anhedonije (219). Moguće je da izraženiji negativni simptomi narušavaju premorbidno funkcioniranje bolesnika i ometaju proces obrazovanja, pa su na taj način povezane anhedonija i niža razina obrazovanja (15). U našem istraživanju, ispitanice su više nego dvostruko češće (36,0%) imale socijalnu anhedoniju u odnosu na muške ispitanike (15,2%), a težina simptoma socijalne anhedonije bila je podjednaka između spolova, što je u suprotnosti s drugim istraživanjem koje je pokazalo veću težinu socijalne anhedonije kod muškaraca sa shizofrenijom (220). Međutim, u navedenom istraživanju je socijalna anhedonija mjerena kao ukupni broj bodova, a ne kao lomna vrijednost. U našem istraživanju, pušenje se pokazalo značajnim prediktorom na težinu simptoma socijalne anhedonije (iako ne i fizičke), pri čemu su nepušači imali izraženije simptome od pušača. Stoga je veća učestalost pušača u muškaraca mogla pridonijeti ovoj razlici u socijalnoj anhedoniji, dok druga istraživanja nisu uzimala u obzir i pušenje (220). Pušenje je kod bolesnika sa shizofrenijom istraživano zbog svoje izraženosti upravo kod ove bolesti, te postoje nalazi da pušenjem cigareta bolesnici smanjuju određene simptome poput kognitivnih smetnji i ekstrapiramidnih nuspojava lijekova (221). Nikotin djeluje na dopamin u sustavu nagrade i modulira dopaminsku funkciju (222), što vjerojatno olakšava neke simptome koji nastaju smanjenom dopaminskom aktivnošću, poput anhedonije. S druge strane, postoje nalazi da anhedonija kod bolesnika sa shizofrenijom povećava nikotinsku apstinenciju i žudnju za pušenjem, u odnosu na pušače bez psihijatrijskog poremećaja (223).

6.3. Povezanost polimorfizama gena za COMT s anhedonijom i negativnim simptomima

6.3.1. COMT rs4680

Ovim istraživanjem nije utvrđena značajna razlika u zastupljenosti pojedinih genotipova i alela COMT rs4680 između ispitanika sa i bez anhedonije (fizičke i socijalne, mjerene ljestvicama RPAS i RSAS). U istraživanju provedenom na srodnicima oboljelih od shizofrenije, polimorfizam COMT rs4680 bio je značajno povezan s anhedonijom, a homozigoti GG pokazali su značajno višu razinu anhedonije (133). Varijanta A je termolabilna, povezana s nižom aktivnošću enzima COMT, ali i povezana s većom dopaminskom aktivnošću u odnosu na G varijantu. Smatra se da A nosioci imaju veće razine dopamina u prefrontalnom korteksu (124), regiji u kojoj je aktivnost COMT-a glavni regulator dopamina (90).

U istraživanju koje je ispitivalo povezanost više različitih polimorfizama: Taq1A gena DRD2 (rs1800497), rs4680 gena COMT, VNTR gena DRD4, DAT1 VNTR gena SLC6A3, za proteine unutar dopaminskog sustava (DRD2/ANKK1, DRD4, DAT1, COMT) zaključeno je da je viša razina dopamina subkortikalno povezana sa smanjenim intenzitetom negativnih simptoma (63). Sukladno tome, negativni simptomi, poput anhedonije, nastaju kao posljedica smanjene dopaminske aktivnosti u mezokortikalnim putevima. Kod zdravih ispitanika utvrđena je povezanost AA homozigotnog genotipa i učenja u sustavu nagrade (engl. *reward learning*) (134). Dopamin je u složenom sustavu nagrade najviše povezan s procesom anticipacije ili motivacije (engl. *wanting*), a manje s konzumacijskom (engl. *liking*) i fazom učenja ili sitosti (engl. *reward learning*) (224). Kod bolesnika sa shizofrenijom je izraženija anticipacijska anhedonija, dok je ugoda tijekom konzumacije očuvana (50). Stoga bi se moglo očekivati da polimorfizmi koji su povezani sa povećanom aktivnošću COMT-a, poput polimorfizma COMT rs4680 (225) smanjuju razinu dopamina i dovode do izraženije anticipacijske anhedonije kod bolesnika sa shizofrenijom, kao što je dokazano u srodnika od oboljelih.

U studiji na zdravim ispitanicima u Hrvatskoj, A alel i G alel bili su podjednako prisutni (127). U ovom istraživanju nađene su značajne razlike u zastupljenosti alela A i G među spolovima, kod ispitanica je bio značajno više zastupljen alel G (54,8%), dok je kod muških ispitanika G alel bio zastupljen s 46,3%. Mogući razlog ovog relativno malog odstupanja je veličina uzorka istraživanja. Na hrvatskoj populaciji je također utvrđen učinak COMT rs4680 polimorfizma na negativne, iako ne i na pozitivne simptome shizofrenije (226).

Nadalje, pronašli smo drugačiji učinak COMT rs4680 polimorfizma na pojedine parametre ovisno o spolu. Ovakav rezultat (seksualni dimorfizam) već je ranije primijećen u osoba sa shizofrenijom,

kod bioloških i kliničkih pokazatelja, pa je npr. prisutnost AA genotipa kod bolesnica bila povezana s manjim volumenom kaudatusa, putamena i paliduma, dok su muški bolesnici s istim (AA) genotipom imali veći, ili podjednak volumen subkortikalnih struktura, u odnosu na druge bolesnike s ostalim rs4680 genotipovima (227). Bolesnice s terapijskom rezistencijom su češće imale AA genotip (36.4%) nego bolesnice s dobrim odgovorom na antipsihotike (23%), dok u muških bolesnika nije bilo razlike (157). Nadalje, dok su ispitanice sa shizofrenijom, koje su bile nositeljice G alela, imale veću težinu simptoma G8 i G11 na PANSS ljestvici, kao i ukupan zbroj bodova na PANSS-u, kod muških ispitanika nisu utvrđene razlike (131). Isto se može protumačiti činjenicom o različitoj aktivnosti COMT enzima između spolova. U postmortalnoj analizi nađena je veća aktivnost COMT-a u cerebelumu žena nego kod muškaraca (228), međutim, u drugom istraživanju nađena je veća aktivnost COMT-a u dorzolateralnom prefrontalnom korteksu muškaraca, u odnosu na žene (119). Naši rezultati nadopunjuju i proširuju spoznaje o seksualnom dimorfizmu učinka COMT rs4680 na različite simptome kod osoba oboljelih od shizofrenije. Utvrđene su spolne razlike u anatomiji dopaminskog sustava, pa je tako pretklinička studija utvrdila velike razlike u mezokortikalnim putovima, gdje su ženke imale veći udio dopaminskih neurona u ovim putovima nego mužjaci (229).
Bitno je istaknuti da je COMT rs4860 polimorfizam utjecao na aktivnost COMT-a bez obzira na ostale haplotipske kombinacije, odnosno, učinak ovog funkcionalnog polimorfizma toliko je snažan ga ne mogu „zasjeniti“ drugi polimorfizmi (119).

U našem je istraživanju polimorfizam rs4680 gena COMT bio značajno povezan s ljestvicom ukupnog funkcioniranja (GAF), ali samo kod muških ispitanika, pri čemu su nosioci GG genotipa (kod kojih je aktivnost enzima COMT najveća u odnosu na ostale genotipove) imali značajno veći broj bodova od nosioca AA genotipa (koji je povezan s najmanjom aktivnosti COMT-a). Također, kad su promatrani samo aleli, nosioci G alela imali su veći broj bodova na ljestvici GAF od nosioca A alela. Veći broj bodova označava veću razinu funkcioniranja i manje izražene simptome shizofrenije (190). Kod navedene ljestvice mjeri se razina ukupnog funkcioniranja, a ne izraženost posebnih skupina pozitivnih ili negativnih simptoma shizofrenije (190). Promatrajući ovaj rezultat kroz spektar negativnih simptoma, posebno anhedonije, očekivalo bi se da povećana aktivnost enzima COMT, uzrokuje izraženije negativne simptome, te posljedično smanjenu razinu funkcioniranja, što nije utvrđeno u ovom istraživanju. U istraživanju koje je mjerilo doprinos

simptoma shizofrenije GAF ljestvici, negativni simptomi značajno doprinose rezultatu GAF ljestvice 12 mjeseci nakon prijema u bolnicu (230). Pokazano je da su vrijednosti na PANSS ljestvici u negativnoj korelaciji s GAF ljestvicom (231). U istraživanju na španjolskoj populaciji, u koju je bilo uključeno 207 osoba s bolestima iz shizofrenog spektra i 204 zdravih kontrola, nosioci GG genotipa imali su teže psihotične simptome i lošiji odgovor na antipsihotičnu terapiju (139). U istom istraživanju su nosioci GG genotipa imali manji porast na ljestvici GAF nakon 6 mjeseci terapije, u odnosu na nosioce drugih genotipova. I druga istraživanja su utvrdila lošiji terapijski odgovor osoba sa GG genotipom u odnosu na nosioce A alela, na liječenje amisulpridom (232) i olanzapinom (158). Međutim, u muških ispitanika sa shizofrenijom u našem istraživanju, ni prisutnost G alela, niti GG genotip, nisu bili povezani s težom kliničkom slikom, niti s negativnim simptomima. S druge strane, ako se pozitivne simptome povezuje s povišenom razinom dopamina u asocijativnom strijatumu, onda bi ovaj rezultat odgovarao dosadašnjim istraživanjima. Veća aktivnost COMT-a smanjuje dopamin u strijatumu (121) i posljedično može dovesti do manje pozitivnih simptoma i do mogućeg boljeg općeg funkcioniranja, te većeg rezultata na GAF ljestvici, što odgovara našem rezultatu. Istome govori u prilog i veća učestalost AA genotipa kod terapijske rezistencije, iako je ona utvrđena samo kod bolesnica (157). Nadalje, povezanost COMT rs4680 polimorfizma sa simptomima se mijenja, ovisno o težini bolesti, tako postoje nalazi da iako bolesnici na početku liječenja nisu imali korelacije COMT rs4680 polimorfizma i bilo kakvih simptoma, ispitanici s AG i AA genotipom, nakon 8 tjedana liječenja raznim antipsihoticima, imali su teže simptome bolesti, posebice negativne i opće simptome, ali i lošije rezultate na Stroop zadatku (zadatak s bojama, riječima i nazivima boja), nego oni sa GG genotipom (233).

Kod ispitanica sa shizofrenijom smo pronašli značajnu povezanost COMT rs4680 polimorfizma s ljestvicama koje mjere negativne simptome. Nositeljice genotipa GG imale su značajno veći broj bodova na CAINS podljestvici za socijalizaciju u odnosu na nositeljice drugih genotipova. Također, prisustvo alela G je bilo povezano s većim ukupnim brojem bodova na ljestvici CAINS, te podljestvicama za socijalizaciju, posao i rekreaciju, te na BNSS podljestvici za anhedoniju. U ovom istraživanju je G alel bio značajno više prisutan kod ispitanica (54,8%) nego kod muških ispitanika (46,3%), ali nije bilo razlike u intenzitetu negativnih simptoma među spolovima. Isto tako, muških ispitanika (59%) je bilo više u istraživanju od ispitanica (41%). U prijašnjem istraživanju, postoji nalaz o 17% većoj aktivnost COMT-a u dorzolateralnom prefrontalnom

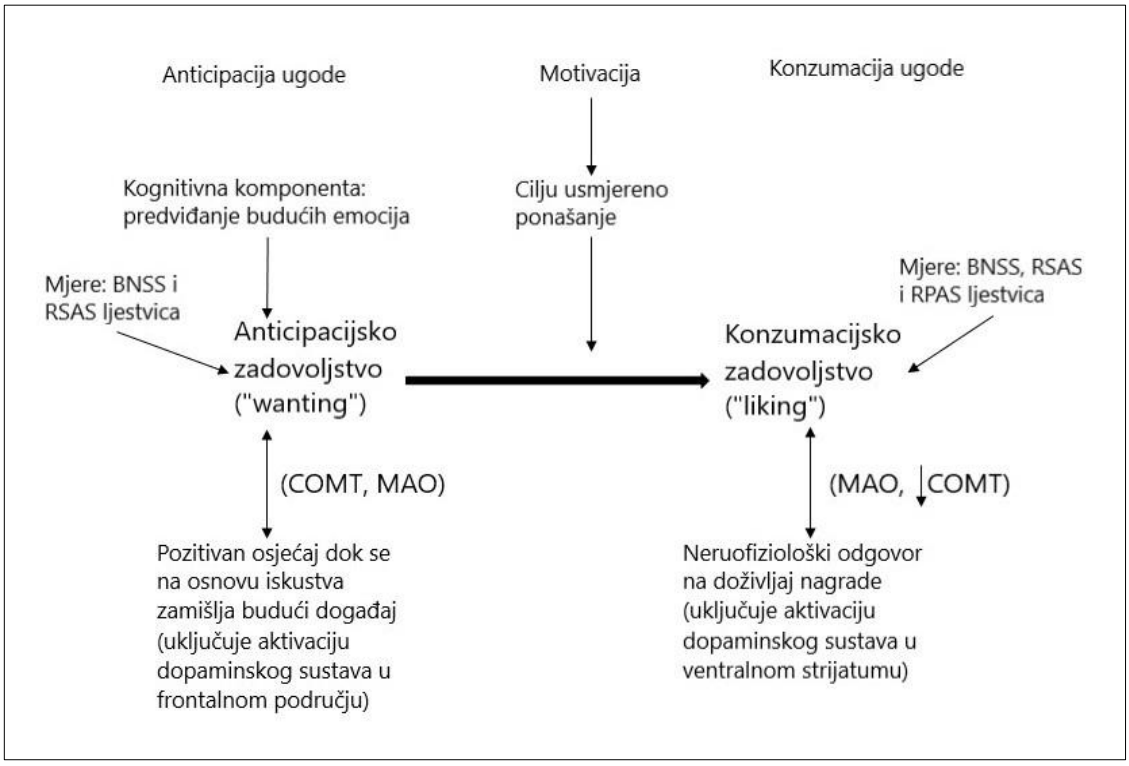
korteksu muškaraca u odnosu na žene (119). Također, postoje nalazi da polimorfizam COMT rs4680 utječe na volumen određenih subkortikalnih struktura različito kod muškaraca i žena, pa je kod bolesnica sa shizofrenijom koje su nositeljice AA genotipa pronađen manji volumen kaudatusa, putamena i paliduma, dok je kod muškaraca AA homozigota volumen bio veći ili isti kao kod drugih grupa (227). Sve navedene razlike, mogući su razlog ovakvom rezultatu, te je možda zato povezanost polimorfizma COMT rs4680 i negativnih simptoma izostala kod muških ispitanika. Povezanost koja je dokazana samo kod ispitanica, bila je očekivana i odgovara dosadašnjim istraživanjima. U istraživanju na kineskoj populaciji nosioci G alela imali su veći broj bodova za negativne simptome, osobito za zaravnjen afekt, u odnosu na nosioce A alela (136). Kod bolesnika s prvom psihotičnom epizodom, GG genotip bio je povezan sa značajno većim vrijednostima na ljestvici SANS za negativne simptome, te su se simptomi javili ranije nego kod A nosioca (137). U poljskoj studiji koja je ispitivala povezanost deficitarnog sindroma (podgrupe bolesnika sa shizofrenijom koji imaju izražene primarne negativne simptome i drugačiji tijek bolesti) s polimorfizmom COMT rs4680, pronađena je veća učestalost GG genotipa u grupi bolesnika koja nije imala deficitarni sindrom (138). Bilo je uključeno 200 ispitanika sa shizofrenijom (od toga 81 s deficitarnim sindromom) i 100 zdravih kontrola, pa je relativno mali uzorak mogući razlog ovakvih rezultata.

Dakle, iako nije dokazana značajna razlika u zastupljenosti pojedinih genotipova i alela COMT rs4680 polimorfizma između ispitanika sa i bez anhedonije - mjerene ljestvicama RPAS i RSAS, dokazana je povezanost G alela kod ispitanica s većim brojem bodova na BNSS podljestvici za anhedoniju. Ovakva razlika (povezanost s anhedonijom mjerenom na BNSS ljestvici, ali ne i RPAS i RSAS ljestvicama) može proizlaziti radi razlika u vrsti anhedonije koju ove skale mjere (konzumacijska i anticipacijska). Naime, BNSS ljestvica mjeri obje anhedonije, a RPAS uglavnom konzumacijsku (234), dok postoje nalazi da socijalna anhedonija mjerena RSAS ljestvicom ima konzumacijsku, ali i anticipacijsku komponentu (235). Međutim, postoje nalazi da konzumacijska i anticipacijska anhedonija imaju različite supstrate, pa je konzumacijska anhedonija bila povezana sa smanjenom aktivacijom ventralnog područja bazalnih ganglija, dok je kod anticipacijske anhedonije utvrđen deficit u frontostrijatalnim putovima, osim ventralnog strijatuma (36). Obzirom da COMT ima najveću ulogu u regulaciji dopaminskog sustava upravo u kortikalnom području, moguće je da je COMT više uključen u anticipacijsku anhedoniju, barem u ispitanica sa shizofrenijom, te su zato utvrđene povezanosti rs4680, ali i s drugim polimorfizmom COMT gena

rs4818 s anhedonijom mjerenom BNSS ljestvicom. S druge strane, u bazalnim ganglijima je velika gustoća i dopaminskog transportera, pa uloga COMT-a ne mora biti značajna kod konzumacijske anhedonije. Ovakva razmišljanja upućuju na potrebu istraživanja polimorfizama drugih struktura dopaminskog puta kod fizičke i socijalne anhedonije, poput dopaminskog transportera. Dapače, na pretkliničkom modelu je utvrđeno da genetski uvjetovana visoka ekspresija COMT enzima pomoću korelata COMT rs4680 polimorfizma u ljudi, dovodi do povećanog otpuštanja dopamina u strijatumu (121), dok je drugo istraživanje utvrdilo da niska aktivnost COMT-a, unatoč značajnom povišenju dopamina u prefrontalnom korteksu, uopće ne mijenja koncentracije dopamina u strijatumu i nukleusu akumbensu (122). Iz ovog posljednjeg istraživanja može se objasniti zašto u našem istraživanju osobe koje imaju rs4680 i rs4818 genotipove povezane s niskom aktivnošću COMT-a, nemaju manje fizičke anhedonije od osoba s genotipovima povezanim s većom aktivnošću COMT-a.

S druge strane, drugi dio ovog istraživanja je pokazao da su socijalna i fizička anhedonija bile su povezane s rs6651806 polimorfizmom MAO-B gena.

Navedenu teoriju shematski prikazuje slika 6.1., a prikaz je vrlo preliminaran, te ne uključuje spolne razlike. Za potvrdu ili odbacivanje ovog koncepta potreba su daljnja istraživanja.



Slika 6.1. Shematski prikaz anticipacijske i konzumacijske ugode.

6.3.2. COMT rs4818

U ovom istraživanju, kao i kod polimorfizma rs4680, značajan utjecaj polimorfizma rs4818 primijećen je samo kod muških ispitanika sa shizofrenijom kod globalne procjene funkcionalnosti (GAF), pri čemu su najveći broj bodova na ljestvici GAF imali heterozigoti, odnosno nositelji CG genotipa obzirom na polimorfizam COMT rs4818. Analizom alela je uočen veći broj bodova kod nositelja alela G nego kod nositelja alela C. Slično kao kod polimorfizma rs4680, ovakav rezultat nije bio očekivan. Prema istraživanju koje je pokazalo veću aktivnost COMT-a kod varijante G rs4818 polimorfizma, posljedično smanjena razina dopamina u prefrontalnom korteksu (153), bila bi povezana s izraženijim negativnim simptomima i lošijim općim funkcioniranjem ispitanika. Slično kao i kod polimorfizma rs4680, moguće je da veća aktivnost COMT-a dovodi do manje koncentracije dopamina u mezolimbičkom putu i manje izraženih pozitivnih simptoma, te posljedično većeg rezultata na ljestvici opće funkcionalnosti, GAF.

Ženske ispitanice s GG genotipom obzirom na COMT rs4818 imale su značajno veći ukupni broj bodova na ljestvici CAINS, CAINS podljestvicama za socijalizaciju i posao, te BNSS podljestvici za anhedoniju u odnosu na nositeljice CC genotipa. Također, nositeljice G alela imale su značajno veći broj bodova na ukupnoj ljestvici CAINS, CAINS podljestvicama za socijalizaciju, posao i rekreaciju, te BNSS podljestvici za anhedoniju, u odnosu na nositeljice C alela. Isto kao i za polimorfizam rs4680, i u ovom slučaju vrijede prije navedene razlike među spolovima koje bi mogle biti uzrok ovom rezultatu. Povezanost s negativnim simptomima je očekivana i odgovara pretpostavkama i dosadašnjim istraživanjima, prema kojima smanjena dopaminska aktivnost u prefrontalnom korteksu uzrokuje izraženije negativne simptome (11). Povezanost s negativnim simptomima u kineskoj populaciji ispitivana je za dva polimorfizma za COMT, rs740603 i rs4818, te je nađena povezanost haplotipa rs740603(G)-rs4818(G) i negativnih simptoma shizofrenije, osobito među bolesnicama (159).

Ispitanice koje su imale socijalnu anhedoniju su češće bile nositeljice alela G polimorfizma COMT rs4818 u odnosu na ispitanice bez socijalne anhedonije kod kojih je alel G bio rjeđe zastupljen. Ovaj rezultat odgovara prethodnom, gdje je G alel povezan sa smanjenom razinom dopamina u prefrontalnom korteksu (153), te moguće i posljedično izraženijim negativnim simptomima, od kojih je jedan anhedonija, u ovom slučaju socijalna anhedonija.

U literaturi postoje nalazi o genetskoj uvjetovanosti socijalne anhedonije kod shizofrenije, odnosno povezanosti poligenskog rizičnog rezultata (engl. *polygenic risk score*) koji je sadržavao 8 rizičnih polimorfizama (rs10503253, rs7004633, rs1625579, rs17662626, rs2021722, rs7914558, rs11191580 i rs548181) i nastanka socijalne anhedonije, a ova povezanost je „pojačana“ prisutnošću perinatalnih čimbenika rizika, poput velike porođajne težine (220). Socijalna anhedonija, mjerena RSAS ljestvicom, može uz konzumacijsku, imati i anticipacijsku komponentu (234,235). Stoga, može se pretpostaviti da zbog navedene činjenice, socijalna anhedonija može biti povezana i s dopaminskom aktivnošću u frontalnom korteksu, s čime je povezana aktivnost COMT enzima, dok je fizička anhedonija više ovisna o dopaminskoj aktivnosti u ventralnom strijatumu, te na nju ne utječe COMT polimorfizam. Budući da naše istraživanje nije određivalo aktivnost dopaminskog sustava, aktivnost COMT enzima, niti aktivnost moždanih putova, ne može se sa sigurnošću tvrditi da su zbog tih razlika nastale razlike u povezanosti COMT polimorfizama i socijalne i fizičke anhedonije.

U svakom slučaju, povezanost polimorfizama COMT gena sa socijalnom anhedonijom zahtjeva daljnja i detaljnija istraživanja. Naime, utvrđeno je da je socijalna anhedonija povezana s većom težinom simptoma shizofrenije, smanjenom samoefikasnošću, samopoštovanjem i subjektivnim doživljajem oporavka (236). Moguće je da bi istraživanje drugih polimorfizama COMT gena koji su povezani sa socijalnom anhedonijom moglo pomoći ranom prepoznavanju rizičnih bolesnika, te odabiru terapije i drugih načina liječenja za ublažavanje ovog očito važnog simptoma shizofrenije.

Dakle, osim značajne razlike u zastupljenosti G alela kod ispitanica sa socijalnom anhedonijom, mjerene ljestvicom RSAS, pronašli smo povezanost G alela i GG genotipa kod ispitanica s većim brojem bodova na BNSS podljestvici za anhedoniju. Drugim riječima, utvrđen je učinak dva polimorfizma unutar gena COMT na negativne simptome, uključujući anhedoniju, kod ženskih, ali ne i muških bolesnika sa shizofrenijom. Može se pretpostaviti, da bi ovakav rezultat mogao biti u skladu s pretpostavkom o „spolno specifičnom učinku genetskih mehanizama kod shizofrenije“, budući da je samo u ispitanica utvrđena povezanost poligenskog rizičnog rezultata i razvoja shizofrenije (220).

6.3.3. Haplotip COMT rs4818-rs4680

Muški nositelji CG haplotipa su imali značajno veći broj bodova na GAF ljestvici u odnosu na nositelje CA haplotipa COMT rs4818-rs4680. Kod analize polimorfizma rs4818 genotip CG je bio povezan s najvećim brojem bodova na ljestvici GAF, a alel G je bio povezan s većim brojem bodova od alela C. Kod polimorfizma rs4680 genotip GG je bio povezan s većim brojem bodova na ljestvici GAF, a alel G je bio povezan s većim brojem bodova od alela A. Kod oba polimorfizma povezanost je bila prisutna samo kod muških ispitanika. Sukladno tome, haplotip CG odgovara kombinaciji nalaza za svaki polimorfizam zasebno. Isto tako, objašnjenje ovog nalaza nastavlja se na objašnjenja za svaki polimorfizam zasebno, jer je moguće da veća aktivnost COMT-a dovodi do manje koncentracije dopamina u asocijativnom strijatumu i manje izraženih pozitivnih simptoma, te posljedično većeg broja bodova na ljestvici GAF, barem kod muških ispitanika sa shizofrenijom. Bitno je istaknuti da su bolesnici u ovom istraživanju bili klinički stabilni, a trećina njih je bila i zaposlena. Stoga nije niti isključeno da bi se ova povezanost mogla izgubiti u osoba u psihotičnoj dekompenzaciji. Naime, u pretkliničkom modelu je sniženje razine dopamina u orbitofrontalnom korteksu dovelo do strijatalne hiperdopaminergije (237), koja se zapaža u akutno psihotičnih bolesnika (238), dok je u remisiji pozitivnih psihotičnih simptoma sinteza dopamina u strijatumu smanjena (239).

Kod ispitanica je pronađena značajna povezanost GG haplotipa rs4818-rs4680 s negativnim simptomima, odnosno ukupnom broju bodova ostvarenom na ljestvici CAINS, te podljestvicama za socijalizaciju i posao, te na BNSS podljestvici za anhedoniju. Ovaj rezultat odgovara osnovnim pretpostavkama da su varijante G za oba polimorfizma povezane s većom aktivnošću COMT-a i posljedičnom smanjenom dopaminskom aktivnošću u prefrontalnom korteksu, te posljedično izraženijim negativnim simptomima.

Nije bilo značajnih razlika u frekvenciji pojavljivanja pojedinih haplotipova gena COMT ovisno o prisutnosti fizičke ili socijalne anhedonije kod ispitanika (mjerene ljestvicama RPAS i RSAS). Međutim, haplotip GG bio je povezan s BNSS podljestvicom za anhedoniju kod ispitanica, što odgovara tome da je kod oba polimorfizma posebno, alel G bio povezan s anhedonijom kod ispitanica - mjerenom BNSS podljestvicom za anhedoniju.

6.4. Povezanost polimorfizama gena za MAO-B s anhedonijom i negativnim simptomima

O polimorfizmima MAO-B gena i njihovom utjecaju na psihopatologiju provedeno je mnogo manje istraživanja nego s polimorfizmima COMT gena, iako oba gena kodiraju enzime koji sudjeluju u razgradnji dopamina. U našem uzorku, aleli A i G polimorfizma rs1799836 bili su otprilike zastupljeni u omjeru 1:1 kod oba spola, dok je alel A polimorfizma rs6651806 bio kod oba spola zastupljen oko 70%, a alel C 30%. Postoje podaci raspodjele alela kod europske populacije za polimorfizam rs1799836, gdje je alel A bio zastupljen oko 60%, a alel G oko 40% (180). U američkom istraživanju na bijeloj populaciji je kod polimorfizma rs6651806, alel A bio zastupljen 64%, a alel C 36%, dok je za polimorfizam rs1799836 zastupljenost alela A i G bila otprilike 1:1 (184).
1.4.

6.4.1. MAO-B rs1799836

U našem istraživanju su muški ispitanici sa shizofrenijom, nositelji A alela polimorfizma MAO-B rs1799836, imali značajno veći broj bodova na BNSS podljestvici za alogiju (smanjena količina govora i spontanih elaboracija) nego muški ispitanici koji su bili nositelji G alela. Povezanost alela A polimorfizma MAO-B rs1799836 s negativnim simptomima, odgovarala bi hipodopaminskoj hipotezi nastanka negativnih simptoma. Za razliku od prefrontalnog korteksa, gdje COMT ima glavnu regulacijsku ulogu, u strijatumu i nukleusu akumbensu COMT ima manji učinak, a glavni put razgradnje dopamina je preko dopaminskog transportera i enzima MAO-B (90). Ta se pretpostavka temelji na činjenici da je A alel polimorfizma MAO-B rs1799836 povezan s većom aktivnošću MAO-B u mozgu nego G alel, jer su u postmortalnom istraživanju na 31 zdravom muškom ispitaniku, nosioci A alela imali veću aktivnost MAO-B u mozgu od nosioca G alela (172). Tome govori u prilog i povezanost A alela polimorfizma MAO-B rs1799836, s porastom ekspresije MAO-B proteina i povećane aktivnosti trombocitne MAO-B kod bolesnika s Parkinsonovom bolešću (178). Prema toj hipotezi bi kod nosioca alela A, veća aktivnost MAO-B trebala uzrokovati smanjenje dopamina. Međutim, rezultati iz literature o povezanosti MAO-B i MAO-B rs1799836 polimorfizma nisu jednoznačni. Istraživanje te povezanosti je pokazalo na manjem broju ispitanika da zdravi muškarci, nepušači, koji su bili nosioci A alela polimorfizma

MAO-B rs1799836, imaju nižu aktivnost MAO-B u trombocitima od nosioca G alela (175). Također, *in vitro* ispitivanje je pokazalo veću enzimsku aktivnost kod G alela (173). Druga istraživanja, napravljena na puno većem broju ispitanika, nisu potvrdila povezanost polimorfizma MAO-B rs1799836 i trombocitne aktivnosti MAO-B enzima kod zdravih muškaraca (176), a niti u osoba sa shizofrenijom ili adolescentima s poremećajem ponašanja (167). Nepodudarnosti rezultata navedenih studija mogu proizaći iz različitog broja ispitanika uključenih u studije, pa razlike mogu nastati radi premalog broja ispitanika i nedostatne statističke snage istraživanja, ali i iz različitih metodologija, jer je moguće da je regulacija aktivnosti MAO-B drukčija kod npr. osoba s Parkinsonovom bolešću i zdravih osoba, te činjenicu da, osim učinka polimorfizma rs1799836, na aktivnost MAO-B (različito u mozgu i u trombocitima) djeluju i drugi čimbenici, poput dobi, pušenja, te drugih unesenih tvari (176).

Naši rezultati upućuju da spolne razlike postoje i u povezanosti polimorfizma MAO-B rs1799836 s određenim simptomima, što se također nadovezuje na nalaze iz literature. Tako je pronađeno da ovaj polimorfizam ima modulirajuće djelovanje na učinak pušenja na rizik razvoja Parkinsonove bolesti u muškaraca, ali ne i u žena (240). Nadalje, u studiji na španjolskoj populaciji (242 bolesnika sa shizofrenijom i 290 zdravih kontrola), G alel polimorfizma MAO-B rs1799836 je bio povezan s razvojem shizofrenije, ali samo kod bolesnica (179). Takav nalaz ide u prilog hipotezi da je G alel rizičan za razvoj bolesti, jer pridonosi nakupljanju dopamina u mozgu. U kineskom istraživanju na uzorku od 537 bolesnika i 536 zdravih kontrola, također je G alel bio identificiran kao rizičan čimbenik za razvoj bolesti (180). Dakle, G alel polimorfizma MAO-B rs1799836 je povezan s nastankom bolesti, ali nije potpuno jasna povezanost s aktivnošću MAO-B enzima. U studiji na meksičkoj populaciji, u uzorku od 344 bolesnika i 124 zdravih kontrola, polimorfizam MAO-B rs1799836 bio je povezan s negativnim simptomima kod bolesnika sa shizofrenijom, na način da je kod bolesnica koje su bile GG nositeljice bila veća izraženost afektivne zaravnjenosti (171). Ovaj rezultat je suprotan našem rezultatu, ali i nalazima da je kod G alela polimorfizma MAO-B rs1799836 enzimska aktivnost smanjena, te dovodi do porasta dopamina i manje negativnih simptoma. Jedna od razlika može biti dob, budući da aktivnost MAO-B značajno raste s dobi, a ispitanici su u navedenom istraživanju bili 10-ak godina mlađi od naših bolesnika (171). Na aktivnost MAO-B enzima u trombocitima utječe više čimbenika, poput spola, dobi, etničke pripadnosti i pušenja (176), a ti čimbenici također mogu modulirati aktivnost MAO-B u mozgu.

Nismo našli povezanost polimorfizma MAO-B rs1799836 i depresivnih simptoma, što odgovara ranijem rezultatu u istraživanju na 379 zdravih ispitanika (241).
Enzim MAO-B razgrađuje također i feniletilamin, koji se smatra „endogenim amfetaminom“, te je ranije nađeno da miševi bez aktivnog oblika MAO-B enzima, imaju visoke koncentracije feniletilamina u mozgu (242), odnosno, MAO-B ima 35 puta veći afinitet za feniletilamin nego MAO-A (243). S druge strane, primjena amfetamina u animalnim modelima dovela je do povećanja odgovora na nagradu (244). Činjenica je da inhibicija enzima MAO-B dovodi do promjene ponašanja, te da porast aktivnosti MAO-B u mozgu dovodi do neurodegeneracije (243), te preostaje utvrditi na koji način polimorfizmi unutar gena za MAO-B mijenjaju aktivnost MAO-B. Budući da je ovo prvo istraživanje koje je uspoređivalo bilo koji polimorfizam unutar gena za MAO-B, te fizičku i socijalnu anhedoniju, potrebno je dalje istražiti da li uopće, te na koji način polimorfizma MAO-B rs1799836 utječe na aktivnost MAO-B i na koncentracije dopamina i feniletilamina, te ako se to potvrdi na većoj populaciji, može li se specifičnim terapijskim pristupom ublažiti socijalna anhedonija u ovih osoba.

6.4.2. MAO-B rs6651806

Polimorfizam MAO-B rs6651806 bio je povezan s depresivnim simptomima kod naših ispitanika. Pri tome je alel C bio povezan s izraženijim simptomima depresije nego alel A. Poznato je da se inhibitori MAO enzima koriste kao antidepresivi, te postoje selektivni inhibitori MAO-A enzima i neselektivni inhibitori koji blokiraju oba MAO enzima (163). U SAD-u je odobren selektivni MAO-B inhibitor selegilin u transdermalnom obliku za liječenje depresivnog poremećaja (163). U Europi se ovaj lijek koristi samo kao antiparkinsonik. Prema tome, moguće je da je C alel polimorfizma MAO-B rs6651806 povezan sa povećanom funkcijom MAO-B enzima i na taj način uzrokuje izraženije depresivne simptome kod ispitanika.
Međutim, alel A polimorfizma MAO-B rs6651806 je kod ispitanika bio povezan s većim brojem bodova na ljestvici za socijalnu anhedoniju, u odnosu na nositelje alela C. Kod posebne analize po spolovima, ovo je nalaz potvrđeno samo kod ispitanica. Značajno je bila veća frekvencija pojavljivanja A alela nego C alela i u skupini s fizičkom anhedonijom kod analize ženskih i muških ispitanika zajedno, a to je potvrđeno kad su ispitanice analizirane posebno. Dakle, A alel

polimorfizma MAO-B rs6651806 je bio značajno više zastupljen nego C alel kod ispitanica s fizičkom, ali i kod ispitanica sa socijalnom anhedonijom, u odnosu na one bez anhedonije. Ovo na prvi pogled izgleda kontradiktorno, budući je anhedonija također simptom depresije, te se čini da je alel A povezan s manje depresije, a više socijalne anhedonije. Međutim, ovakav nalaz ima objašnjenje u literaturi. Naime, utvrđeno je da u osoba sa shizofrenijom postoje tri podjednako zastupljene podskupine: izražena depresivnost/izražena anhedonija, niska depresivnost/niska anhedonija, te niska depresivnost/visoka anhedonija (245). Stoga je moguće da je prisustvo A alela MAO-B rs6651806 polimorfizma u bolesnica sa shizofrenijom povezano s pripadnošću u klaster depresivnost/visoka anhedonija. Iako u navedenom istraživanju nije mjerena socijalna anhedonija, nego je anhedonija procijenjena prema jednom pitanju na skali za kvalitetu života, prisutnost visoke anhedonije i niske depresije bila je povezana s lošijom socijalnom kognicijom (245).

Kod muških ispitanika koji su nositelji A alela polimorfizma MAO-B rs6651806, uočen je značajno veći ukupni broj bodova na ljestvicama za negativne simptome CAINS i BNSS, kao i na njihovim podljestvicama CAINS za rekreaciju i ekspresiju, BNSS podljestvici za anhedoniju i alogiju, nego kod muških ispitanika nositelja alela C. Kod zdravih ispitanika, dokazana je povezanost negativne emocionalnosti i polimorfizama rs10521432 i rs6651806 gena MAO-B, pa je kod polimorfizma rs6651806 alel A bio povezan s većim rezultatom negativne emocionalnosti na Multidimenzijskom upitniku ličnosti (engl. *Multidimensional Personality Questionnaire*, MPQ), u odnosu na nositelje C alela (184).

Dakle, u našem istraživanju je alel A polimorfizma MAO-B rs6651806 bio povezan s negativnim simptomima i anhedonijom, što odgovara prijašnjem nalazu veće negativne emocionalnosti kod zdravih ispitanika. Ako su negativni simptomi povezani sa smanjenom aktivnošću dopamina u ventralnom strijatumu (11), prema tome bi alel A polimorfizma MAO-B rs6651806 mogao biti povezan s povećanom ekspresijom MAO-B gena i posljedično povećanom aktivnošću MAO-B enzima koja dovodi do smanjene razine dopamina. Pronađeno je da nosioci C alela polimorfizma MAO-B rs6651806 imaju tri dodatna mjesta za vezivanje transkripcijskih čimbenika, u odnosu na nosioce A alela (184), što bi moglo biti uzrokom promijenjene funkcije enzima. Ranije je utvrđeno da MAO-B rs6651806 polimorfizam može utjecati na koncentraciju metabolita monoamina, barem u muškaraca sa shizofrenijom (185). Druge spoznaje o mogućem utjecaju ovog polimorfizma u MAO-B genu nisu dostupne. Prema našim saznanjima, nema istraživanja o povezanosti ovog polimorfizma s aktivnošću MAO-B enzima. Obzirom na značajan utjecaj MAO-

B rs6651806 polimorfizma na negativne simptome kod muških ispitanika, te fizičku i socijalnu anhedoniju, ali i depresiju kod ispitanica, ovaj polimorfizam je kandidat za buduća istraživanja kod bolesnika sa shizofrenijom.

6.4.3. Haplotip MAO-B rs1799836-rs6651806

Značajno najveći broj bodova na ljestvici depresije za shizofreniju (CDSS), kod svih ispitanika zajedno, imali su nositelji GC haplotipa MAO-B rs1799836-rs6651806. Kod navedene analize polimorfizma rs6651806, alel C je bio povezan s izraženijim depresivnim simptomima. U ranijem istraživanju na 150 zdravih ispitanika je haplotip GACG za 4 SNP-a (rs1799836, rs10521432, rs6651806 i rs590551) bio značajno povezan s nižim rezultatom na ljestvici negativne emocionalnosti (184). Taj rezultat je suprotan našem nalazu, ali depresivni simptomi i negativna emocionalnost nisu iste kategorije. Također, moguće je da interakcija više polimorfizama uzrokuje promjene koje se razlikuju od učinka koji je izmjeren kada se analizira pojedinačni polimorfizam ili kao u našem slučaju haplotipu dva polimorfizma.

Kod muških ispitanika su nositelji GC haplotipa imali značajno niži broj bodova na podljestvici CAINS za ekspresiju, od nositelja haplotipa AA i GA. Također, kod muškaraca nositelja GC haplotipa je primijećen manji broj bodova na ukupnoj ljestvici BNSS i podljestvici BNSS za alogiju. Ovi nalazi odgovaraju analizi svakog polimorfizma posebno, jer su kod oba polimorfizma aleli A bili povezani s izraženijim negativnim simptomima. Faktorska analiza je pokazala da se negativni simptomi grupiraju u dva faktora: avolicija-apatija i deficit ekspresije (17). Zanimljivo je da u našem istraživanju zaravnjen afekt mjeren CAINS podljestvicom za ekspresiju i alogija mjerena BNSS podljestvicom, spadaju prema faktorskoj analizi u deficit ekspresije. Prema tome je GC haplotip kod muških ispitanika povezan sa smanjenim deficitom ekspresije, te je moguće da ima protektivan učinak. Taj nalaz bi odgovarao istraživanju provedenom na zdravim ispitanicima, gdje je haplotip GACG za 4 SNP-a (rs1799836, rs10521432, rs6651806 i rs590551) bio značajno povezan s nižim rezultatom na ljestvici negativne emocionalnosti (184).

Frekvencija pojavljivanja pojedinih haplotipova rs1799836-rs6651806 nije bila značajno različita između ispitanika s ili bez anhedonije.

U zaključku, ova je prva studija, provedena na klinički stabilnim bolesnicima sa shizofrenijom, koja je istražila povezanost socijalne i fizičke anhedonije, te negativnih simptoma, s polimorfizmima rs4680 i rs4818 COMT gena, te rs1799836 i rs6651806 MAO-B gena. Rezultati su pokazali izražene spolne razlike. Tako je utvrđena povezanost genskih varijanti COMT gena koji se povezuju s njegovom većom aktivnošću, s negativnim simptomima i socijalnom anhedonijom, ali samo kod ispitanica sa shizofrenijom. Nasuprot tom nalazu, kod muških ispitanika ni negativni simptomi, a niti jedna od mjerenih anhedonija, nisu bili povezani s polimorfizmima rs4680 i rs4818 COMT gena. Naprotiv, u muških ispitanika su genske varijante povezane s većom COMT aktivnošću bile povezane s većom funkcionalnošću mjerenom GAF ljestvicom.

Muški ispitanici nositelji A alela polimorfizma rs1799836 gena MAO-B imali su češće alogiju. Nadalje, utvrđena je povezanost do sada vrlo slabo istraženog rs6651806 polimorfizma u MAO-B genu s depresijom i anhedonijom, pri čemu je utvrđeno da je prisutnost C alela u ispitanica sa shizofrenijom povezana s većim intenzitetom depresije. Alel A je povezan s većim intenzitetom socijalne anhedonije, te češćom prisutnošću socijalne i fizičke anhedonije. Muški ispitanici, nositelji A alela imali su izraženije negativne simptome, uključujući anhedoniju mjerenu BNSS ljestvicom.

6.5. Ograničenja istraživanja

Ovaj tip genetskog istraživanja koje istražuje povezanost određenog rizičnog genotipa s kliničkim parametrima zahtjeva veće uzorke nego što je veličina uzorka u ovom istraživanju, iako je ovaj uzorak imao dovoljnu statističku snagu. Relativno mali uzorak smanjuje jačinu dokaza ukupnih rezultata, kako onih rezultata koji su se pokazali značajnim, tako i rezultata koji nisu pokazali statističku značajnost. Obzirom je istraživanje presječno, nije bilo moguće pratiti povezanost istraživanih polimorfizama s dinamikom težine simptoma tijekom vremena. U istraživanje su uključeni ispitanici koji su bili suradljivi i očuvanih sposobnosti za rješavanje samoocjenskih upitnika što doprinosi tome da je prosječna težina bolesti bila nešto lakša. Radi toga su u studiju uključeni ispitanici s nešto lakšom kliničkom slikom od uobičajene. Shizofrenija je heterogena bolest koja sadrži različite podtipove, što otežava interpretaciju rezultata genetskog istraživanja i

povezanosti sa skupinama simptoma. Intenzitet anhedonije kod bolesnika sa shizofrenijom ponekad je teško točno procijeniti, jer se radi o bolesnikovim subjektivnim iskustvima, a dijelom i zbog mogućih utjecaja kognitivnih teškoća i drugih simptoma bolesti. Daljnje ograničenje ovog istraživanja je izostanak procjene kognitivnog deficita, budući da se kognitivno funkcioniranje također povezuje s anhedonijom, hipodopaminergijom i polimorfizmima dopaminskog sustava.

7. ZAKLJUČAK

1. Rezultati našeg istraživanja pokazali su da postoji značajna povezanost određenih alela kod istraživanih polimorfizama i anhedonije, te drugih negativnih simptoma shizofrenije. Varijante gena koje se povezuju s povećanom enzimskom aktivnošću povezane su s izraženijim negativnim simptomima.

2. Nije potvrđena hipoteza povezanosti polimorfizma COMT rs4680 i anhedonije mjerene RPAS i RSAS ljestvicama. Postoji spolna razlika u povezanosti COMT rs4680 polimorfizma s određenim negativnim simptomima i anhedonijom mjerenom BNSS ljestvicom, te kod ispitanica sa shizofrenijom, nositeljice G alela imaju izraženije navedene simptome nego nositeljice A alela.

3. Postoji spolna razlika u povezanosti polimorfizma COMT rs4818 s anhedonijom i negativnim simptomima. Ženske ispitanice sa shizofrenijom koje imaju socijalnu anhedoniju su češće nositeljice alela G nego alela C u odnosu na one bez socijalne anhedonije. Određeni negativni simptomi kod ispitanica sa shizofrenijom izraženiji su kod nositeljica G alela nego kod nositeljica C alela polimorfizma COMT rs4818. Anhedonija mjerena BNSS ljestvicom kod ispitanica također je izraženija kod nositeljica alela G nego alela C. Nositeljice GG genotipa polimorfizma COMT rs4818 imaju izraženiju anhedoniju i određene negativne simptome nego nositeljice drugih genotipova.

4. Nije potvrđena hipoteza povezanosti između polimorfizma MAO-B rs1799836 i anhedonije. Postoji spolna razlika u povezanosti ovog polimorfizma s negativnim simptomom – alogijom, koja je kod muških ispitanika sa shizofrenijom izraženija kod nositelja A alela nego kod nositelja G alela.

5. Anhedonija kod ispitanika sa shizofrenijom je povezana s polimorfizmom MAO-B rs6651806. Značajno je veća frekvencija pojavljivanja A alela kod svih ispitanika zajedno s fizičkom anhedonijom, nego frekvencija C alela u odnosu na ispitanike bez fizičke anhedonije. Kod ispitanica sa socijalnom ili fizičkom anhedonijom, alel A je značajno više zastupljen nego alel C, u odnosu na ispitanice bez anhedonije. Kod ispitanica je socijalna anhedonija izraženija kod

nositeljica A alela nego C alela, ali su nositeljice A alela imale manje depresivnih simptoma od nositeljica C alela. Postoji spolna razlika u povezanosti polimorfizma MAO-B rs6651806 s negativnim simptomima, te su muški ispitanici sa shizofrenijom nositelji A alela imali izraženije negativne simptome nego nositelji C alela.

6. Haplotip COMT rs4818-rs4680 je kod ispitanica povezan s određenim negativnim simptomima, te nositeljice GG haplotipa imaju izraženije negativne simptome i anhedoniju mjerenu BNSS ljestvicom nego nositeljice drugih genotipova.

7. Haplotip MAO-B rs1799836-rs6651806 je kod muških ispitanika sa shizofrenijom povezan s određenim negativnim simptomima, te nositelji GC haplotipa imaju manje izražene negativne simptome nego nositelji drugih genotipova.

8. Rezultati ovog rada su potvrdili da postoji određena povezanost COMT i MAO-B genskih varijanti s anhedonijom i negativnim simptomima kod bolesnika sa shizofrenijom. Shizofrenija je heterogena i poligenska bolest, pa su u etiologiju nastanka simptoma osim gena dopaminskog sustava, uključeni i drugi neurotransmitorski sustavi koji nisu bili obuhvaćeni ovim istraživanjem.

8. KRATKI SADRŽAJ

Cilj ovog istraživanja je bio istražiti povezanost polimorfizama za katehol-O-metil transferazu (COMT) rs4680 i rs4818 i monoaminooksidazu tipa B (MAO-B) rs1799836 i rs6651806 s anhedonijom i drugim negativnim simptomima kod bolesnika sa shizofrenijom.

Presječno istraživanje obuhvatilo je 302 bolesnika (58.9% muških, medijan godina 42).

Glavni rezultati: nositeljice G alela (povezanog s većom aktivnošću COMT-a) za COMT rs4680 i rs4818 imale su izraženije negativne simptome u odnosu na ispitanice bez G alela. COMT rs4818-rs4680 haplotip G-G je kod ispitanica bio povezan s izraženijim negativnim simptomima. Muški nositelji MAO-B rs1799836 A alela imali su izraženiju alogiju prema nositeljima G alela. Ispitanice s fizičkom i socijalnom anhedonijom imale su veću frekvenciju pojavljivanja MAO-B rs6651806 A alela od ispitanica bez navedenih podtipova anhedonije, ali su nositeljice A alela imale manje depresivnih simptoma od nositeljica C alela. Muški nositelji MAO-B rs6651806 A alela imali su izraženije negativne simptome nego nositelji C alela, dok je MAO-B rs1799836-rs6651806 haplotip G-C kod muških ispitanika bio povezan s manje izraženim negativnim simptomima.

Zaključno, rezultati istraživanja pokazali su postojanje složene i spolno specifične povezanosti polimorfizama COMT i MAO-B i anhedonije te negativnih simptoma u shizofreniji, te ističu povezanost između slabog istraženog polimorfizma MAO-B rs6651806 i određenih skupina simptoma shizofrenije.

9. SUMMARY

The association between catechol-O-methyl transferase and monoamine oxidase type B gene polymorphisms and anhedonia in patients with schizophrenia
Zoran Madžarac, 2021.

The aim of the study was to investigate the association of catechol-O-methyl transferase (COMT) rs4680 and rs4818, and monoamine oxidase type B (MAO-B) rs1799836 and rs6651806 polymorphisms, with anhedonia and other negative symptoms in patients with schizophrenia.
This cross-sectional study included 302 patients (58.9% males, median age 42).
Main findings: Female carriers of the COMT rs4680 and rs4818 G-allele (related to higher COMT activity) had more severe negative symptoms, compared to females without G allele. COMT rs4818-rs4680 G-G haplotype in females was associated with more severe negative symptoms.
Male MAO-B rs1799836 A-allele carriers had more severe alogia than G-allele carriers. Females with physical and social anhedonia had higher frequency of MAO-B rs6651806 A-allele, than females without such anhedonia subtypes, but female A-allele carriers had less severe depressive symptoms than C-allele carriers. Male carriers of MAO-B rs6651806 A-allele had more prominent negative symptoms than C-allele carriers, while MAO-B rs1799836-rs6651806 G-C haplotype in males was associated with less severe negative symptoms.
Those findings implicate complex, but sex-specific associations between COMT and MAO-B polymorphisms with anhedonia and negative symptoms in schizophrenia, and highlight the relationship between poorly known MAO-B rs6651806 polymorphism and several symptom domains in schizophrenia.

Keywords: anhedonia, schizophrenia, negative symptoms, COMT, MAO-B, polymorphisms

10. POPIS LITERATURE

1. Sadock BJ, Sadock VA. Kaplan & Sadock's Synopsis of Psychiatry: Behavioral Sciences/Clinical Psychiatry. 10th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
2. 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.
3. Mueser KT, McGurk SR. Schizophrenia. Lancet. 2004;363(9426):2063–72.
4. Saha S, Chant D, McGrath J. A systematic review of mortality in schizophrenia: Is the differential mortality gap worsening over time? Arch Gen Psychiatry. 2007;64(10):1123–31.
5. Tiihonen J, Lönnqvist J, Wahlbeck K, Klaukka T, Niskanen L, Tanskanen A, et al. 11-year follow-up of mortality in patients with schizophrenia: a population-based cohort study (FIN11 study). Lancet. 2009;374(9690):620–7.
6. Bhugra D. The global prevalence of schizophrenia. PLoS Med. 2005;2(5):e151; quiz e175.
7. Folnegovic Z, Folnegovic-Smalc V, Kulcar Z. The incidence of schizophrenia in Croatia. Br J Psychiatry. 1990;156:363–5.
8. Hrabak-Žerjavić V, Radić Silobrčić M. Epidemiološki prikaz duševnih bolesti i poremećaja. Hrvatski časopis za javno zdravstvo. 2006;2(8).
9. Stevanović R, Capak K, Benjak T. Hrvatski zdravstveno-statistički ljetopis za 2018. godinu. Registar za psihoze Hrvatske. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. 2019;299–302.
10. Erlenmeyer-Kimling L, Folnegović Z, Hrabak-Žerjavić V, Borčić B, Folnegović-Šmalc V, Susser E. Schizophrenia and prenatal exposure to the 1957 A2 influenza epidemic in Croatia. Am J Psychiatry. 1994;151(10):1496–8.
11. Stahl S. Stahl's Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications. 4. izd. Cambridge: Cambridge University Press; 2013.
12. Addington J, Addington D. Cognitive functioning in first-episode schizophrenia. J Psychiatry Neurosci. 2002;27(3):188–92.
13. Norman RMG, Malla AK, McLean T, Voruganti LPN, Cortese L, McIntosh E, et al. The relationship of symptoms and level of functioning in schizophrenia to general wellbeing and the Quality of Life Scale. Acta Psychiatr Scand. 2000;102(4):303–9.
14. Kirkpatrick B, Fenton WS, Carpenter WT, Marder SR. The NIMH-MATRICS consensus statement on negative symptoms. Schizophr Bull. 2006;32(2):214–9.

15. Marder SR, Galderisi S. The current conceptualization of negative symptoms in schizophrenia. World Psychiatry. 2017;16(1):14–24.

16. Malaspina D, Walsh-Messinger J, Gaebel W, Smith LM, Gorun A, Prudent V, et al. Negative symptoms, past and present: A historical perspective and moving to DSM-5. Eur Neuropsychopharmacol. 2014;24(5):710–24.

17. Galderisi S, Mucci A, Buchanan RW, Arango C. Negative symptoms of schizophrenia: new developments and unanswered research questions. The Lancet Psychiatry. 2018;5(8):664–77.

18. Bobes J, Arango C, Garcia-Garcia M, Rejas J. Prevalence of negative symptoms in outpatients with schizophrenia spectrum disorders treated with antipsychotics in routine clinical practice: Findings from the CLAMORS study. J Clin Psychiatry. 2010;71(3):280–6.

19. Foussias G, Agid O, Fervaha G, Remington G. Negative symptoms of schizophrenia: Clinical features, relevance to real world functioning and specificity versus other CNS disorders. Eur Neuropsychopharmacol. 2014;24(5):693–709.

20. Carpenter WT, Heinrichs DW, Wagman AMI. Deficit and nondeficit forms of schizophrenia: The concept. Am J Psychiatry. 1988;145(5):578–83.

21. Andreasen NC. The Scale for the Assessment of Negative Symptoms (SANS): Conceptual and theoretical foundations. Br J Psychiatry. 1989;155(7):49–52.

22. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. Schizophr Bull. 1987;13(2):261–76.

23. Kring AM, Gur RE, Blanchard JJ, Horan WP, Reise SP. The Clinical Assessment Interview for Negative Symptoms (CAINS): Final development and validation. Am J Psychiatry. 2013;170(2):165–72.

24. Kirkpatrick B, Strauss GP, Nguyen L, Fischer BA, Daniel DG, Cienfuegos A, et al. The brief negative symptom scale: Psychometric properties. Schizophr Bull. 2011;37(2):300–5.

25. Kring AM, Moran EK. Emotional response deficits in schizophrenia: insights from affective science. Schizophr Bull. 2008;34(5):819–34.

26. Trémeau F. A review of emotion deficits in schizophrenia. Dialogues Clin Neurosci. 2006;8(1):59–70.

27. Kupper Z, Ramseyer F, Hoffmann H, Kalbermatten S, Tschacher W. Video-based quantification of body movement during social interaction indicates the severity of negative symptoms in patients with schizophrenia. Schizophr Res. 2010;121(1–3):90–100.

28. Gur RE, Kohler CG, Ragland JD, Siegel SJ, Lesko K, Bilker WB, et al. Flat affect in schizophrenia: relation to emotion processing and neurocognitive measures. Schizophr Bull. 2006;32(2):279–87.

29. Cohen AS, McGovern JE, Dinzeo TJ, Covington MA. Speech deficits in serious mental illness: a cognitive resource issue? Schizophr Res. 2014;160(1–3):173–9.

30. Galderisi S, Rossi A, Rocca P, Bertolino A, Mucci A, Bucci P, et al. The influence of illness-related variables, personal resources and context-related factors on real-life functioning of people with schizophrenia. World Psychiatry. 2014;13(3):275–87.

31. Sanfilipo M, Lafargue T, Rusinek H, Arena L, Loneragan C, Lautin A, et al. Volumetric measure of the frontal and temporal lobe regions in schizophrenia: Relationship to negative symptoms. Arch Gen Psychiatry. 2000;57(5):471–80.

32. Millan MJ, Fone K, Steckler T, Horan WP. Negative symptoms of schizophrenia: Clinical characteristics, pathophysiological substrates, experimental models and prospects for improved treatment. Eur Neuropsychopharmacol. 2014;24(5):645–92.

33. Prikryl R, Ustohal L, Prikrylova Kucerova H, Kasparek T, Venclikova S, Vrzalova M, et al. A detailed analysis of the effect of repetitive transcranial magnetic stimulation on negative symptoms of schizophrenia: A double-blind trial. Schizophr Res. 2013;149(1–3):167–73.

34. Craske MG, Meuret AE, Ritz T, Treanor M, Dour HJ. Treatment for Anhedonia: A Neuroscience Driven Approach. Depress Anxiety. 2016;33(10):927–38.

35. Šagud M, Šimunović Filipčić I, Jakšić N, Šimunić L, Jezernik D, Tudor L, et al. Anhedonia in Schizophrenia: Mini-Review. Psychiatr Danub. 2019;31:143–7.

36. Zhang B, Lin P, Shi H, Öngür D, Auerbach RP, Wang X, et al. Mapping anhedonia-specific dysfunction in a transdiagnostic approach: an ALE meta-analysis. Brain Imaging Behav. 2016;10(3):920–39.

37. Blanchard JL, Horan WP, Brown SA. Diagnostic differences in social anhedonia: A longitudinal study of schizophrenia and major depressive disorder. J Abnorm Psychol. 2001;110(3):363–71.

38. Chapman LJ, Chapman JP, Raulin ML. Scales for physical and social anhedonia. J Abnorm Psychol. 1976;85(4):374–82.

39. Kollias CT, Kontaxakis VP, Havaki-Kontaxaki BJ, Stamouli S, Margariti M, Petridou E. Association of physical and social anhedonia with depression in the acute phase of schizophrenia. Psychopathology. 2008;41(6):365–70.

40. Fortunati R, Ossola P, Camerlengo A, Bettini E, De Panfilis C, Tonna M, et al. Anhedonia

in schizophrenia: The role of subjective experiences. Compr Psychiatry. 2015;62:152–60.

41. Barkus E, Badcock JC. A Transdiagnostic Perspective on Social Anhedonia. Front psychiatry. 2019;10:216.

42. Horan WP, Kring AM, Blanchard JJ. Anhedonia in schizophrenia: A review of assessment strategies. Schizophr Bull. 2006;32(2):259–73.

43. Clementz BA, Grove WM, Katsanis J, Iacono WG. Psychometric Detection of Schizotypy: Perceptual Aberration and Physical Anhedonia in Relatives of Schizophrenics. J Abnorm Psychol. 1991;100(4):607–12.

44. Harrow M, Grinker RR, Holzman PS, Kayton L. Anhedonia and schizophrenia. Am J Psychiatry. 1977;134(7):794–7.

45. Jhung K, Park JY, Song YY, Kang JI, Lee E, An SK. Experiential pleasure deficits in the prodrome: A study of emotional experiences in individuals at ultra-high risk for psychosis and recent-onset schizophrenia. Compr Psychiatry. 2016;68:209–16.

46. an der Heiden W, Leber A, Häfner H. Negative symptoms and their association with depressive symptoms in the long-term course of schizophrenia. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2016;266(5):387–96.

47. Gard DE, Kring AM, Gard MG, Horan WP, Green MF. Anhedonia in schizophrenia: Distinctions between anticipatory and consummatory pleasure. Schizophr Res. 2007;93(1–3):253–60.

48. Wu H, Mata J, Thompson RJ, Furman DJ, Whitmer AJ, Gotlib IH. Anticipatory and consummatory pleasure and displeasure in major depressive disorder: An experience sampling study. J Abnorm Psychol. 2017;126(2):149–59.

49. Kring AM, Barch DM. The motivation and pleasure dimension of negative symptoms: neural substrates and behavioral outputs. Eur Neuropsychopharmacol. 2014;24(5):725–36.

50. Frost KH, Strauss GP. A Review of Anticipatory Pleasure in Schizophrenia. Curr Behav Neurosci reports. 2016;3(3):232–47.

51. Schacter DL, Addis DR, Buckner RL. Remembering the past to imagine the future: the prospective brain. Nat Rev Neurosci. 2007;8(9):657–61.

52. Hallford DJ, Sharma MK. Anticipatory pleasure for future experiences in schizophrenia spectrum disorders and major depression: A systematic review and meta-analysis. Br J Clin Psychol. 2019;58(4):357–83.

53. Lambert C, Da Silva S, Ceniti AK, Rizvi SJ, Foussias G, Kennedy SH. Anhedonia in depression and schizophrenia: A transdiagnostic challenge. CNS Neurosci Ther.

2018;24(7):615–23.

54. Visser KF, Chapman HC, Ruiz I, Raugh IM, Strauss GP. A meta-analysis of self-reported anticipatory and consummatory pleasure in the schizophrenia-spectrum. J Psychiatr Res. 2020;121:68–81.

55. Ducasse D, Loas G, Dassa D, Gramaglia C, Zeppegno P, Guillaume S, et al. Anhedonia is associated with suicidal ideation independently of depression: A meta-analysis. Depress Anxiety. 2018;35(5):382–92.

56. Loas G, Azi A, Noisette C, Legrand A, Yon V. Fourteen-year prospective follow-up study of positive and negative symptoms in chronic schizophrenic patients dying from suicide compared to other causes of death. Psychopathology. 2009;42(3):185–9.

57. Bonanni L, Gualtieri F, Lester D, Falcone G, Nardella A, Fiorillo A, et al. Can Anhedonia Be Considered a Suicide Risk Factor? A Review of the Literature. Medicina (Kaunas). 2019;55(8).

58. Herbener ES, Harrow M, Hill SK. Change in the relationship between anhedonia and functional deficits over a 20-year period in individuals with schizophrenia. Schizophr Res. 2005;75(1):97–105.

59. Blanchard JJ, Mueser KT, Bellack AS. Anhedonia, positive and negative affect, and social functioning in schizophrenia. Schizophr Bull. 1998;24(3):413–24.

60. Thomsen KR, Whybrow PC, Kringelbach ML. Reconceptualizing anhedonia: Novel perspectives on balancing the pleasure networks in the human brain. Front Behav Neurosci. 2015;9:1–23.

61. Gold MS, Blum K, Febo M, Baron D, Modestino EJ, Elman I, et al. Molecular role of dopamine in anhedonia linked to reward deficiency syndrome (RDS) and anti- reward systems. Front Biosci (Schol Ed). 2018;10(2):309–25.

62. Demily C, Franck N. Cognitive behavioral therapy in 22q11.2 microdeletion with psychotic symptoms: What do we learn from schizophrenia? Eur J Med Genet. 2016;59(11):596–603.

63. Eisenstein SA, Bogdan R, Chen L, Moerlein SM, Black KJ, Perlmutter JS, et al. Preliminary evidence that negative symptom severity relates to multilocus genetic profile for dopamine signaling capacity and D2 receptor binding in healthy controls and in schizophrenia. J Psychiatr Res. 2017;86:9–17.

64. Lambert M, Schimmelmann BG, Karow A, Naber D. Subjective well-being and initial dysphoric reaction under antipsychotic drugs - concepts, measurement and clinical relevance. Pharmacopsychiatry. 2003;36:S181-90.

65. Ferenczi EA, Zalocusky KA, Liston C, Grosenick L, Warden MR, Amatya D, et al.

Prefrontal cortical regulation of brainwide circuit dynamics and reward-related behavior. Science. 2016;351(6268):aac9698.

66. Berger GE, Proffitt T-M, McConchie M, Kerr M, Markulev C, Yuen HP, et al. Dosing quetiapine in drug-naive first-episode psychosis: a controlled, double-blind, randomized, single-center study investigating efficacy, tolerability, and safety of 200 mg/day vs. 400 mg/day of quetiapine fumarate in 141 patients aged 15 to 25 years. J Clin Psychiatry. 2008;69(11):1702–14.

67. Liemburg E, Aleman A, Bous J, Hollander K, Knegtering H. An open randomized pilot trial on the differential effects of aripiprazole versus risperidone on anhedonia and subjective well-being. Pharmacopsychiatry. 2011;44(3):109–13.

68. Pelizza L, Ferrari A. Anhedonia in schizophrenia and major depression: State or trait? Ann Gen Psychiatry. 2009;8:22.

69. Avramopoulos D. Recent Advances in the Genetics of Schizophrenia. Mol Neuropsychiatry. 2018;4(1):35–51.

70. Giusti-Rodríguez P, Sullivan PF. The genomics of schizophrenia: update and implications. J Clin Invest. 2013;123(11):4557–63.

71. Mednick SA, Machon RA, Huttunen MO, Bonett D. Adult schizophrenia following prenatal exposure to an influenza epidemic. Arch Gen Psychiatry. 1988;45(2):189–92.

72. Brown AS, Susser ES. In utero infection and adult schizophrenia. Ment Retard Dev Disabil Res Rev. 2002;8(1):51–7.

73. Susser E, Neugebauer R, Hoek HW, Brown AS, Lin S, Labovitz D, et al. Schizophrenia after prenatal famine further evidence. Arch Gen Psychiatry. 1996;53(1):25–31.

74. Davies G, Welham J, Chant D, Torrey EF, McGrath J. A Systematic Review and Meta-analysis of Northern Hemisphere Season of Birth Studies in Schizophrenia. Schizophr Bull. 2003;29(3):587–93.

75. Eaton WW, Mortensen PB, Frydenberg M. Obstetric factors, urbanization and psychosis. Schizophr Res. 2000;43(2–3):117–23.

76. Abrahao AL, Focaccia R, Gattaz WF. Childhood meningitis increases the risk for adult schizophrenia. World J Biol Psychiatry. 2005;6:44–8.

77. Yolken RH, Torrey EF. Are some cases of psychosis caused by microbial agents? A review of the evidence. Mol Psychiatry. 2008;13(5):470–9.

78. van Os J, Kapur S. Schizophrenia. Lancet. 2009;374(9690):635–45.

79. Arnold SE, Talbot K, Hahn C-G. Neurodevelopment, neuroplasticity, and new genes for

schizophrenia. Prog Brain Res. 2005;147:319–45.

80. Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a Complex Trait: Evidence from a Meta-analysis of Twin Studies. Arch Gen Psychiatry. 2003;60(12):1187–92.

81. Berry N, Jobanputra V, Pal H. Molecular genetics of schizophrenia: a critical review. J Psychiatry Neurosci. 2003;28(6):415–29.

82. Petronis A. The origin of schizophrenia: genetic thesis, epigenetic antithesis, and resolving synthesis. Biol Psychiatry. 2004;55(10):965–70.

83. Harrison PJ, Weinberger DR. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. Mol Psychiatry. 2005;10(1):40–68.

84. Harrison PJ, Owen MJ. Genes for schizophrenia? Recent findings and their pathophysiological implications. Lancet. 2003;361(9355):417–9.

85. da Silva Alves F, Figee M, van Amelsvoort T, Veltman D, de Haan L. The revised dopamine hypothesis of schizophrenia: evidence from pharmacological MRI studies with atypical antipsychotic medication. Psychopharmacol Bull. 2008;41(1):121–32.

86. Carlsson A. Neurocircuitries and neurotransmitter interactions in schizophrenia. Int Clin Psychopharmacol. 1995;10:21–8.

87. Perkovic MN, Erjavec GN, Strac DS, Uzun S, Kozumplik O, Pivac N. Theranostic Biomarkers for Schizophrenia. Int J Mol Sci. 2017;18(4):1–38.

88. Dunlop BW, Nemeroff CB. The role of dopamine in the pathophysiology of depression. Arch Gen Psychiatry. 2007;64(3):327–37.

89. Eriksen J, Jørgensen TN, Gether U. Regulation of dopamine transporter function by protein-protein interactions: New discoveries and methodological challenges. J Neurochem. 2010;113(1):27–41.

90. Sagud M, Mück-Seler D, Mihaljević-Peles A, Vuksan-Cusa B, Zivković M, Jakovljević M, et al. Catechol-O-methyl transferase and schizophrenia. Psychiatr Danub. 2010;22(2):270–4.

91. Missale C, Russel Nash S, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors: From structure to function. Physiol Rev. 1998;78(1):189–225.

92. Beaulieu J-M, Gainetdinov RR. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. Pharmacol Rev. 2011;63(1):182–217.

93. Shitij Kapur MD, Gary Remington MD. Serotonin and Dopamine receptor interaction for disease. Am J Psychiatry. 1996;153(4):466–76.

94. Howes O, McCutcheon R, Stone J. Glutamate and dopamine in schizophrenia: An update for the 21st century. J Psychopharmacol. 2015;29(2):97–115.

95. Thaker GK. Endophenotypic studies in schizophrenia: Promise and challenges. Schizophr Bull. 2007;33(1):1–2.

96. McGue M, Gottesman II. The genetic epidemiology of schizophrenia and the design of linkage studies. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 1991;240(3):174–81.

97. Cannon TD, Kaprio J, Lönnqvist J, Huttunen M, Koskenvuo M. The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort: A population-based modeling study. Arch Gen Psychiatry. 1998;55(1):67–74.

98. Henriksen MG, Nordgaard J, Jansson LB. Genetics of schizophrenia: Overview of methods, findings and limitations. Front Hum Neurosci. 2017;11:1–9.

99. Owen MJ. Genomic approaches to schizophrenia. Clin Ther. 2005;27:S2-7.

100. Peitl V. Neurobiološki etiološki čimbenici. In: Karlović D, Peitl V, Silić A, editors. Shizofrenije. Jastrebarsko: Naklada Slap; 2019. p. 157–72.

101. Farrell MS, Werge T, Sklar P, Owen MJ, Ophoff RA, O'donovan MC, et al. Evaluating historical candidate genes for schizophrenia. Mol Psychiatry. 2015;20(5):555–62.

102. O'Donovan MC, Craddock N, Norton N, Williams H, Peirce T, Moskvina V, et al. Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. Nat Genet. 2008;40(9):1053–5.

103. Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, Andreassen OA, Cichon S, Rujescu D, et al. Common variants conferring risk of schizophrenia. Nature. 2009;460(7256):744–7.

104. O'Donovan MC, Craddock NJ, Owen MJ. Genetics of psychosis; insights from views across the genome. Hum Genet. 2009;126(1):3–12.

105. Pletnikov M V., Ayhan Y, Nikolskaia O, Xu Y, Ovanesov M V., Huang H, et al. Inducible expression of mutant human DISC1 in mice is associated with brain and behavioral abnormalities reminiscent of schizophrenia. Mol Psychiatry. 2008;13(2):173–86.

106. Chubb JE, Bradshaw NJ, Soares DC, Porteous DJ, Millar JK. The DISC locus in psychiatric illness. Mol Psychiatry. 2008;13(1):36–64.

107. Di Forti M, Lappin JM, Murray RM. Risk factors for schizophrenia - All roads lead to dopamine. Eur Neuropsychopharmacol. 2007;17:101–7.

108. Lung FW, Shu BC, Kao WT, Chen CN, Ku YC, Tzeng DS. Association of DRD4 uVNTR and TP53 codon 72 polymorphisms with schizophrenia: A case-control study. BMC Med Genet. 2009;10:1–8.

109. Rees E, O'Donovan MC, Owen MJ. Genetics of schizophrenia. Curr Opin Behav Sci. 2015;2:8–14.

110. Ripke S, Neale BM, Corvin A, Walters JTR, Farh KH, Holmans PA, et al. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. Nature. 2014;511(7510):421–7.

111. Purcell SM, Wray NR, Stone JL, Visscher PM, O'Donovan MC, Sullivan PF, et al. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. Nature. 2009;460(7256):748–52.

112. 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.

113. Smigielski L, Jagannath V, Rössler W, Walitza S, Grünblatt E. Epigenetic mechanisms in schizophrenia and other psychotic disorders: a systematic review of empirical human findings. Mol Psychiatry. 2020;25(8):1718–48.

114. Schübeler D. Function and information content of DNA methylation. Nature. 2015;517(7534):321–6.

115. Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. Cell Res. 2011;21(3):381–95.

116. St Laurent G, Wahlestedt C, Kapranov P. The Landscape of long noncoding RNA classification. Trends Genet. 2015;31(5):239–51.

117. 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.

118. Bertocci B, Miggiano V, Da Prada M, Dembic Z, Lahm HW, Malherbe P. Human catechol-O-methyltransferase: cloning and expression of the membrane-associated form. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991;88(4):1416–20.

119. Chen J, Lipska BK, Halim N, Ma QD, Matsumoto M, Melhem S, et al. Functional analysis of genetic variation in catechol-O-methyltransferase (COMT): effects on mRNA, protein, and enzyme activity in postmortem human brain. Am J Hum Genet. 2004;75(5):807–21.

120. Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. Pharmacogenetics. 1996;6(3):243–50.

121. Simpson EH, Morud J, Winiger V, Biezonski D, Zhu JP, Bach ME, et al. Genetic variation in COMT activity impacts learning and dopamine release capacity in the striatum. Learn Mem. 2014;21(4):205–14.

122. Käenmäki M, Tammimäki A, Myöhänen T, Pakarinen K, Amberg C, Karayiorgou M, et al. Quantitative role of COMT in dopamine clearance in the prefrontal cortex of freely moving mice. J Neurochem. 2010;114(6):1745–55.

123. Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C, Ulmanen I, Melén K, Julkunen I, et al. Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. Biochemistry. 1995;34(13):4202–10.

124. Meyer-Lindenberg A, Kohn PD, Kolachana B, Kippenhan S, McInerney-Leo A, Nussbaum R, et al. Midbrain dopamine and prefrontal function in humans: Interaction and modulation by COMT genotype. Nat Neurosci. 2005;8(5):594–6.

125. Akil M, Kolachana BS, Rothmond DA, Hyde TM, Weinberger DR, Kleinman JE. Catechol-O-methyltransferase genotype and dopamine regulation in the human brain. J Neurosci. 2003;23(6):2008–13.

126. Harris SE, Wright AF, Hayward C, Starr JM, Whalley LJ, Deary IJ. The functional COMT polymorphism, Val158Met, is associated with logical memory and the personality trait intellect/imagination in a cohort of healthy 79 year olds. Neurosci Lett. 2005;385(1):1–6.

127. Nedic G, Nikolac M, Borovecki F, Hajnsek S, Muck-Seler D, Pivac N. Association study of a functional catechol-O-methyltransferase polymorphism and smoking in healthy Caucasian subjects. Neurosci Lett. 2010;473(3):216–9.

128. Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS, Callicott JH, Mazzanti CM, Straub RE, et al. Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98(12):6917–22.

129. Munafò MR, Bowes L, Clark TG, Flint J. Lack of association of the COMT (Val158/108 Met) gene and schizophrenia: a meta-analysis of case–control studies. Mol Psychiatry. 2005;10(8):765–70.

130. González-Castro TB, Hernández-Díaz Y, Juárez-Rojop IE, López-Narváez ML, Tovilla-Zárate CA, Fresan A. The Role of a Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Val158Met Genetic Polymorphism in Schizophrenia: A Systematic Review and Updated Meta-analysis on 32,816 Subjects. Neuromolecular Med. 2016;18(2):216–31.

131. Morozova A, Zorkina Y, Pavlov K, Pavlova O, Storozheva Z, Zubkov E, et al. Association of rs4680 COMT, rs6280 DRD3, and rs7322347 5HT2A With Clinical Features of Youth-Onset Schizophrenia. Front psychiatry. 2019;10:830.

132. Nikolac M, Sagud M, Nedic G, Nenadic Sviglin K, Mihaljevic Peles A, Uzun S, et al. The lack of association between catechol-O-methyl-transferase Val108/158Met polymorphism and smoking in schizophrenia and alcohol dependence. Psychiatry Res. 2013;205(1–2):179–80.

133. Docherty AR, Sponheim SR. Anhedonia as a phenotype for the Val158Met COMT polymorphism in relatives of patients with schizophrenia. J Abnorm Psychol. 2008;117(4):788–98.

134. Corral-Frías NS, Pizzagalli DA, Carré JM, Michalski LJ, Nikolova YS, Perlis RH, et al. COMT Val(158) Met genotype is associated with reward learning: a replication study and meta-analysis. Genes Brain Behav. 2016;15(5):503–13.

135. Lancaster TM, Heerey EA, Mantripragada K, Linden DEJ. Replication study implicates COMT val158met polymorphism as a modulator of probabilistic reward learning. Genes Brain Behav. 2015;14(6):486–92.

136. Wang Y, Fang Y, Shen Y, Xu Q. Analysis of association between the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene and negative symptoms in chronic schizophrenia. Psychiatry Res. 2010;179(2):147–50.

137. Pelayo-Terán JM, Crespo-Facorro B, Carrasco-Marín E, Pérez-Iglesias R, Mata I, Arranz MJ, et al. Catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphism and clinical characteristics in first episode non-affective psychosis. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2008;147B(5):550–6.

138. Peka-Wysiecka J, Wroñski M, Jasiewicz A, Grzywacz A, Tybura P, Kucharska-Mazur J, et al. BDNF rs 6265 polymorphism and COMT rs 4680 polymorphism in deficit schizophrenia in Polish sample. Pharmacol Reports. 2013;65(5):1185–93.

139. 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(6):418–26.

140. Zivkovic M, Mihaljevic-Peles A, Muck-Seler D, Sagud M, Ganoci L, Vlatkovic S, et al. The lack of association between COMT rs4680 polymorphism and symptomatic remission to olanzapine monotherapy in male schizophrenic patients: A longitudinal study. Psychiatry Res. 2019;279:389–90.

141. Pivac N, Pregelj P, Nikolac M, Zupanc T, Nedic G, Muck Seler D, et al. The association between catechol-O-methyl-transferase Val108/158Met polymorphism and suicide. Genes Brain Behav. 2011;10(5):565–9.

142. Kia-Keating BM, Glatt SJ, Tsuang MT. Meta-analyses suggest association between COMT, but not HTR1B, alleles, and suicidal behavior. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2007;144B(8):1048–53.

143. Calati R, Porcelli S, Giegling I, Hartmann AM, Möller H-J, De Ronchi D, et al. Catechol-o-methyltransferase gene modulation on suicidal behavior and personality traits: review,

meta-analysis and association study. J Psychiatr Res. 2011;45(3):309–21.

144. Nedic G, Nikolac M, Sviglin KN, Muck-Seler D, Borovecki F, Pivac N. Association study of a functional catechol-O-methyltransferase (COMT) Val108/158Met polymorphism and suicide attempts in patients with alcohol dependence. Int J Neuropsychopharmacol. 2011;14(3):377–88.

145. Nedic Erjavec G, Nenadic Sviglin K, Nikolac Perkovic M, Muck-Seler D, Jovanovic T, Pivac N. Association of gene polymorphisms encoding dopaminergic system components and platelet MAO-B activity with alcohol dependence and alcohol dependence-related phenotypes. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2014;54:321–7.

146. Jones G, Zammit S, Norton N, Hamshere ML, Jones SJ, Milham C, et al. Aggressive behaviour in patients with schizophrenia is associated with catechol-O-methyltransferase genotype. Br J Psychiatry. 2001;179:351–5.

147. Bhakta SG, Zhang J-P, Malhotra AK. The COMT Met158 allele and violence in schizophrenia: A meta-analysis HHS Public Access. Schizophr Res. 2012;140(0):192–7.

148. Caspi A, Moffitt TE, Cannon M, McClay J, Murray R, Harrington HL, et al. Moderation of the effect of adolescent-onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: Longitudinal evidence of a gene X environment interaction. Biol Psychiatry. 2005;57(10):1117–27.

149. Costas J, Sanjuán J, Ramos-Ríos R, Paz E, Agra S, Tolosa A, et al. Interaction between COMT haplotypes and cannabis in schizophrenia: a case-only study in two samples from Spain. Schizophr Res. 2011;127(1–3):22–7.

150. Taylor S. Association between COMT Val158Met and psychiatric disorders: A comprehensive meta-analysis. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2018;177(2):199–210.

151. Antypa N, Drago A, Serretti A. The role of COMT gene variants in depression: Bridging neuropsychological, behavioral and clinical phenotypes. Neurosci Biobehav Rev. 2013;37(8):1597–610.

152. Kolassa I-T, Kolassa S, Ertl V, Papassotiropoulos A, De Quervain DJ-F. The risk of posttraumatic stress disorder after trauma depends on traumatic load and the catechol-o-methyltransferase Val(158)Met polymorphism. Biol Psychiatry. 2010;67(4):304–8.

153. Roussos P, Giakoumaki SG, Pavlakis S, Bitsios P. Planning, decision-making and the COMT rs4818 polymorphism in healthy males. Neuropsychologia. 2008;46(2):757–63.

154. Nackley AG, Shabalina SA, Tchivileva IE, Satterfield K, Korchynskyi O, Makarov SS, et al. Human catechol-O-methyltransferase haplotypes modulate protein expression by

altering mRNA secondary structure. Science. 2006;314(5807):1930–3.

155. Nedic Erjavec G, Svob Strac D, Tudor L, Konjevod M, Sagud M, Pivac N. Genetic Markers in Psychiatry. In: Kim Y, editor. Frontiers in Psychiatry: Artificial Intelligence, Precision Medicine, and Other Paradigm Shifts [Internet]. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd.; 2019. p. 53–94. Available from: https://doi.org/10.1007/978-981-32-9721-0

156. Gupta M, Bhatnagar P, Grover S, Kaur H, Baghel R, Bhasin Y, et al. Association studies of catechol-O-methyltransferase (COMT) gene with schizophrenia and response to antipsychotic treatment. Pharmacogenomics. 2009;10(3):385–97.

157. Sagud M, Tudor L, Uzun S, Perkovic MN, Zivkovic M, Konjevod M, et al. Haplotypic and Genotypic Association of Catechol-O-Methyltransferase rs4680 and rs4818 Polymorphisms and Treatment Resistance in Schizophrenia. Front Pharmacol. 2018;9:705.

158. Nikolac Perkovic M, Sagud M, Zivkovic M, Uzun S, Nedic Erjavec G, Kozumplik O, et al. Catechol-O-methyltransferase rs4680 and rs4818 haplotype association with treatment response to olanzapine in patients with schizophrenia. Sci Rep. 2020;10(1):10049.

159. Li WJ, Kou CG, Yu Y, Sun S, Zhang X, Kosten TR, et al. Association of catechol-O-methyltransferase gene polymorphisms with schizophrenia and negative symptoms in a Chinese population. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2012;159B(4):370–5.

160. Kong F, Peng Z, Jiang T, Hong X. An association study of COMT gene polymorphisms with schizophrenia. Chinese J Med Genet. 2011;28(2):208–11.

161. Youdim MBH, Edmondson D, Tipton KF. The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. Nat Rev Neurosci. 2006;7(4):295–309.

162. Saura J, Bleuel Z, Ulrich J, Mendelowitsch A, Chen K, Shih JC, et al. Molecular neuroanatomy of human monoamine oxidases A and B revealed by quantitative enzyme radioautography and in situ hybridization histochemistry. Neuroscience. 1996;70(3):755–74.

163. Finberg JPM, Rabey JM. Inhibitors of MAO-A and MAO-B in Psychiatry and Neurology. Front Pharmacol. 2016;7:340.

164. Murphy DL, Wyatt RJ. Reduced monoamine oxidase activity in blood platelets from schizophrenic patients. Nature. 1972;238(5361):225–6.

165. Chen K, Wu H -F, Shih JC. The Deduced Amino Acid Sequences of Human Platelet and Frontal Cortex Monoamine Oxidase B Are Identical. J Neurochem. 1993;61(1):187–90.

166. Stalenheim EG. Long-term validity of biological markers of psychopathy and criminal recidivism: Follow-up 6-8 years after forensic psychiatric investigation. Psychiatry Res. 2004;121(3):281–91.

167. Nikolac Perkovic M, Svob Strac D, Nedic Erjavec G, Uzun S, Podobnik J, Kozumplik O, et al. Monoamine oxidase and agitation in psychiatric patients. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2016;69:131–46.

168. Amiri A, Noorbala A-A, Nejatisafa A-A, Ghoreishi A, Derakhshan M-K, Khodaie-Ardakani M-R, et al. Efficacy of selegiline add on therapy to risperidone in the treatment of the negative symptoms of schizophrenia: a double-blind randomized placebo-controlled study. Hum Psychopharmacol. 2008;23(2):79–86.

169. Moore JJ, Saadabadi A. Selegiline. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.

170. Grimsby J, Chen K, Wang LJ, Lan NC, Shih JC. Human monoamine oxidase A and B genes exhibit identical exon-intron organization. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991;88(9):3637–41.

171. Camarena B, Fresán A, Aguilar A, Escamilla R, Saracco R, Palacios J, et al. Monoamine oxidase a and B gene polymorphisms and negative and positive symptoms in schizophrenia. ISRN Psychiatry. 2012;852949.

172. Emilsson L, Pettersson U, Jazin EE, Oreland L, Balciuniene J. Investigation of the functional effect of monoamine oxidase polymorphisms in human brain. Hum Genet. 2002;110(1):1–7.

173. Costa-Mallen P, Kelada SN, Costa LG, Checkoway H. Characterization of the in vitro transcriptional activity of polymorphic alleles of the human monoamine oxidase-B gene. Neurosci Lett. 2005;383(1–2):171–5.

174. Salem AM, Ismail S, Zarouk WA, Abdul Baky O, Sayed AA, Abd El-Hamid S, et al. Genetic variants of neurotransmitter-related genes and miRNAs in Egyptian autistic patients. ScientificWorldJournal. 2013;670621.

175. Garpenstrand H, Ekblom J, Forslund K, Rylander G, Oreland L. Platelet monoamine oxidase activity is related to MAOB intron 13 genotype. J Neural Transm. 2000;107(5):523–30.

176. Pivac N, Knezevic J, Mustapic M, Dezeljin M, Muck-Seler D, Kozaric-Kovacic D, et al. The lack of association between monoamine oxidase (MAO) intron 13 polymorphism and platelet MAO-B activity among men. Life Sci. 2006;79(1):45–9.

177. Svob Strac D, Kovacic Petrovic Z, Nikolac Perkovic M, Umolac D, Nedic Erjavec G, Pivac N. Platelet monoamine oxidase type B, MAOB intron 13 and MAOA-uVNTR polymorphism and symptoms of post-traumatic stress disorder. Stress. 2016;19(4):362–73.

178. Jakubauskiene E, Janaviciute V, Peciuliene I, Söderkvist P, Kanopka A. G/A polymorphism in intronic sequence affects the processing of MAO-B gene in patients with Parkinson

disease. FEBS Lett. 2012;586(20):3698–704.

179. Gassó P, Bernardo M, Mas S, Crescenti A, Garcia C, Parellada E, et al. Association of A/G polymorphism in intron 13 of the monoamine oxidase B gene with schizophrenia in a Spanish population. Neuropsychobiology. 2008;58(2):65–70.

180. Wei Y, Li C-X, Li S, Liu Y, Hu L. Association study of monoamine oxidase A/B genes and schizophrenia in Han Chinese. Behav Brain Funct. 2011;7(1):42.

181. Osmanova DZ, Freidin MB, Fedorenko OY, Pozhidaev I V., Boiko AS, Vyalova NM, et al. A pharmacogenetic study of patients with schizophrenia from West Siberia gets insight into dopaminergic mechanisms of antipsychotic-induced hyperprolactinemia. BMC Med Genet. 2019;20.

182. Sun Y-X, Wang X-H, Xu A-H, Zhao J-H. Functional polymorphisms of the MAO gene with Parkinson disease susceptibility: a meta-analysis. J Neurol Sci. 2014;345(1–2):97–105.

183. Löhle M, Mangone G, Wolz M, Beuthien-Baumann B, Oehme L, van den Hoff J, et al. Functional monoamine oxidase B gene intron 13 polymorphism predicts putaminal dopamine turnover in de novo Parkinson's disease. Mov Disord. 2018;33(9):1496–501.

184. Dlugos AM, Palmer AA, De Wit H. Negative emotionality: Monoamine oxidase B gene variants modulate personality traits in healthy humans. J Neural Transm. 2009;116(10):1323–34.

185. Andreou D, Söderman E, Axelsson T, Sedvall GC, Terenius L, Agartz I, et al. Polymorphisms in genes implicated in dopamine, serotonin and noradrenalin metabolism suggest association with cerebrospinal fluid monoamine metabolite concentrations in psychosis. Behav Brain Funct. 2014;10(1):26.

186. Mas S, Bernardo M, Parellada E, Garcia-Rizo C, Gassó P, Alvarez S, et al. ARVCF single marker and haplotypic association with schizophrenia. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2009;33(6):1064–9.

187. McGregor NW, Hemmings SMJ, Erdman L, Calmarza-Font I, Stein DJ, Lochner C. Modification of the association between early adversity and obsessive-compulsive disorder by polymorphisms in the MAOA, MAOB and COMT genes. Psychiatry Res. 2016;246:527–32.

188. Leucht S, Samara M, Heres S, Patel MX, Woods SW, Davis JM. Dose equivalents for second-generation antipsychotics: The minimum effective dose method. Schizophr Bull. 2014;40(2):314–26.

189. Addington D, Addington J, Maticka-Tyndale E. Assessing depression in schizophrenia: the Calgary Depression Scale. Br J Psychiatry Suppl. 1993;163(22):39–44.

190. Endicott J. The Global Assessment Scale. Arch Gen Psychiatry. 1976;33(6):766.

191. 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.

192. Rodriguez S, Gaunt TR, Day INM. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. Am J Epidemiol. 2009;169(4):505–14.

193. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: Analysis and visualization of LD and haplotype maps. Bioinformatics. 2005;21(2):263–5.

194. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, et al. PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. Am J Hum Genet. 2007;81(3):559–75.

195. Haro JM, Novick D, Bertsch J, Karagianis J, Dossenbach M, Jones PB. Cross-national clinical and functional remission rates: Worldwide Schizophrenia Outpatient Health Outcomes (W-SOHO) study. Br J Psychiatry. 2011;199(3):194–201.

196. Bardenstein KK, McGlashan TH. Gender differences in affective, schizoaffective, and schizophrenic disorders. A review. Schizophr Res. 1990;3(3):159–72.

197. Thomas P, Wood J, Chandra A, Nimgaonkar VL, Deshpande SN. Differences among men and women with schizophrenia: A study of US and Indian samples. Psychiatry Investig. 2010;7(1):9–16.

198. Nedic Erjavec G, Uzun S, Nikolac Perkovic M, Kozumplik O, Svob Strac D, Mimica N, et al. Cortisol in schizophrenia: No association with tobacco smoking, clinical symptoms or antipsychotic medication. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2017;77:228–35.

199. Konjevod M, Nikolac Perkovic M, Svob Strac D, Uzun S, Nedic Erjavec G, Kozumplik O, et al. Significant association of mu-opioid receptor 1 haplotype with tobacco smoking in healthy control subjects but not in patients with schizophrenia and alcohol dependence. Psychiatry Res. 2020;291:113278.

200. De Leon J, Diaz FJ. A meta-analysis of worldwide studies demonstrates an association between schizophrenia and tobacco smoking behaviors. Schizophr Res. 2005;76(2–3):135–57.

201. Sagud M, Mihaljevic Peles A, Pivac N. Smoking in schizophrenia: Recent findings about an old problem. Curr Opin Psychiatry. 2019;32(5):402–8.

202. DeQuardo JR, Carpenter CF, Tandon R. Patterns of substance abuse in Schizophrenia: Nature and significance. J Psychiatr Res. 1994;28(3):267–75.

203. Leung A, Chue P. Sex differences in schizophrenia, a review of the literature. Acta Psychiatr

Scand Suppl. 2000;401:3–38.

204. Shtasel DL, Gur RE, Gallacher F, Heimberg C, Gur RC. Gender differences in the clinical expression of schizophrenia. Schizophr Res. 1992;7(3):225–31.

205. Cowell PE, Kostianovsky DJ, Gur RC, Turetsky BI, Gur RE. Sex differences in neuroanatomical and clinical correlations in schizophrenia. Am J Psychiatry. 1996;153(6):799–805.

206. Galderisi S, Bucci P, Üçok A, Peuskens J. No gender differences in social outcome in patients suffering from schizophrenia. Eur Psychiatry. 2012;27(6):406–8.

207. Morgan VA, Castle DJ, Jablensky A V. Do women express and experience psychosis differently from men? Epidemiological evidence from the Australian National Study of Low Prevalence (Psychotic) Disorders. Aust N Z J Psychiatry. 2008;42(1):74–82.

208. Lindström E, von Knorring L. Symptoms in schizophrenic syndromes in relation to age, sex, duration of illness and number of previous hospitalizations. Acta Psychiatr Scand. 1994;89(4):274–8.

209. Hayashi N, Igarashi Y, Yamashina M, Suda K. Is there a gender difference in a factorial structure of the positive and negative syndrome scale? A test by structural equation modeling. Psychopathology. 2002;35(1):28–35.

210. Andia AM, Zisook S, Heaton RK, Hesselink J, Jernigan T, Kuck J, et al. Gender differences in schizophrenia. J Nerv Ment Dis. 1995;183(8):522–8.

211. Seeman M V. Current outcome in schizophrenia: women vs men. Acta Psychiatr Scand. 1986;73(6):609–17.

212. Pinals DA, Malhotra AK, Missar CD, Pickar D, Breier A. Lack of gender differences in neuroleptic response in patients with schizophrenia. Schizophr Res. 1996;22(3):215–22.

213. Magharious W, Goff DC, Amico E. Relationship of gender and menstrual status to symptoms and medication side effects in patients with schizophrenia. Psychiatry Res. 1998;77(3):159–66.

214. Pompili M, Amador XF, Girardi P, Harkavy-Friedman J, Harrow M, Kaplan K, et al. Suicide risk in schizophrenia: Learning from the past to change the future. Ann Gen Psychiatry. 2007;6:1–22.

215. Schürhoff F, Szöke A, Bellivier F, Turcas C, Villemur M, Tignol J, et al. Anhedonia in schizophrenia: A distinct familial subtype? Schizophr Res. 2003;61(1):59–66.

216. Grubišin J. Značenje anhedonije i poremećaja emocionalne percepcije za opće funkcioniranje u shizofreniji [disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski

fakultet; 2011.

217. Baslet G, Termini L, Herbener E. Deficits in emotional awareness in schizophrenia and their relationship with other measures of functioning. J Nerv Ment Dis. 2009;197(9):655–60.

218. Cieslak K, Walsh-Messinger J, Stanford A, Vaez-Azizi L, Antonius D, Harkavy-Friedman J, et al. Olfactory performance segregates effects of anhedonia and anxiety on social function in patients with schizophrenia. J Psychiatry Neurosci. 2015;40(6):387–93.

219. Schuck JR, Leventhal D, Rothstein H, Irizarry V. Physical anhedonia and schizophrenia. J Abnorm Psychol. 1984;93(3):342–4.

220. Liuhanen J, Suvisaari J, Kajantie E, Miettunen J, Sarin A-P, Järvelin M-R, et al. Interaction between compound genetic risk for schizophrenia and high birth weight contributes to social anhedonia and schizophrenia in women. Psychiatry Res. 2018;259:148–53.

221. Sagud M, Mihaljević-Peles A, Mück-Seler D, Pivac N, Vuksan-Cusa B, Brataljenović T, et al. Smoking and schizophrenia. Psychiatr Danub. 2009;21(3):371–5.

222. Scott DJ, Domino EF, Heitzeg MM, Koeppe RA, Ni L, Guthrie S, et al. Smoking modulation of mu-opioid and dopamine D2 receptor-mediated neurotransmission in humans. Neuropsychopharmacology. 2007;32(2):450–7.

223. Ahnallen CG, Liverant GI, Gregor KL, Kamholz BW, Levitt JJ, Gulliver SB, et al. The relationship between reward-based learning and nicotine dependence in smokers with schizophrenia. Psychiatry Res. 2012;196(1):9–14.

224. Berridge KC. The debate over dopamine's role in reward: the case for incentive salience. Psychopharmacology (Berl). 2007;191(3):391–431.

225. Tunbridge EM, Narajos M, Harrison CH, Beresford C, Cipriani A, Harrison PJ. Which Dopamine Polymorphisms Are Functional? Systematic Review and Meta-analysis of COMT, DAT, DBH, DDC, DRD1-5, MAOA, MAOB, TH, VMAT1, and VMAT2. Biol Psychiatry. 2019;86(8):608–20.

226. Peitl V, Štefanović M, Karlović D. Depressive symptoms in schizophrenia and dopamine and serotonin gene polymorphisms. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2017;77:209–15.

227. Bollettini I, Spangaro M, Poletti S, Lorenzi C, Pirovano A, Vai B, et al. Sexually divergent effect of COMT Val/met genotype on subcortical volumes in schizophrenia. Brain Imaging Behav. 2018;12(3):829–36.

228. Dempster EL, Mill J, Craig IW, Collier DA. The quantification of COMT mRNA in post mortem cerebellum tissue: Diagnosis, genotype, methylation and expression. BMC Med Genet. 2006;7:1–7.

229. Kritzer MF, Creutz LM. Region and sex differences in constituent dopamine neurons and immunoreactivity for intracellular estrogen and androgen receptors in mesocortical projections in rats. J Neurosci. 2008;28(38):9525–35.

230. Startup M, Jackson MC, Bendix S. The concurrent validity of the Global Assessment of Functioning (GAF). Br J Clin Psychol. 2002;41(4):417–22.

231. Samara MT, Engel RR, Millier A, Kandenwein J, Toumi M, Leucht S. Equipercentile linking of scales measuring functioning and symptoms: examining the GAF, SOFAS, CGI-S, and PANSS. Eur Neuropsychopharmacol. 2014;24(11):1767–72.

232. Chen C-Y, Yeh Y-W, Kuo S-C, Ho P-S, Liang C-S, Yen C-H, et al. Catechol-O-methyltransferase gene variants may associate with negative symptom response and plasma concentrations of prolactin in schizophrenia after amisulpride treatment. Psychoneuroendocrinology. 2016;65(325):67–75.

233. Sun Z, Zhang Z, Mao P, Ma Y, Li W, Li J, et al. Association between COMT gene polymorphisms, clinical symptoms, and cognitive functions in Han Chinese patients with schizophrenia. Psychiatr Genet. 2018;28(3):47–54.

234. Gard DE, Gard MG, Kring AM, John OP. Anticipatory and consummatory components of the experience of pleasure: A scale development study. J Res Pers. 2006;40(6):1086–102.

235. Martin EA, Becker TM, Cicero DC, Docherty AR, Kerns JG. Differential associations between schizotypy facets and emotion traits. Psychiatry Res. 2011;187(1–2):94–9.

236. Ritsner MS, Ratner Y, Mendyk N, Gooding DC. The characterization of social anhedonia and its correlates in schizophrenia and schizoaffective patients. Psychiatry Res. 2018;270:922–8.

237. Clarke HF, Cardinal RN, Rygula R, Hong YT, Fryer TD, Sawiak SJ, et al. Orbitofrontal dopamine depletion upregulates caudate dopamine and alters behavior via changes in reinforcement sensitivity. J Neurosci. 2014;34(22):7663–76.

238. Miyake N, Thompson J, Skinbjerg M, Abi-Dargham A. Presynaptic Dopamine in Schizophrenia. CNS Neurosci Ther. 2011;17(2):104–9.

239. Avram M, Brandl F, Cabello J, Leucht C, Scherr M, Mustafa M, et al. Reduced striatal dopamine synthesis capacity in patients with schizophrenia during remission of positive symptoms. Brain. 2019;142(6):1813–26.

240. Kelada SN, Costa-Mallen P, Costa LG, Smith-Weller T, Franklin GM, Swanson PD, et al. Gender difference in the interaction of smoking and monoamine oxidase B intron 13 genotype in Parkinson’s disease. Neurotoxicology. 2002;23(4–5):515–9.

241. Horjales-Araujo E, Demontis D, Lund EK, Finnerup NB, Børglum AD, Jensen TS, et al.

Polymorphism in serotonin receptor 3B is associated with pain catastrophizing. PLoS One. 2013;8(11):e78889.

242. Shih JC, Chen K, Ridd MJ. Monoamine oxidase: from genes to behavior. Annu Rev Neurosci. 1999;22(1):197–217.

243. Ramsay RR. Molecular aspects of monoamine oxidase B. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2016;69:81–9.

244. Lamontagne SJ, Melendez SI, Olmstead MC. Investigating dopamine and glucocorticoid systems as underlying mechanisms of anhedonia. Psychopharmacology (Berl). 2018;235(11):3103–13

245. Buck KD, McLeod HJ, Gumley A, Dimaggio G, Buck BE, Minor KS, et al. Anhedonia in prolonged schizophrenia spectrum patients with relatively lower vs. higher levels of depression disorders: associations with deficits in social cognition and metacognition. Conscious Cogn. 2014;29(1):68–75.

11. KRATKA BIOGRAFIJA

Zoran Madžarac rođen je 22. travnja 1980. godine u Zagrebu. Po završetku osnovne škole i gimnazije, 1998. godine upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, na kojem je diplomirao 2004. godine. Po završetku studija, iste godine upisuje poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo na Medicinskom fakultetu, Sveučilišta u Zagrebu. Od 2006. do 2007. godine radio je kao znanstveni novak i liječnik u Sveučilišnoj klinici „Vuk Vrhovac". Od 2007. godine je zaposlen u Klinici za psihijatriju, KBC-a Zagreb, prvo kao specijalizant psihijatrije, a nakon polaganja specijalističkog ispita 2011. godine, kao specijalist psihijatrije. 2016. godine je završio užu specijalizaciju iz biologijske psihijatrije.

Član je Hrvatskog psihijatrijskog društva, Hrvatskog društva za afektivne poremećaje i Europske psihijatrijske asocijacije. Suradnik je na više hrvatskih i međunarodnih projekata.