

Povezanost polimorfizma Val 108/158Met katehol-ometil transferaze i kliničkih simptoma posttraumatskog stresnog poremećaja

Medaković, Nikolina

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:714505>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-04**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Nikolina Medaković

**Povezanost polimorfizma Val^{108/158}Met katehol-o-metil
transferaze i kliničkih simptoma posttraumatskog
stresnog poremećaja**

Diplomski rad

Zagreb, 2020.

Ovaj rad je izrađen u Laboratoriju za molekularnu neuropsihijatriju, na Zavodu za molekularnu medicinu, Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu, pod vodstvom dr. sc. Gordane Nedić Erjavec, znanstvene suradnice. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistre molekularne biologije.

ZAHVALE

Ponajprije, veliko hvala mojoj mentorici, dr. sc. Gordani Nedić Erjavec, na stručnom vodstvu, korisnim savjetima i strpljenju tijekom izrade ovog diplomskog rada. Također, hvala izv. prof. dr. sc. Maji Matulić.

Posebnu zahvalu iskazujem svojoj obitelji i prijateljima na vječitj potpori i razumijevanju.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Diplomski rad

Povezanost polimorfizma Val^{108/158}Met katehol-o-metil transferaze i kliničkih simptoma posttraumatskog stresnog poremećaja

Nikolina Medaković
Roosveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

SAŽETAK

Posttraumatski stresni poremećaj (PTSP) je stresom izazvan poremećaj koji se razvija nakon izlaganja traumatskom događaju. Patofiziologija PTSP-a uključuje poremećaje dopaminergičke funkcije. Funkcionalni polimorfizam rs4680 (Val^{108/158}Met) katehol-o-metil transferaze (COMT) je zbog utjecaja na aktivnost samog enzima, važan za regulaciju degradacije dopamina, posebice u prefrontalnom korteksu. Oblik enzima s valinom se povezuje s njegovom povećanom aktivnošću. Cilj ovog diplomskog rada bilo je ispitati povezanost genotipa obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i težine simptoma PTSP-a procijenjenih kliničkom ljestvicom pozitivnih i negativnih simptoma (PANSS). Studija je uključila 573 muškarca oboljelih od PTSP-a izazavnog ratnim iskustvom kod kojih je težina simptoma prema PANSS-u ovisila o tome jesu li pušači. Istraživanje je pokazalo značajnu povezanost genotipa Met/Met s manjim brojem bodova ostvarenih na PANSS podljestvicama za kogniciju, psihotične simptome i agitaciju kod nepušača te s većim brojem bodova ostvarenih na općoj psihopatološkoj ljestvici kod pušača. Zaključno, polimorfizam rs4680 gena *COMT* je povezan s težinom pojedinih simptoma procijenjenih prema PANSS-u.

(64 stranice, 19 slika, 12 tablica, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Ključne riječi: posttraumatski stresni poremećaj, katehol-o-metil transferaza, rs4680, polimorfizam, ljestvica pozitivnih i negativnih simptoma

Voditelj: Dr. sc. Gordana Nedić Erjavec, znanstveni suradnik, IRB

Suvoditelj: Dr. sc. Maja Matulić, izv. prof., PMF

Ocjenitelji: Dr. sc. Maja Matulić, izv. prof., PMF

Dr. sc. Nada Oršolić, prof., PMF

Dr. sc. Martina Šeruga Musić, izv. prof., PMF

Rad prihvaćen: 7. 1. 2020.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Graduation Thesis

Association of catechol-o-methyltransferase Val^{108/158}Met polymorphism and clinical symptoms of posttraumatic stress disorder

Nikolina Medaković
Roosveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

ABSTRACT

Posttraumatic Stress Disorder (PTSD) is a stress-related disorder caused by an exposure to a traumatic event. Pathophysiology of PTSD involves dysfunctions in dopaminergic system. A functional polymorphism rs4680 (Val^{108/158}Met) of catechol-o-methyltransferase (COMT), due to its effect on the activity of the enzyme, plays an important role in dopamine degradation, especially in prefrontal cortex. The valine variant is associated with increased enzymatic activity. The aim of this thesis was to examine the association of COMT rs4680 genotypes and severity of PTSD symptoms according to positive and negative syndrome scale (PANSS). The study included 573 men with combat related PTSD, whose symptoms' severity according to the PANSS was related to their smoking status. Results indicated a significant association of Met/Met genotype with lower scores on PANSS cognitive, psychosis and excitement subscales in nonsmokers and with higher scores on general psychopathology scale in smokers. In conclusion, the COMT rs4680 polymorphism contributes to the severity of individual PTSD symptoms assessed using the PANSS.

(64 pages, 19 figures, 12 tables, original language: Croatian)

Thesis deposited in the Central Biological Library

Key words: posttraumatic stress disorder, catechol-o-methyltransferase, rs4680, polymorphism, positive and negative syndrome scale

Supervisor: Dr. Gordana Nedić Erjavec, Research Assoc., IRB

Co-supervisor: Dr. Maja Matulić, Assoc. Prof., PMF

Reviewers: Dr. Maja Matulić, Assoc. Prof., PMF

Dr. Nada Oršolić, Prof., PMF

Dr. Martina Šeruga Musić, Assoc. Prof., PMF

Thesis accepted: 7. 1. 2020.

KRATICE

3-MT – 3-metoksitiramin

A - adenin

AADC - dekarboksilaza aromatskih L-aminokiselina

ACD – antikoagulans acid-citrat-dekstroza

cAMP – ciklički adenzin monofosfat

COMT – katehol-o-metil transferaza

DAT – dopaminski transporter

DLPFC – dorzolateralni prefrontalni korteks

DOPAC – 3,4-dihidroksifeniloctena kiselina

DSM-5 – Dijagnostički i statistički priručnik za mentalne poremećaje, 5.izdanje

EDTA – etilendiamintetraoctena kiselina

G – gvanin

GABA – gama-aminomaslačna kiselina

GPCR – receptori povezani s G proteinima

HPA – os hipotalamus-hipofiza-nabubrežna žlijezda

HVA – homovanilična kiselina

HWE- Hardy-Weinbergova ravnoteža

LC-NE – sustav locus coeruleus-norepinefrin

L-DOPA – L-3,4-dihidroksifenilalanin

MAO – monoaminooksidaza

MB-COMT – COMT vezan za membranu

Met – metionin

NFQ- utišivač fluorescencije

OAS - ljestica otvorene agresije

PANSS – ljestvica pozitivnih i negativnih simptoma

PANSScog – podljestvica PANSS za kogniciju

PANSSdep – podljestvica PANSS za depresiju

PANSSexc – podljestvica PANSS za ekscitaciju

PANSSgen – opća psihopatološka ljestvica

PANSSneg – negativna ljestvica

PANSSpos – pozitivna ljestvica

PANSSpsy – podljestvica PANSS za psihotičnost

PANSS_{tot} – ukupan broj PANSS bodova
PCR – lančana reakcija polimerazom
PFC - prefrontalni korteks
PTSP – posttraumatski stresni poremećaj
SAH - S-adenozilhomocistein
SAM - S-adenozil-L-metionina
SANS - ljestvica za procjenu negativnih simptoma
SAPS -ljestvica za procjenu pozitivnih simptoma
SCID – strukturirani klinički intervju
S-COMT – topivi citosolni oblik proteina COMT
SDS – natrijev dodecil sulfat
S_{Nc} – supstancija nigra pars kompakta
SNP – polimorfizam jedne baze
TH – tirozin hidroksilaza
TNF α – čimbenik nekroze tumora alfa
Val – valin
VMAT2 – vezikularni monoaminski transporter 2
VM_{PFC} – ventromedijalni prefrontalni korteks
VTA – ventralno tegmentalno područje
x²- HI-kvadrat test

SADRŽAJ

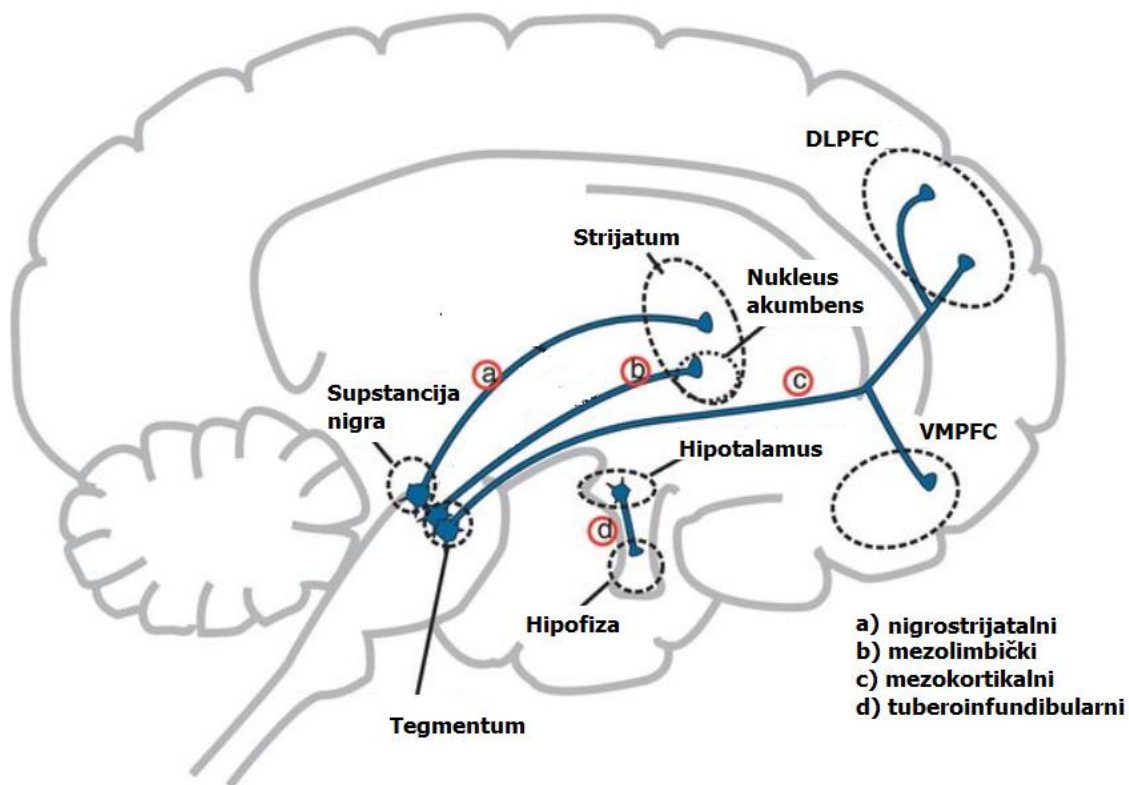
1. Uvod.....	1
1.1. Dopaminergički sustav.....	1
1.2. Katehol-o-metil transferaza	5
1.2.1. Izoforme enzima COMT.....	6
1.2.2. Gen <i>COMT</i>	8
1.2.3. Polimorfizam rs4680 gena <i>COMT</i>	9
1.3. Posttraumatski stresni poremećaj.....	11
1.3.1. Etiologija.....	12
1.3.2. Klinička slika	13
1.3.3. Neurobiologija	14
1.4. Dopamin, COMT i PTSP.....	15
2. Cilj istraživanja	18
3. Materijali i metode.....	19
3.1. Ispitanici.....	19
3.2. Izolacija DNA metodom izoljavanja.....	21
3.3. Genotipizacija obzirom na polimorfizam rs4680 gena <i>COMT</i>	23
3.4. Statistička obrada podataka.....	26
4. Rezultati	27
4.1. Pušenje i ostvaren broj PANSS bodova.....	27
4.2. Povezanost polimorfizma rs4680 gena <i>COMT</i> i ostvarenih PANSS bodova	28
4.2.1. Povezanost polimorfizma rs4680 gena <i>COMT</i> i ostvarenih PANSS bodova kod pušača.....	29
4.2.2. Povezanost polimorfizma rs4680 i ostvarenih PANSS bodova kod nepušača	33
5. Rasprava.....	41
6. Zaključak.....	46
7. Literatura.....	47
8. Životopis	64

1. Uvod

1.1. Dopaminergički sustav

Dopamin je endogeni kateholamin koji vrši širok spektar funkcija u živčanom tkivu (kao neurotransmitter), ali i izvan njega (kao hormon) (Drožak i Bryła, 2005). Molekula dopamina, ili 4-(2-aminoetil)benzen-1,2-diola (prema *IUPAC*-u), građena je od kateholne jezgre (benzenski prsten s dvije hidroksilne skupine) i etilaminskog bočnog lanca (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/dopamine>). Može se sintetizirati direktno iz tirozina ili indirektnim putem iz fenilalanina u dopaminergičkim neuronima, ali i u perifernim tkivima (Klein i sur., 2018). U centralnom živčanom sustavu dopamin kontrolira motivaciju, kogniciju, formiranje prostorne memorije, regulaciju sna, afekt, pažnju, procesiranje boli, hranjenje, njuh, hormonsku regulaciju i ponašanje. Na periferiji sudjeluje u neuromodulaciji imunološkog, kardiovaskularnog, gastrointestinalnog te bubrežnog sustava (Klein i sur., 2018).

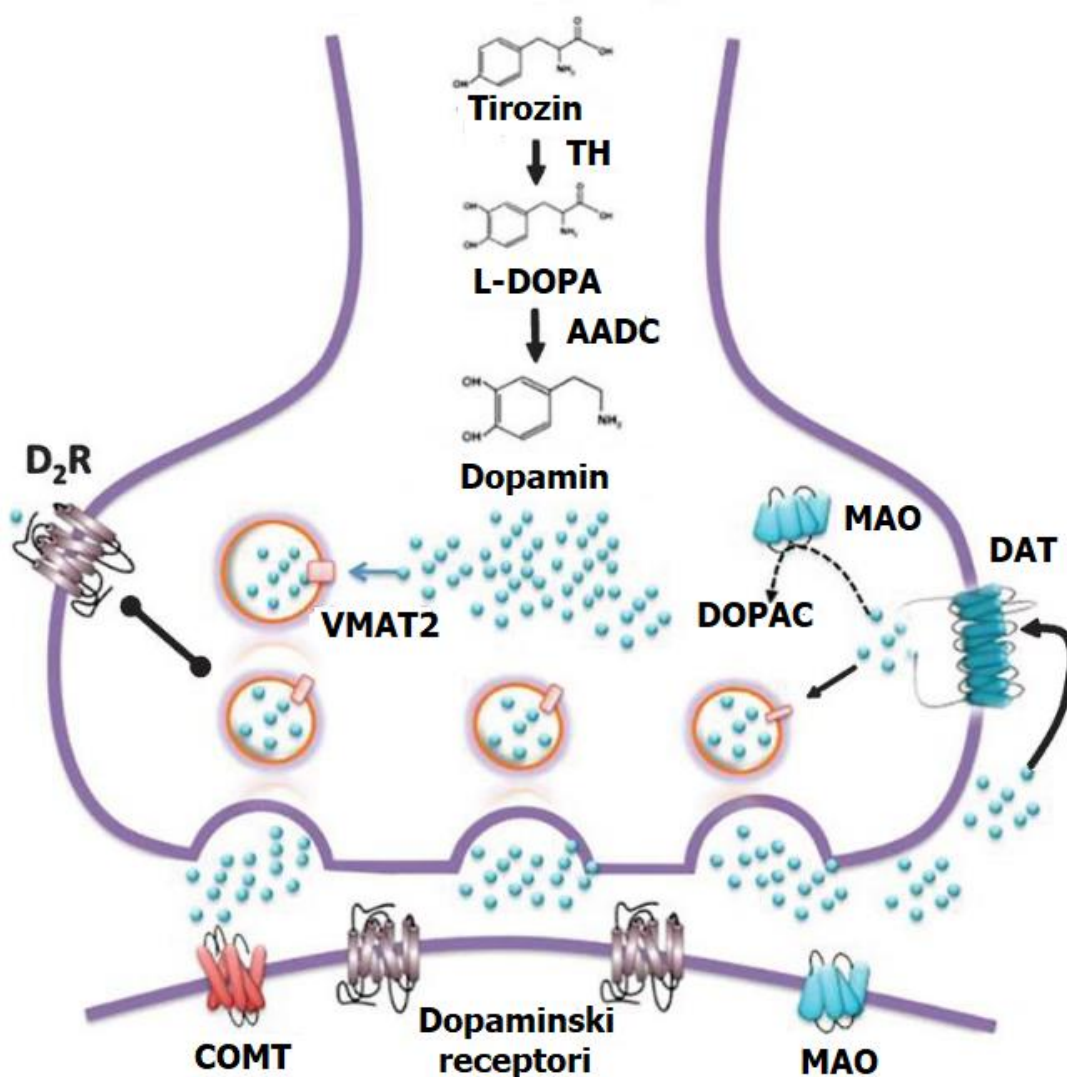
U području mezencefalona, diencefalona i njušnih lukovica mozga nalaze se stanične nakupine dopaminergičkih neurona (A8-A16). U ventralnom području mezencefalona lokalizirane su dvije najveće skupine: A9 u području supstancije nigre i A10 u ventralnom tegmentalnom području (VTA) (Björklund i Dunnett, 2007). Četiri glavna sustava projekcija dopaminergičkih aksona u mozgu su: nigrostrijatalni, mezolimbčki, mezokortikalni i tuberoinfundibularni (Slika 1) (Ayano, 2016). Iz supstancije nigre pars kompakte (SNc) započinje projekcija nigrostrijatalnog sustava, a završava u bazalnim ganglijima, u području dorzalnog strijatuma (Ayano, 2016; Björklund i Dunnett, 2007). Mezulimbčki sustav uključuje projekciju iz VTA u područja amigdale, piriformnog korteksa, lateralne septalne jezgre i nukleus akumbensa (Ayano, 2016). Iz VTA započinje i projekcija mezokortikalnog sustava koja se proteže u septohipokampalnu regiju i prefrontalni korteks (PFC) (Ayano, 2016). Dopamin nigrostrijatalnog sustava povezuje se ulogom u kretanju (učenje novih motoričkih vještina i kontrola motoričkih funkcija), mezolimbčkog s emocijama i sustavom nagrađivanja, a mezokortikalnog posreduje u kognitivnom i emocionalnom ponašanju (Ayano, 2016). Naposljetku, dopamin tuberoinfundibularnog sustava, koji ima inhibitornu kontrolu nad lučenjem prolaktina, projicira se iz paraventrikularne i arkuatne jezgre hipotalamusa u hipofizu (Ayano, 2016).



Slika 1. Dopaminergičke projekcije u mozgu. DLPFC: dorzolateralni prefrontalni korteks; VMPFC: ventromedijalni prefrontalni korteks (Preuzeto i prilagođeno prema <https://basicmedicalkey.com/psychosis-and-schizophrenia/>).

Dopaminergička neurotransmisija (Slika 2) se odvija preko nekoliko povezanih procesa koji uključuju sintezu, otpuštanje, aktivaciju receptora, ponovni unos, katabolizam i pohranu dopamina (Jones i Miller, 2008). Sinteza dopamina započinje prevođenjem tirozina u L-3,4-dihidroksifenilalanin (L-DOPA) pomoću tirozin hidroksilaze (TH) u citosolu dopaminergičkog neurona. Zatim slijedi reakcija dekarboksilacije L-DOPA do dopamina pomoću dekarboksilaze aromatskih L-aminokiselina (AADC) (Elsworth i Roth, 1997). Putem vezikularnog monoaminskog transportera 2 (VMAT2) sintetizirani dopamin se iz citoplazme sekvencira u kiseli lumen sinaptičke vezikule (Eiden i Weihe, 2011). Prilikom dolaska akcijskog potencijala konformacijska promjena membranskih proteina omogućuje ulazak iona Ca^{2+} koji stimuliraju fuziju vezikula s membranom neurona. Procesom egzocitoze dolazi do otpuštanja sadržaja vezikule (dopamina) u sinaptičku pukotinu (Elsworth i Roth, 1997). Otpušteni dopamin se u izvanstaničnom području može vezati na postsinaptičke receptore lokalizirane na dendritima i tijelu neurona ili na presinaptičke autoreceptore (Gardner i sur., 1996, 1997; Lévesque i sur., 1992). Prekid transmisije ostvaruje se uklanjanjem dopamina iz sinaptičke pukotine pomoću dopaminskog transportera (DAT) koji vraća dopamin u

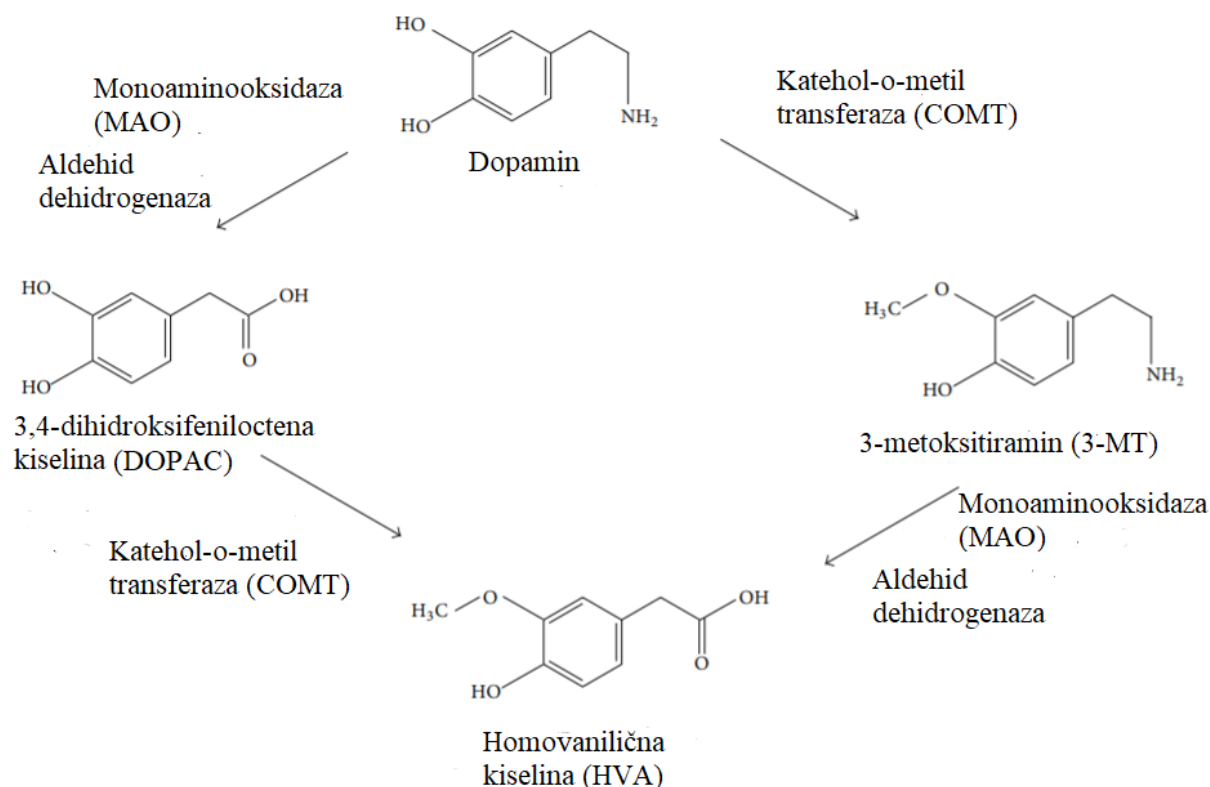
presinaptički neuron gdje se metabolizira. Nerazgrađeni dopamin pohranjuje se u sinaptičke vezikule kako bi se ponovo mogao koristiti za prijenos signala (Jones i Miller, 2008).



Slika 2. Shematski prikaz dopaminergičke neurotransmisije. TH: tirozin hidroksilaza; L-DOPA: L-3,4-dihidroksifenilalanin; AADC: dekarboksilaza aromatskih L-aminokiselina D₂R: dopaminski receptor D2; MAO: monoaminooksidaza; DAT: dopaminski transporter; VMAT2: vezikularni monoaminski transporter 2; DOPAC: 3,4-dihidroksifeniloctena kiselina; COMT: katehol-o-metil transferaza (Preuzeto i prilagođeno prema Rangel-Barajas i Rebec, 2016).

Dva primarna katabolička puta dopamina prikazana su na Slici 3. Aktivnošću monoaminooksidaze (MAO) i aldehyd dehidrogenaze nastaje 3,4-dihidroksifeniloctena kiselina (DOPAC) (Eisenhofer i sur., 2004; Juárez Olguín i sur., 2016). Zatim se DOPAC metabolizira pomoću katehol-o-metil transferaze (COMT) u krajnji produkt, homovaniličnu

kiselinu (HVA), koja se putem urina izlučuje iz organizma (Eisenhofer i sur., 2004). Dopamin se može razgrađivati i izravnim metabolizmom pomoću enzima COMT pri čemu nastaje 3-metoksitiramin (3-MT) (Juárez Olguín i sur., 2016).



Slika 3. Katabolizam dopamina (Preuzeto i prilagođeno prema Juárez Olguín i sur., 2016).

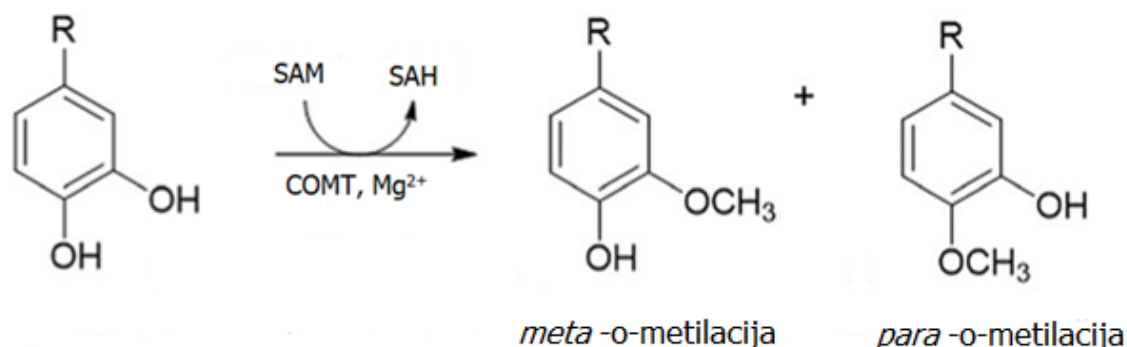
Tip receptora prisutnih na membrani neurona, kao i unutarnji odgovor neurona na sekundarni glasnik cAMP određuju učinak dopamina na ciljani neuron (Romanelli i sur., 2009). Dopaminski receptori pripadaju velikoj skupini receptora spregnutih s G-proteinima (GPCR, eng. G Protein Coupled Receptor) (Seeman, 2009). Pronađeni su u centralnom živčanom sustavu, ali i periferno, u krvnim žilama, srcu, bubrezima, mrežnici, nadbubrežnim žlijezdama i probavnom sustavu (Ayano i sur., 2016). Do sada je opisano pet podtipova dopaminskih receptora: D1, D2, D3, D4, D5 (Seeman, 2009). S obzirom na strukturu i farmakološka svojstva dodatno su grupirani u dvije podklase, receptori slični D1 receptoru (D1, D5) i receptori slični D2 receptoru (D2, D3, D4) (Romanelli i sur., 2009).

Sukladno činjenici da su dopaminski receptori široko raspoređeni po mozgu, kao i da mnogo vitalnih funkcija ovisi o njihovoj aktivaciji, poremećaji dopaminske transmisije često imaju patološke posljedice uključujući razne psihijatrijske i neurološke poremećaje (shizofrenija,

opresivno-kompulzivni poremećaj, ovisničko ponašanje, Parkinsonova bolest, poremećaji raspoloženja, poremećaj pažnje s hiperaktivnošću) (Ayano, 2016; Jones i Miller, 2008; Klein i sur., 2018).

1.2. Katehol-o-metil transferaza

Katehol-o-metil transferaza (COMT) je enzim koji inaktivira kateholamine (dopamin, adrenalin i noradrenalin) i druge katehole mehanizmom o-metilacije (Axelrod i Tomchick, 1958; Axelrod i sur., 1958). Enzim je prvi put identificiran 1957. godine, nakon izolacije iz jetre štakora (Axelrod, 1957). Nakon toga je pronađen u mozgu, kao i u većini tkiva s povećanom koncentracijom u jetri, bubrezima i probavnom sustavu (Männistö i Kaakkola, 1999). Enzim COMT pripada klasi I o-metiltransferaza (Lee i sur., 2019). Katehol-o-metil transferaza katalizira prijenos metilne skupine s S-adenozil-L-metionina (SAM), kao donora, na kisik jedne od dviju hidroksilnih skupina (3'-OH ili 4'-OH) kateholnog supstrata uz prisutnost iona Mg^{2+} (Slika 4). Ioni Ca^{2+} inhibiraju enzim COMT. Pokazalo se da je metilacija 3'-OH (3-o-metilacija ili meta-o-metilacija) učestalija od metilacije 4'-OH (4-o-metilacija ili para-o-metilacija) (Männistö i Kaakkola, 1999).



Slika 4. Reakcijski mehanizam enzima COMT. R: supstituent; SAM: S-adenozil-L-metionin; SAH: S-adenozilhomocistein; COMT: katehol-o-metil transferaza (Preuzeto i prilagođeno prema Law i sur., 2016).

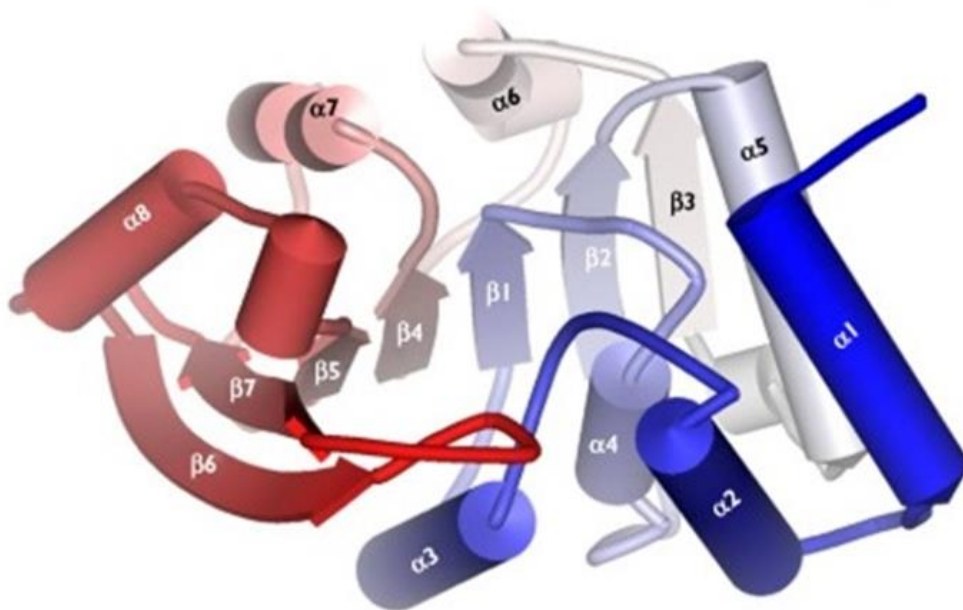
Metilacijska reakcija putem enzima COMT odvija se mehanizmom uređenim sekvencijski (Lotta i sur., 1995). Komponente uključene u reakciju vežu se specifičnim redoslijedom u aktivno mjesto enzima COMT koje se nalazi u plitkom utoru na vanjskoj površini (Vidgren i sur., 1994; Vidgren i Ovaska, 1997). Kofaktor SAM, ion Mg^{2+} , molekula vode te kateholni supstrat vežu se redom u aktivno mjesto enzima. Enzimatski kompleks razgrađuje se obrnutim redoslijedom od formiranja (Lotta i sur., 1995). Redoslijed vezanja diktiran je

položajem veznog mjesta za metilnu skupinu SAM-a koje se nalazi najdublje u aktivnom mjestu enzima COMT (Vidgren i sur., 1994; Vidgren i Ovaska, 1997).

O-metilacija posredovana enzimom COMT ima važnu fiziološku ulogu u metabolizmu biološki aktivnih i toksičnih endogenih i egzogenih katehola. Supstrati reakcije su kateholamini i njihovi hidroksilirani metaboliti, L-DOPA, kateholestrogeni, askorbinska kiselina, dihidroindolni intermedijeri metabolizma melanina te brojni egzogeni ksenobiotici i tvari kao što su α -metildopa, izoprenelin, rimiterol, karbidopa, benzerazid i prehrambeni polifenoli (Männistö i Kaakkola, 1999). Usprkos širokom spektru supstrata, primarna funkcija enzima COMT je metabolizam kateholamina (Männistö i Kaakkola, 1999). Zbog smanjene količine DAT-a, o-metilacija putem enzima COMT predstavlja glavni metabolički put dopamina u PFC-u (Chen i sur., 2004; Matsumoto i sur., 2003; Yavich i sur., 2007) gdje je dopaminska signalizacija kritična za modulaciju kognitivnih funkcija (Goldman-Rakic i sur., 2000). Sukladno navedenom, enzim COMT je od velikog značaja za neuroznanost, i kao modulator moždane funkcije i kao meta lijekova za razne neurološke poremećaje u koje je dopamin uključen (Tunbridge, 2010).

1.2.1. Izoforme enzima COMT

Enzim COMT je prisutan u dvije izoforme, slobodni, citosolni protein (S-COMT, eng. Soluble COMT) i protein vezan za membranu (MB-COMT, eng. Membrane Bound COMT). Citosolni oblik enzima građen je od 221 aminokiseline molekularne mase 24,4 kDa. Izoforma vezana za membranu ima dodatni segment dug 50 aminokiselina vezan za N kraj proteina koji tvori hidrofobno membransko sidro, a odgovarajuća molekularna masa je 30 kDa (Männistö i Kaakkola, 1999). Dodatni segment izoforme MB-COMT sastavljen je od transmembranske zavojnice duge 26 aminokiselina na N kraju te vezujućeg segmenta dugog 24 aminokiseline koji spaja transmembransku zavojnicu s katalitičkom domenom enzima (Orłowski i sur., 2011). Prva kristalna stuktura ljudskog enzima COMT, i to samo izoforme S-COMT, dobivena je 2008. godine. Monomernu domenu izoforme S-COMT čine β ploča od sedam heterogenih β lanaca koja je smještena između osam α zavojnica (Rutherford i sur., 2008) (Slika 5).



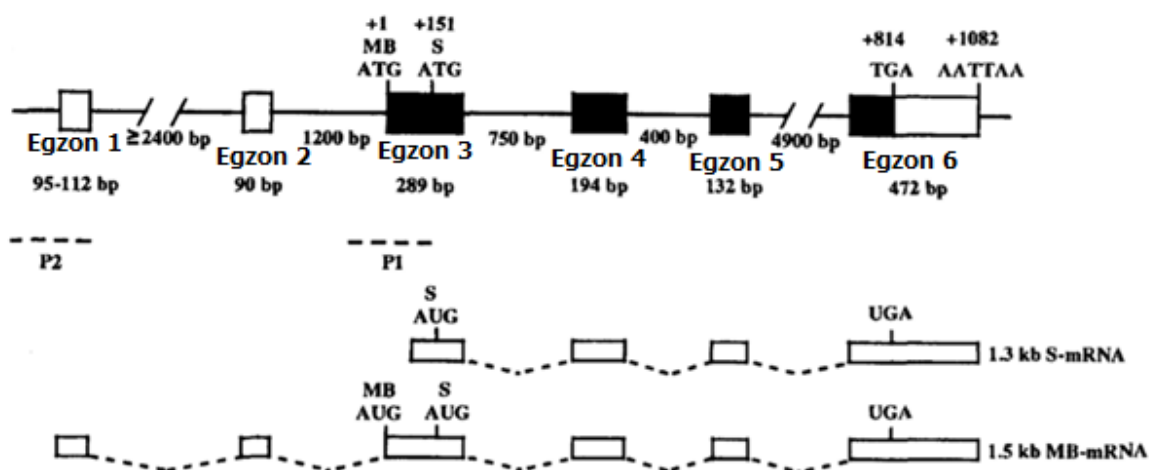
Slika 5. Tercijarna struktura ljudske izoforme S-COMT (PDB kod: 3BWM) (preuzeto iz Ma i sur., 2013).

Iako je enzim COMT široko rasprostranjen u organizmu, tkivna zastupljenost dviju izoformi se razlikuje. U većini tkiva, posebice jetri, bubrezima i dvanaesniku, dominantni enzim je S-COMT s malom frakcijom enzima MB-COMT. Izuzetak je jedino mozak, osobito cerebralni korteks, gdje 70% prisutnog enzima COMT čini MB-COMT, a svega 30% S-COMT (Tenhunen i sur., 1994). U mozgu je detektirana visoka razina enzima COMT u glija stanicima, ali i neuronima (Karhunen i sur., 1995; Rivett i sur, 1983). Prema zadnjem istraživanju (Chen i sur., 2011) MB-COMT se nalazi na tijelu, aksonima i dendritima kortikalnih neurona s C-terminalnom katalitičkom domenom okrenutom prema izvanstaničnom prostoru. Iako dijele isti spektar supstrata, kinetički mehanizam te primarnu funkciju razgradnje kateholamina (Männistö i Kaakkola, 1999), MB-COMT i S-COMT se razlikuju u specifičnosti za supstrat, kao i regioselektivnosti O-metilacije. Obje proteinske izoforme preferiraju 3-O-metilaciju nad 4-O-metilacijom pri čemu je MB-COMT regioselektivniji u odnosu na S-COMT. Također, MB-COMT ima manji kapacitet i deset puta veći afinitet za dopamin i norepinefrin u odnosu na S-COMT što ga čini važnijim za metaboliziranje kateholamina u mozgu (Lotta i sur., 1995). Sukladno svemu navedenom, MB-COMT je glavni oblik proteina u mozgu gdje ima važnu ulogu u modulaciji kortikalnog signaliziranja (Matsumoto i sur., 2003; Meyer-Lindenberg i sur., 2005). Suprotno, S-COMT je glavni oblik u perifernim tkivima gdje je važan za detoksifikaciju i metabolizam kateholnih spojeva (Nunes, 2009). Međutim, još uvijek ne postoji inhibitor specifičan za MB-COMT

potreban za proučavanje njegove uloge u funkcijama mozga ovisnim o dopaminu. Jedini trenutno dostupni inhibitor za kojeg je krvno-moždana barijera propusna je tolkapon, no on inhibira obje proteinske izoforme (Chen i sur., 2011).

1.2.2. Gen *COMT*

Gen *COMT* kodira za obje proteinske izoforme enzima COMT (Tenhunen i sur., 1994). Kod ljudi je pozicioniran u regiji 11.2 na duljem (q) kraku 22. kromosoma (Grossman i sur., 1992; Winqvist i sur., 1992). Ljudski gen *COMT* (Slika 6) organiziran je u šest egzona i pet introna, pri čemu su egzon 1 i egzon 2 nekodirajući (Tenhunen i sur., 1994). Inicijacijski translacijski kodoni (ATG) za MB-COMT i S-COMT su udaljeni 150 pb u egzonu 3, a jedan translacijski stop kodon se nalazi u egzonu 6. Regija između MB-ATG i S-ATG kodira za hidrofobnu ekstenziju izoforme MB-COMT (Tenhunen i sur., 1994).



Slika 6. Gen *COMT* i njegovi transkripti (Preuzeto iz Tenhunen i sur., 1994).

Gen je pod kontrolom dva promotora (P1 i P2). Dok uzvodni, 5', promotor P2 regulira ekspresiju mRNA veličine 1,5 kb, proksimalni promotor, P1, regulira ekspresiju mRNA veličine 1,3 kb (Tenhunen i sur., 1994). Zbog prisutnosti oba inicijacijska translacijska kodona, propusnim mehanizmom pri inicijaciji translacije iz 1,5 kb mRNA mogu nastati obje proteinske izoforme. Međutim, zbog smještaja na povoljnijem mjestu za prihvatanje ribosoma, većina translacije 1,5 kb mRNA započinje na MB-AUG. Dio promotora P1 smješten je između MB-ATG i S-ATG te se time djelomično preklapa kodirajuća sekvenca 1,5 kb mRNA pa iz 1,3 kb mRNA može nastati samo S-COMT (Tenhunen i sur., 1994). Pored dva primarna COMT transkripta, Tunbridge i suradnici (2007a) su u ljudskom mozgu otkrili i alternativne COMT mRNA.

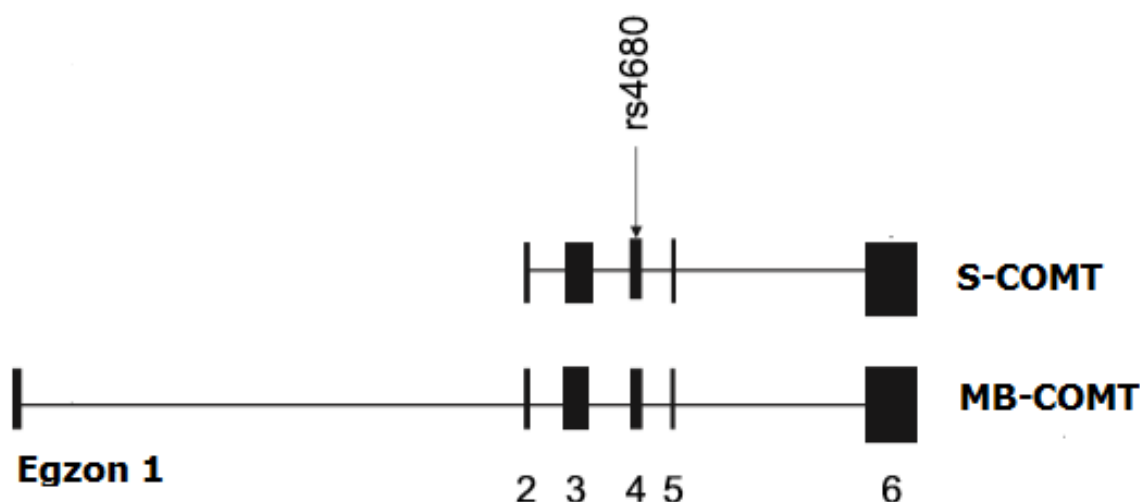
Gen *COMT* se eksprimira posvuda u ljudskom organizmu s najvećom razinom u jetri, mozgu, bubrezima, nadbubrežnim žlijezdama i plućima. Međutim, među tkivima varira količina dva primarna transkripta *COMT*. Obje mRNA *COMT* nalazi se u većini ljudskih tkiva (Tenhunen i sur., 1994). Jedino je u svim regijama ljudskog mozga pronađen samo dulji transkript (Hong i sur., 1998; Matsumoto i sur., 2003; Tenhunen i sur., 1994). Hibridizacijskim metodama dokazano je da se 1,5 kb mRNA eksprimira u šesnaest ispitanih regija središnjeg živčanog sustava s najvećom razinom u leđnoj moždini, a najmanjoj u talamusu i amigdali (Hong i sur., 1998). U regijama mozga koje podražuju aksoni dopaminskih neurona pronađena je najveća koncentracija 1,5 kb mRNA u DLPFC-u, znatno manja u strijatumu, a najniža u VTA i SNc (Matsumoto i sur., 2003). Na staničnoj razini, gen *COMT* se primarno eksprimira u neuronima, dok mu je ekspresija u glija stanicama vrlo niska. Ependimalne stanice u strijatumu primjer su neneuronskih stanica s visokom razinom ekspresije gena *COMT* (Matsumoto i sur., 2003).

Tkivno specifična razlika u količini dvaju transkripata (Tenhunen i sur., 1994), promjena u količini i aktivnosti proteina tijekom razvoja (Tunbridge i sur., 2007b) te razlika u aktivnosti proteina između spolova (Floderus i sur., 1981) ukazuju na kompleksnost i dinamičnost regulacije ekspresije gena *COMT*. Aktivnost promotora P1 i P2 je varijabilna. U nekim tkivima, kao što je jetra, oba su aktivna istovremeno, dok se u ostalim tkivima, poput mozga, promotor P1 pokazao manje učinkovitim (Tenhunen i sur., 1994). Brojni regulatorni elementi pronađeni u genu *COMT* mogu biti uzrokom tkivno specifične ekspresije. Promotor P1 sadrži vezna mjesta za transkripcijske faktore Sp1, HNF-4, NF-IL6 i AP-2, a promotor P2 za transkripcijske faktore AP-2, NF-D, Ets-1 i Sp1 (Tenhunen i sur., 1994). Osim navedenih transkripcijskih faktora, ekspresiju gena *COMT* kontroliraju i okolišni čimbenici poput prehrambenih komponenti (Duthie i sur., 2008) i lijekova (Zhao i sur., 2001), zatim hormoni estrogen i progesteron (Cohn i Axelrod, 1971; Salama i sur., 2007; Xie i sur., 1999), TNF α (eng. tumor necrosis factor alpha; Tchivileva i sur., 2009) te epigenetički mehanizmi (Mill i sur., 2006).

1.2.3. Polimorfizam rs4680 gena *COMT*

U četvrtom egzonu gena *COMT* (Slika 7) nalazi se polimorfizam zamjene jedne baze (SNP, eng. Single Nucleotide Polymorphism) Val^{108/158}Met (rs4680). Riječ je o zamjeni baze gvanin (G) u adenin (A) što za posljedicu ima zamjenu aminokiseline valin (Val) metioninom (Met) na poziciji 108 (S-COMT) ili 158 (MB-COMT) (Lotta i sur., 1995). Polimorfizam rs4680

stvora tri genotipske skupine (homozigot Val/Val, homozigot Met/Met, heterozigot Val/Met), što rezultira različitom aktivnošću enzima uzrokovanom promjenama u njegovoj stabilnosti (Chen i sur., 2004; Lotta i sur., 1995). Naime, aminokiselina kodirana polimorfnim mjestom nalazi se na površini enzima (Vidgren i sur., 1994). Alel Met kodira za protein COMT s manjom termostabilnošću i nižom aktivnošću pri 37°C (Chen i sur., 2004; Lotta i sur., 1995). U *post mortem* ljudskom tkivu DLPFC-a, Chen i suradnici (2004) su pokazali da je aktivnost enzima COMT u Val homozigota približno 40% veća nego u Met homozigota. Kod heterozigota je uočena srednja razina aktivnosti enzima što je u skladu s kodominatnim odnosom alela (Chen i sur., 2004). Time je objašnjena uočena trimodalna raspodjela aktivnosti enzima COMT u ljudskoj populaciji (Floderus i sur., 1981).



Slika 7. Prikaz položaja polimorfizma rs4680 gena *COMT*. S-COMT: topivi citosolni oblik proteina COMT; MB-COMT: COMT vezan za membranu (Preuzeto i prilagođeno prema Williams i sur., 2007).

Polimorfizam rs4680 je čvrsto povezan s funkcijama PFC-a (Mier i sur., 2010). S obzirom da je dopaminska signalizacija PFC-a kritična za modulaciju procesa važnih za normalno funkcioniranje ljudskog organizma (Goldman-Rakic i sur., 2000), ne iznenađuje činjenica da se ovaj polimorfizam povezuje s različitim fenotipovima i patologijama uključujući poremećaje kognitivnih funkcija (Egan i sur., 2001), shizofreniju (Schiffman i sur., 2002), opsesivno-kompulzivni poremećaj (Pooley i sur., 2007), depresiju (Massat i sur., 2005), agresiju (Jones i sur., 2001), rak dojke (Huang i sur., 1999) i posttraumatski stresni poremećaj (Boscarino i sur., 2011; Clark i sur., 2013).

1.3. Posttraumatski stresni poremećaj

Posttraumatski stresni poremećaj (PTSP) je psihijatrijski poremećaj uvjetovan stresorom, a može se razviti u osoba izravno ili neizravno izloženih životno ugrožavajućim situacijama koje uključuju smrtnu opasnost, ozbiljnu fizičku povredu i seksualno nasilje, a predstavljaju prijetnju psihičkom ili fizičkom integritetu osobe (APA, 2013). Prema najnovijem izdanju Dijagnostičkog i statističkog priručnika za mentalne poremećaja, DSM-5, (APA, 2013) PTSP se svrstava u kategoriju poremećaja povezanih s traumom i stresom. Vrste stresora ili traumatskih događaja koji mogu izazvati nastanak PTSP-a su različiti. Obuhvaćaju teške nezgode, prirodne katastrofe, kriminalne napade, ratne traume i nasilje nad civilima, psihičko nasilje, seksualne napade, nasilje u kući i obitelji, fizičko zlostavljanje ili ozbiljno zanemarivanje u djetinjstvu, traumu povezanu s obavljanjem posla ili svjedočenje traumatskom događaju (Kozarić-Kovačić i sur., 2007).

Posttraumatski stresni poremećaj pogađa između 1,3% i 12,2% ljudi ovisno o ispitivanoj populaciji (Shalev i sur., 2017). Uočena je veća stopa prevalencije u društvenim skupinama kao što su ratni veterani (Hoge i sur., 2006; Seal i sur., 2007) te među osobama koje su preživjele silovanje, zatočeništvo, etnički i politički motiviranu internaciju te genocid (APA, 2013). Izuzev ratnim iskustvom izazvanog PTSP-a koji je učestaliji kod muškaraca (Kessler i sur., 1995), kao i kod drugih psihijatrijskih poremećaja (depresija, anksiozni poremećaji), uočena je veća stopa prevalencije među ženama (Breslau i sur., 1997). Iako u Hrvatskoj nisu provedena sustavna epidemiološka istraživanja u svezi broja psihotraumatiziranih osoba u ratu, prema podacima Vlade Republike Hrvatske procjenjuje se da je najmanje 100 000 ljudi bilo izravno izloženo ratnom stresoru, a puno više je sekundarno traumatizirano. Pretpostavlja se da je kod prognanika i izbjeglica prevalencija PTSP-a između 25 i 50%, a kod branitelja između 25-30% (Kozarić-Kovačić i sur., 2007). U liječenju PTSP-a primijenjuju se edukacija, psihosocijalna i psihoterapijska podrška i/ili psihofarmakološke metode (Kozarić-Kovačić i Pivac, 2007). Ovaj kronični i onesposobljavajući mentalni poremećaj povezan sa značajnim stupnjem morbiditeta žrtvi traume predstavlja cjeloživotni problem što zahtijeva pravovremenu i adekvatnu brigu (APA, 2013). Kako PTSP predstavlja veliki teret društva (Kessler i sur., 2000) te s obzirom na to da nekoliko nedavnih istraživanja nisu rezultirala razlikom u učinku između placeba i alternativnih lijekova za PTSP, potrebna su dodatna istraživanja bazičnih mehanizama i putova uključenih u ovaj poremećaj (Kelmendi i sur., 2016).

1.3.1. Etiologija

Iako je veliki udio ljudi (procjenjuje se od 50% do 85%) izložen traumatskom događaju u nekom trenutku svog života, samo mali dio njih naknadno razvije ustrajne simptome PTSP-a (Kessler i sur., 1995). Vrsta traumatskog događaja, ali i individualna podloga, utječu na odgovor pojedinca na traumu (Valente i sur., 2015). Štoviše, osobe s određenim rizičnim čimbenicima lakše će razviti PTSP (Tablica 1) (APA, 2013).

Tablica 1. Rizični čimbenici za nastanak PTSP-a (prema APA, 2013.).

1. Pretraumatski	Emocionalni problemi i raniji mentalni poremećaji, spol i dob, osobnost, niži socioekonomski status i obrazovanje, niža razina inteligencije, pripadnost etničkim manjinama, ranija trauma, nedaće tijekom djetinjstva, obiteljska anamneza psihijatrijskih poremećaja, genetika i fiziologija
2. Peritraumatski	Težina traume, doživljena prijetnja po život, peritraumatske emocije, peritraumatska disocijacija
3. Posttraumatski	Negativna procjena i neadekvatna strategija suočavanja, razvoj akutnog stresnog poremećaja, doživljeni nedostatak socijalne podrške, kasniji životni stresori

Međutim, multifaktorijalna etiologija ovog poremećaja, utjecana međudjelovanjem brojnih okolišnih i genetičkih čimbenika (Domschke i sur., 2012), i dalje je nedovoljno istražena. Veliki stupanj nasljednosti PTSP-a (od 30-35% pa do 70%), koji je dokazan obiteljskim studijama i studijama na blizancima (Sack i sur., 1995; True i sur., 1993; Sartor i sur., 2012; Yehuda i sur., 1998), ukazuje na znatan doprinos genetičkih čimbenika patogenezi ovog poremećaja. Pokazalo se da je PTSP složen poligenski poremećaj koji je povezan s genima dopaminergičkog i serotonergičkog sustava, genima važnim za regulaciju osi hipotalamus-hipofiza-nabubrežna žlijezda (HPA), genima uključenim u sustav locus coeruleus-norepinefrin (LC-NE) i onima koji kodiraju neurotrofine (Domschke i sur., 2012; Pitman i

sur., 2012). Osim s prethodno navedenim, povezuje ga se i s neuro-upalnim genima (Zass i sur., 2016). U skladu s pristupom razumijevanju PTSP-a kao stresom uzrokovanog poremećaja, najnovija istraživanja bave se razumijevanjem genskog utjecaja u kontekstu okolišnog stresora (Watkins i sur., 2016), kao i epigenetičkim mehanizmima (Ressler i sur., 2011). Pokazalo se da bi genetički i epigenetički čimbenici mogli doprinijeti čak do 70% individualne razlike u razvoju PTSP-a (Lebois i sur., 2016).

1.3.2. Klinička slika

Posttraumatski stresni poremećaj je složeni poremećaj s promijenjivom kliničkom slikom što se očituje u vrsti prevladavajućih simptoma, vremenu njihova pojavljivanja i trajanja te postojanju komorbiditetnih poremećaja (APA, 2013). Prema DSM-5 (APA, 2013) PTSP je karakteriziran s četiri osnovne skupine simptoma: simptomi intruzije, izbjegavanje, negativne misli i raspoloženje te povećana pobuđenost. Često specifični simptomi PTSP-a, poput intruzivnih misli i sjećanja te “flashback” iskustva, poprimaju oblik halucinacija i/ili deluzija (Butler i sur., 1996) uz popratnu paranoju, dijeleći tako sličnosti s psihozama (Ivezić i sur., 2000). Dodatno, u čak 30-40% slučajeva PTSP-a javljaju se psihotički simptomi (Hamner, 1997) te se sve češće spominje psihotički PTSP kao PTSP s izraženim sekundarnim psihotičkim simptomima (Compean i Hamner, 2019), uključujući pozitivne, negativne i opće psihopatološke simptome (Sautter i sur., 1999). Štoviše, pokazano je da veterani s PTSP-om dijele sličnu simptomatsku strukturu na ljestvici pozitivnih i negativnih simptoma (PANSS, eng. Positive and Negative Syndrome Scale) s osobama oboljelim od shizofrenije (Stefanovics i sur., 2014). Nadalje, oboljele su osobe sklone izbjegavanju aktivnosti, znakova, sjećanja, misli, osjećaja, stvari, ljudi i situacija usko povezanih s traumatskim događajem. Također, karakteriziraju ih i izrazito negativni stavovi i očekivanja od sebe i okoline, kronično negativno raspoloženje, osjećaj straha, bijesa, ljutnje i srama, problemi s pamćenjem, koncentracijom, pažnjom i spavanjem što sve najčešće rezultira socijalnim povlačenjem (APA, 2013). Posttraumatski stresni poremećaj se često povezuje s agresivnim (Begic i Jokic-Begic, 2001) i suicidalnim ponašanjem (Kessler i sur., 1999) te pojavom somatskih simptoma kao što su bol, povećano pojavljivanje arterijskih, gastrointestinalnih, dermatoloških i muskuloskeletnih poremećaja (Andreski i sur., 1998). Kroničnog je tijeka, uz povratne epizode koje su najčešće povezane s izlaganjem višestrukim traumama (Kessler, 2000). U 80% slučajeva javlja se komorbiditet s najmanje jednim poremećajem (Brady, 1997). Najčešće se javlja s velikim depresivnim poremećajem, paničnim poremećajem,

alkoholizmom, ovisnošću o psihoaktivnim tvarima i poremećajem ličnosti (Kozarić-Kovačić i Kocijan-Hercegonja, 2005; Kozarić-Kovačić i Borovečki, 2005).

1.3.3. Neurobiologija

Postrumatski stresni poremećaj utječe na razne biološke sustave kao što su moždani krugovi i neurokemija, te stanična, imunološka, endokrina i metabolička funkcija. Istraživanja patofiziologije PTSP-a primarno su fokusirana na psihofiziologiju i neurobiologiju odgovora na stres kao i mehanizme kondicioniranja straha (stjecanje i izumiranje) (Yehuda i sur., 2015). Štoviše, smatra se da simptomi PTSP-a predstavljaju bihevioralnu manifestaciju abnormalne prilagodbe neurobioloških sustava na stres izazvan svjedočenjem traumatskom događaju (Sherin i sur., 2011).

Abnormalnosti osi HPA i sustava LC-NE predstavljaju jedne od glavnih neuroendokrinih i neurokemijskih promjene u osoba oboljelih od PTSP-a (Sherin i sur., 2011). Manifestiraju se hipoaktivnošću osi HPA praćenu hipokortizolizmom (Boscarino, 1996), povećanjem hormona koji oslobađa kortikotropin u cerebrospinalnoj tekućini (Yehuda, 2006) te hiperaktivnošću simpatičkog živčanog sustava (Southwick i sur., 1999). Važnu ulogu u patofiziologiji PTSP-a ima dopaminski sustav (Sherin i sur., 2011). Kod osoba s PTSP-om uočeno je povećanje plazmatske koncentracije i urinarne ekskrecije dopamina (Yehuda i sur., 1992). Naposljetku, patofiziologija PTSP-a uključuje poremećaje i drugih neurokemijskih sustava kao što su serotonin, GABA, glutamat, neuropeptid Y te endogeni opiodi (Sherin i sur., 2011).

Neuroanatomski model PTSP-a (Rauch i sur., 1998, 2006), baziran na paradigmi kondicioniranja straha, pretpostavlja poremećaj funkcije amigdale, VMPFC-a i hipokampusa. Prema ovom modelu (Rauch i sur., 1998, 2006), amigdala je hiperaktivna što dovodi do pretjerane reakcije na podražaje povezane s prijetnjom. Suprotno tome, regije VMPFC-a i hipokampusa su hipoaktivne te ne uspijevaju inhibirati amigdalnu. Nedovoljan inhibitorni utjecaj VMPFC-a na amigdalnu temelj je nedostatka izumiranja kondicioniranog straha kao i sposobnosti suzbijanja pažnje i odgovora na podražaje povezane s traumom, kao i emocionalne regulacije (Bremner i sur., 1995). Sukladno činjenici da je PTSP karakteriziran s dvije krajnosti poremećaja emocionalne regulacije (emocionalna otupjelost i povećana podražljivost) (Lanius i sur., 2010), neka istraživanja ukazuju i na hiperaktivnost amigdale kod oboljelih osoba (Etkin i Wager, 2007). Kod pacijenata s PTSP-om uočeno je smanjenje

volumena i funkcija hipokampusa (Bremner i sur., 1995) te smanjenje volumena VMPFC-a (Rauch i sur., 2003). Novi dokazi upućuju na hiperaktivnost dorzalnog anteriornog cingularnog korteksa tijekom kondicioniranja straha (Rougemont-Bücking i sur., 2010) i priziva učenja izumiranja (Milad i sur., 2009) te povećanje aktivnosti insule (Simmons i sur., 2008).

1.4. Dopamin, COMT i PTSP

PTSP se često konceptualizira kao poremećaj memorije unutar okvira kondicioniranja i izumiranja straha (Elzing i Bremner, 2002). Upravo središnja uloga poremećaja memorije upućuje na dopaminergičku modulaciju kao važan čimbenik patofiziologije ovog poremećaja (Clark i sur., 2013). Štoviše, pokazalo se da je razina povećanja plazmatske koncentracije i urinarne ekskrecije dopamina sukladna ozbiljnosti simptoma PTSP-a (Yehuda i sur., 1992). Neurotransmisija dopaminom ima ključnu ulogu u regulaciji kognitivnog (Goldman-Rakic i sur., 2000) i emocionalnog (Badgaiyan i sur., 2009) procesiranja. Simptomi PTSP-a, koji uključuju promjene kognitivnih procesa kao što su poremećaji memorije, pažnje, planiranja, učenja i rješavanja problema, posljedica su upravo utjecaja emocija na kognitivne funkcije (Hayes i sur., 2012). Osobit utjecaj dopamina na kogniciju očituje se u PFC-u pri čemu kognitivne funkcije operiraju najbolje pri njegovim umjerenim razinama, dok premala ili prevelika signalizacija dopaminom izaziva njihov poremećaj (Goldman-Rakic i sur., 2000). Poremećaj dopaminergičke prefrontalne aktivnosti povezan je s poremećajem radne memorije i drugih izvršnih funkcija (Aalto i sur., 2005; Egan i sur., 2001; Goldman-Rakic i sur., 2000) što je uočeno u osoba s PTSP-om (Hayes i sur., 2012; Scott i sur., 2015). Dopamin je uključen i u kodiranje i memorijsku konsolidaciju u hipokampusu koji je zbog svoje funkcije postao centar istraživanja etiologije i simptomatologije PTSP-a, osobito poremećaja memorijskih procesa kao što je epizodičko pamćenje (Hayes i sur., 2017). Između ostalog, dopamin je jedan od neurotransmitera koji potencijalno najviše modulira temeljne mehanizme straha, kondicioniranje i izumiranje (Myers i Davis, 2007). Ventralno tegmentalno područje, koje je sjedište tijela dopaminergičkih neurona mezokortikolimbickog dopaminskog puta, povezano je s hipokampusom i facilitacijom izumiranja kondicioniranog straha (Menezes i sur., 2015). Poremećaji tog puta dovode do povećane generalizacije straha koja je uočena u osoba s PTSP-om (Kaczurkin i sur., 2017).

Polimorfizam rs4680 gena *COMT* utječući na enzimatsku aktivnost modulira razinu dopamina u PFC-u. Alel Met se povezuje sa sniženom aktivnošću enzima i povećanom

koncentracijom prefrontalnog dopamina. Suprotno, alel Val se povezuje s povišenom aktivnošću enzima, a time i sniženom koncentracijom slobodnog prefrontalnog dopamina (Chen i sur., 2004; Swart i sur., 2011). Posljedično tomu, genotip s obzirom na polimorfizam rs4680 utječe na moždane funkcije posredovane PFC-om (Egan i sur., 2001; Mier i sur., 2010). Pleiotropan učinak polimorfizma rs4680 na funkcije PFC-a dokazali su Mier i suradnici (2010) u svojoj meta analizi o učinku gena *COMT* na procesiranje kognitivnih i emocionalnih informacija. Alel Met, koji se generalno pokazao korisnim za radnu memoriju i izvršne funkcije, povezan je s manje učinkovitim procesiranjem emocionalnih podražaja, kao i povećanjem prefrontalne aktivnosti tijekom obavljanja emocionalnih zadataka. Suprotno tome, osobe s genotipom Val/Val bolje funkcioniraju u afektivnim zadacima i emocionalnoj obradi, ali pokazuju povećanje aktivnosti PFC-a tijekom obavljanja kognitivnih zadataka (Mier i sur., 2010). Nadalje, iako su se nositelji alela Met pokazali uspješnijima i na testovima deklarativne memorije (de Frias i sur., 2004), ipak pokazuju smanjenu otpornost na stres, kao i smanjenu sposobnost izumiranja kodicioniranog straha (Lonsdorf i sur., 2009). Osim toga, polimorfizam rs4680, utječući na razinu TH, regulira sintezu dopamina u srednjem mozgu (Akil i sur., 2003) te modulira interakciju između dopaminergičkih neurona srednjeg mozga i PFC-a koja je ključna za motivirano ponašanje, radnu memoriju i učenje povezano s nagradama (Meyer-Lindenberg i sur., 2005). Nedavna istraživanja upućuju na utjecaj polimorfizam rs4680 gena *COMT* na modulaciju metabolizma dopamina u hipokampusu (Laatikainen i sur., 2012) te njegovu povezanost s PFC-om tijekom obrade memorije (Bertolino i sur., 2006). Prema tonično-fazičnoj dopaminskoj hipotezi (Bilder i sur., 2004) ovaj učinak polimorfizma rs4680 gena *COMT* posljedica je divergentnih zahtjeva stabilnog nasuprot fleksibilnog prikaza pri kognitivnim u odnosu na emocionalne zadatke. Naime, alel Met je povezan s povećanom toničnom subkortikalnom dopaminskom transmisijom, smanjenom fleksibilnošću u odgovoru na stimulanse te poteškoćama u učinkovitom moduliranju odabira odgovora na nove ili promjenjive okolišne zahtjeve (Bilder i sur., 2004). U skladu s time, alel Met povezuje se s brojnim negativnim stanjima koja imaju afektivnu komponentu kao što su povećanje osjetljivosti na bol (Zubieta i sur., 2003), opsesivno-kompulzivni poremećaj u muškaraca (Pooley i sur., 2007), panični poremećaj (Woo i sur., 2004), alkoholizam (Tiihonen i sur., 1999), bipolarni poremećaj (Mynett-Johnson i sur., 1998), agresivnost i osobine povezane s ljutnjom (Jones i sur., 2011). Usprkos hipotezi o kognitivnoj fleksibilnosti (Bilder i sur., 2004), brojne studije povezuju i alel Val s afektivnim poremećajima kao što su tjeskobni poremećaji (Domschke i sur., 2004), depresija (Massat i sur., 2005) te psihoza (Avramopoulos i sur., 2002). Zbog svog utjecaja na različite

emocionalne i bihevioralne funkcije, polimorfizam rs4680 gena *COMT* može biti relevantan za sklonost pojedinca razvoju PTSP-a (Clark i sur., 2013). Kao i u slučaju povezanosti s drugim mentalnim poremećajima i ozbiljnošću njihove kliničke slike (Hosak, 2007), i rezultati asocijacijskih studija između polimorfizma rs4680 gena *COMT* i PTSP-a su umjereni i nekonzistentni. Brojne studije upućuju da bi alel Met mogao biti alel veće osjetljivosti na razvoj PTSP-a (Boscarino i sur., 2011; Clark i sur., 2013; Humphreys i sur., 2014; Kolossa i sur., 2010; Valente i sur., 2011). Međutim, neka istraživanja povezuju alel Val s PTSP-om (Clark i sur., 2013; Goenjian i sur., 2015; Humphreys i sur., 2014). Prvotna asocijacijska studija između polimorfizma rs4680 gena *COMT* i razvoja PTSP-a na uzorku žrtava genocida u Ruandi (Kolossa i sur., 2010) nije pronašla povezanost ovog polimorfizma i cjeloživotnog PTSP-a, ali su otkrili kompleksnu interakciju između genotipa obzirom na polimorfizam rs4680 i traumatskog opterećenja. Dok prisutnost genotipa Met/Met značajno povećava rizik od razvoja PTSP-a neovisno o ozbiljnosti traumatskog opterećenja, nositelji alela Val pokazuju povećani rizik jedino u subjekata s teškim traumatskim opterećenjem. Ovi su rezultati ponovljeni na manjoj studiji žrtava urbanog nasilja (Valente i sur., 2011), kao i na većoj studiji o povezanosti PTSP-a i maligne boli (Boscarino i sur., 2011). Međutim, u studiji Clark i suradnika (2013) i genotipovi Met/Met i Val/Val povezani su s ozbiljnijom simptomatologijom PTSP-a. Nadalje, među skupinom Armenaca koji su preživjeli potres uočena je povezanost alela Val s ozbiljnošću simptoma PTSP-a (Goenjian i sur., 2015). Iako brojne studije zbog karakteristika alela Met (poremećaj afektivnih funkcija, smanjena sposobnost izumiranja kondicioniranog straha te smanjena otpornost na stres) povezuju osobe genotipa Met/Met s povećanim rizikom od razvoja PTSP-a (Boscarino i sur., 2011; Clark i sur., 2013; Humphreys i sur., 2014; Kolossa i sur., 2010; Valente i sur., 2011), povezanost između polimorfizma rs4680 i PTSP-a ostaje i dalje nepotpuno razjašnjena (Li i sur., 2016), upućujući na važnost interakcija između gena i okoliša pri razvoju ovog poremećaja. Osim međudjelovanja gena i okoliša, kompleksna veza između polimorfizma rs4680 gena *COMT* i PTSP-a ovisi i o genskim interakcijama i haplotipovima (Boscarino i sur., 2011; Meyer-Lindenberg i sur., 2006). Naposljetku, konfliktni rezultati mogu biti posljedica kompleksne prirode poremećaja koja uključuje različite anatomske, fiziološke, endokrine i psihološke endofenotipove. Stoga, povezivanje sa specifičnim fenotipovima predstavlja obećavajući način za identificiranje suptilnih genskih doprinosa različitim mentalnim poremećajima, među kojima i PTSP-a (Gottesman i Gould, 2003).

2. Cilj istraživanja

Cilj ovog diplomskog rada je ispitati postoji li povezanost genotipa s obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i težine simptoma procijenjenih prema PANSS-u kod ratnih veterana oboljelih od PTSP-a. Dobiveni podaci doprinijet će boljem razumijevanju etiologije i tijeka PTSP-a.

3. Materijali i metode

3.1. Ispitanici

Istraživanjem su obuhvaćena 573 muškarca oboljela od PTSP-a izazvanog ratnim iskustvom koji su liječeni u Klinici za psihijatriju Vrapče u Zagrebu. Dijagnoza PTSP-a postavljena im je korištenjem strukturiranog kliničkog intervjua (SCID, eng. Structured Clinical Interview) za Dijagnostički i statistički priručnici za mentalne poremećaje, 5. izdanje (DSM-5) (APA, 2013). Dob ispitanika izražena kao medijan (1.-3. kvartil) iznosila je 51 (44-59) godina.

U Klinici za psihijatriju Vrapče u Zagrebu, od strane liječnika psihijatra, provedena je evaluacija težine simptoma ispitanika pomoću PANSS-a te im je uzet uzorak krvi. Ljestvica pozitivnih i negativnih simptoma je prvotno napravljena za procjenu ozbiljnosti simptoma u osoba oboljelih od shizofrenije. Sastoji se od 30 čestica (PANSS_{tot}) koje su inicijalno raspoređene u 3 temeljne podljestvice: pozitivna (7 čestica, PANSS_{pos}), negativna (7 čestica, PANSS_{neg}) i opća psihopatološka ljestvica (16 čestica, PANSS_{gen}). Svaka se čestica boduje vrijednostima od 1 do 7, a težina psihopatologije raste na ljestvici bodovanja (1=odsustvo simptoma, 2=minimalni simptomi, 3=blagi simptomi, 4=umjereni simptomi, 5=umjereni do ozbiljni simptomi, 6=ozbiljni simptomi, 7=ekstremni simptomi) (Kay i sur., 1987). Osim temeljnih podljestvica, postoje i dodatne (Tablica 3) kao što su ljestvice koje se odnose na simptome kognitivnih smetnji (PANSS_{cog}), ekscitacije (PANSS_{exc}), psihoze (PANSS_{psy}) i depresije (PANSS_{dep}) koje su nastala grupacijom određenih čestica temeljnih podljestvica te su, uz temeljne podljestvice, i one uzete u obzir pri evaluaciji ispitanika.

Kriteriji za isključivanje iz studije su podrazumijevali prisutnost neuroloških poremećaja, shizofrenije, demencija, ozljeda glave ili intelektualne inferiornosti.

Studija je provedena uz odobrenje etičkog povjerenstva za istraživanje u Klinici za psihijatriju Vrapče, a samo uzorkovanje je provedeno nakon što su ispitanici dali svoju privolu u obliku potpisanog informiranog pristanka.

Uzorkovanje ispitanika je provedeno natašte u jutarnjim satima. Uzorci venske krvi (8,5 ml) prikupljeni su u staklene vakuumske epruvete s antikoagulansom acid-citrat-dekstroza (ACD) uz odgovarajuće miješanje sadržaja neposredno nakon vađenja krvi.

Tablica 2. Simptomi i pripadajuće temeljne podljestvice PANSS-a

Pozitivna ljestvica (PANSSpos)	Negativna ljestvica (PANSSneg)	Opća psihopatološka ljestvica (PANSSgen)
P1 Sumanutosti	N1 Zatupljen afekt	G1 Somatske brige
P2 Konceptualna dezorganizacija	N2 Emocionalno povlačenje	G2 Anksioznost
P3 Halucinatorno ponašanje	N3 Siromaštvo odnosa	G3 Osjećaj krivnje
P4 Uzbuđenje	N4 Pasivno/apatično socijalno povlačenje	G4 Napetost
P5 Grandioznost	N5 Teškoća u apstraktnom mišljenju	G5 Manirizmi i stav tijela
P6 Sumnjičavost/proganjanje	N6 Nedostatak spontanosti i nesmetanog odvijanja konverzacije	G6 Depresija
P7 Neprijateljstvo	N7 Stereotipno mišljenje	G7 Motorička retardacija
		G8 Nesuradnja
		G9 Neobičan sadržaj misli
		G10 Dezorijentacija
		G11 Oskudna pažnja
		G12 Nedostak rasuđivanja i pronikljivosti
		G13 Poremećaj volje
		G14 Slaba kontrola impulsa
		G15 Zaokupljenost
		G16 Aktivno socijalno izbjegavanje

Tablica 3. Podljestvice PANSS-a korištene pri evaluaciji ispitanika.

Kognitivni simptomi (PANSScog)	P2+N5+G10+G11 (Lindström i sur., 2012)
Simptomi ekscitacije (PANSSexc)	P4+P7+G4+G8+G14 (Švob Štrac i sur., 2016)
Psihotički simptomi (PANSSpsy)	P1+P2+P3+P6 (Švob Štrac i sur., 2016)
Simptomi depresije (PANSSdep)	G1+G2+G3+G6 (Kontaxakis i sur., 2000)

P:čestice pozitivne ljestvice; N:čestice negativne ljestvice; G:čestice opće psihopatološke ljestvice

3.2. Izolacija DNA metodom isoljavanja

Metodom isoljavanja, temeljenoj na metodi koju je uspostavio Miller sa suradnicima (Miller i sur., 1988), izolirana je DNA iz krvi ispitanika.

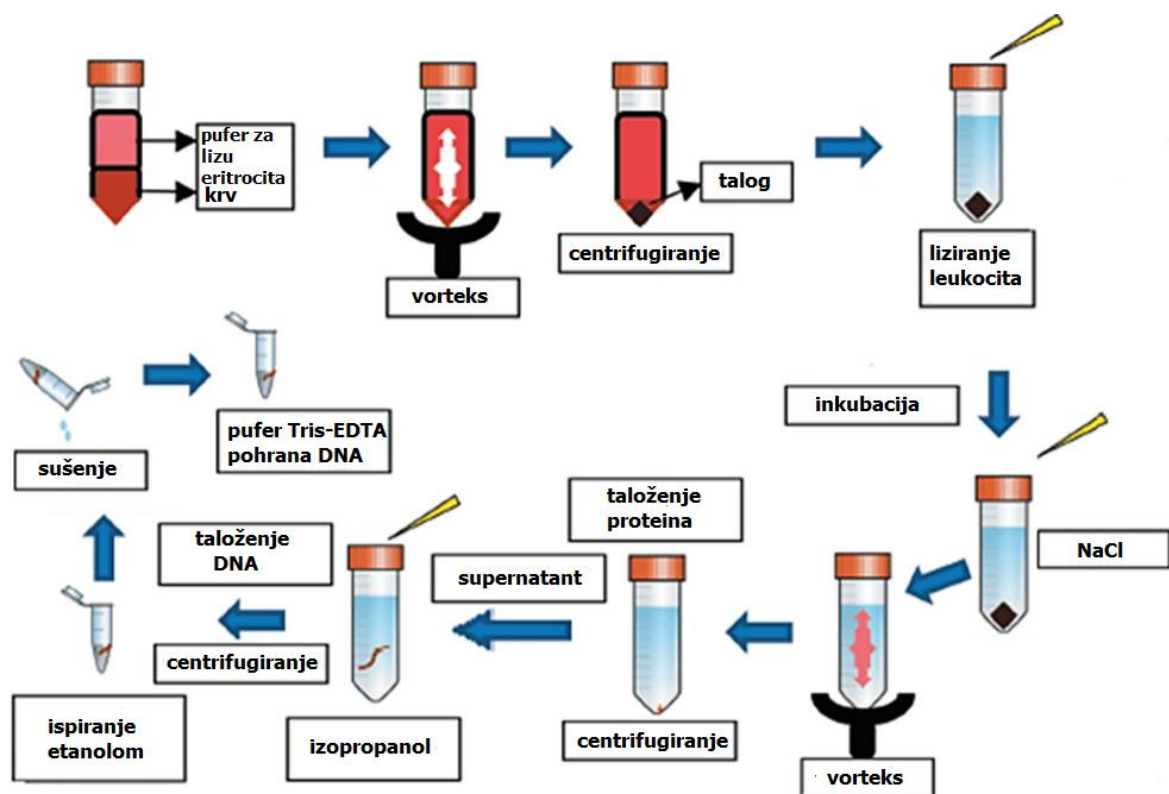
Kemikalije:

- Pufer za lizu eritrocita, pH 7,6: 10 mM Tris (Trizma® base, Sigma Aldrich, SAD), 5 mM MgCl₂ (Kemika, Hrvatska), 10 mM NaCl (Kemika, Hrvatska)
- Pufer Na-EDTA, pH 8: 75 mM NaCl (Kemika, Hrvatska), 25 mM Na₂EDTA (Fluka, Švicarska)
- Proteinaza K (TaKaRa Bio, Japan): 20 mg/ml
- Natrijev dodecil sulfat (SDS) (Sigma Aldrich, SAD): 10%-tna otopina
- NaCl (Kemika, Hrvatska): 5 M otopina u reH₂O
- Etanol (Gram-Mol, min. 99,5%, p.a.): 75%-tna otopina u reH₂O
- Izopropanol (Gram-Mol, min. 99,5%, p.a.)
- Pufer Tris-EDTA, pH 7,6: 10 mM Tris (Trizma base, Sigma Aldrich, SAD), 1 mM EDTA (Fluka, Švicarska)

Postupak

Pohranjeni uzorci krvi se odmrznu pri sobnoj temperaturi te se miješaju na valjkastoj miješalici 15 min dok se ne homogeniziraju. U Eppendorf epruvete od 1,5 ml izdvoji se 300 µl krvi i doda 900 µl hladnog pufera za lizu eritrocita. Dobivena smjesa promiješa se na vorteks miješalici (15-20 s) te ostavi 10 min na ledu radi lize eritrocita. Zatim slijedi postupak centrifugiranja (13400 x g, 2 min, 4°C) pri čemu lizirani eritrociti ostanu u supernatantu, a netaknuti leukociti se istalože. Mikropipetom se ukloni što više supernatanta pazeći da se ne digne talog. Postupak ispiranja istaloženih leukocita puferom za lizu eritrocita ponovi se tri puta kako bi se uklonili svi lizirani eritrociti. Na isprani talog dodaje se 300 µl pufera Na-EDTA i dobro promiješa na vorteks miješalici, potom 30 µl 10% SDS-a i 1,5 µl proteinaze K. Eppendorf epruvete se zatvore, a sadržaj se lagano promiješa. Slijedi inkubacija u trajanju od 2 sata na 56°C uz miješanje (500 rpm) pri čemu se leukociti liziraju. Nakon inkubacije i hlađenja uzorka pri sobnoj temperaturi dodaje se 250 µl 5M NaCl-a te se dobivena smjesa kratko promiješa na vorteks miješalici i centrifugira (13400 x g, 5 min, 4°C). Nakon centrifugiranja DNA ostaje u supernatantu, a ostali stanični dijelovi u talogu. Supernatant se

prelije u nove Eppendorf epruvete te mu se dodaje 800 μ l hladnog izopropanola. Eppendorf epruvete se zatvore i nekoliko puta lagano okrenu, sve dok se ne pojavi precipitat DNA koji se istaloži centrifugiranjem (12000 x g, 2 min, 4°C). Supernatant se odlije, a talog ispere s 250 μ l 75%-tnog etanola i centrifugira pri 12000 x g, 2 min, nakon čega se supernatant ponovno odlije. Eppendorf epruvete se ocijede na papiru i ostave 15-30 min otvorene u termobloku na 37°C, kako bi etanol ishlapio. Na talog se doda 100 μ l pufera Tris-EDTA te se uzorci ostave preko noći na sobnoj temperaturi kako bi se DNA u potpunosti otopila. DNA se potom pohrani na -20°C. Koncentracija i čistoća dobivene DNA određuje se spektrofotometrijski pomoću uređaja NanoDrop 2000c UV-Vis Spectrophotometer (Thermo Scientific). Koncentracija DNA izolirane metodom isoljavanja iz 300 μ l pune krvi te pohranjene u puferu Tris-EDTA iznosi u prosjeku oko 100 ng/ μ l.

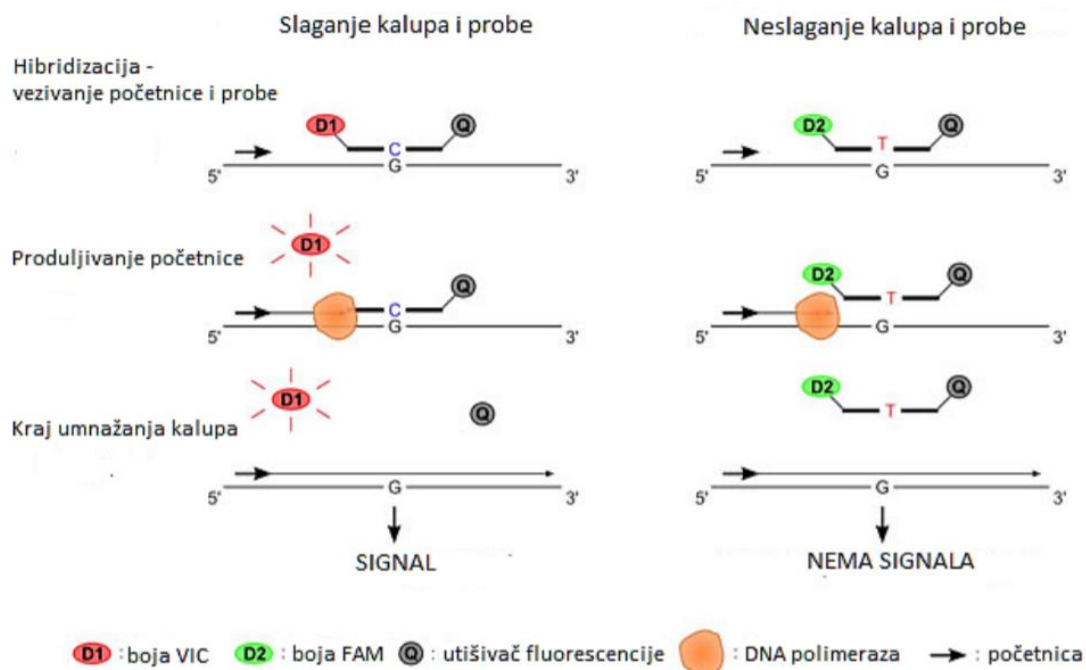


Slika 8. Postupak izolacije DNA iz krv metodom isoljavanja (Preuzeto iz Nikolac Perković, 2015)

3.3. Genotipizacija obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT*

Polimorfizam rs4680 gena *COMT* je polimorfizam zamjene jedne baze (G/A). Pomoću metode lančane reakcije polimerazom (PCR, eng. Polymerase Chain Reaction) u stvarnom vremenu (eng. real-time PCR) provodi se određivanje genotipova. Lančana reakcija polimerazom u stvarnom vremenu je modificirana metoda klasičnog PCR-a za pouzdanu i preciznu kvantifikaciju umnažanja specifičnih molekula nukleinskih kiselina. Uz određivanje polimorfizma jednog nukleotida, osnovne primjene metode PCR-a u stvarnom vremenu su apsolutna i relativna kvantifikacija.

Za potrebe određivanja genotipova (Slika 9) reakcijska smjesa, uz DNA kalup, dNTP-ove, početnice, termostabilnu DNA-polimerazu i pripadajući pufer, sadrži i dvije fluorescentno obilježene oligonukleotidne probe koje se specifično vežu na komplementarna polimorfna mjesta na DNA kalupu. Na 5' kraju svaka je proba obilježena je jednom od dviju fluorescentnih boja (VIC ili FAM). Obje probe na 3' kraju imaju vezan utišivač fluorescencije (NFQ, eng. Non Fluorescent Quencher) koji sprječava fluorescenciju kada je proba vezana za komplementarni slijed. Termostabilna DNA polimeraza tijekom produljivanja početnica svojom 5'-3' egzonukleaznom aktivnošću pocijepa vezane probe. Nakon toga boja više nije pod utjecajem utišivača te počinje fluorescirati. Pojava fluorescencije se bilježi kao signal. Genotip pojedinog uzorka određuje se obzirom na jačinu i vrstu fluorescentnog signala. Ukoliko je zabilježen signal jedne boje, riječ je o homozigotnom genotipu, a prisutnost fluorescencije obiju boja upućuje na heterozigotan genotip. Uređaj bilježi razinu fluorescencije dva puta, početnu razinu prije početka reakcije umnažanja genomske DNA te konačnu razinu po završetku reakcije. Kao konačni rezultat računalni program daje ispis razine fluorescencije za svaku boju u svakom pojedinom uzorku te dobivene rezultate prikazuje grafički.



Slika 9. Shematski prikaz metode lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu. (Preuzeto iz Nikolac Perković, 2015).

Postupak

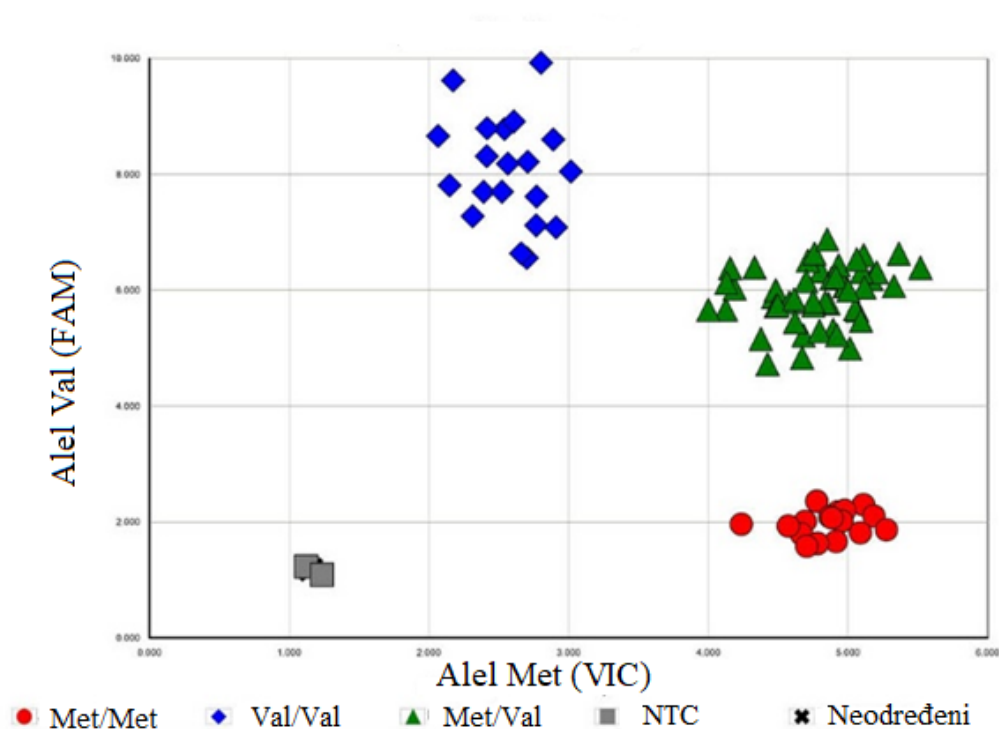
U ovom je radu za genotipizaciju obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* metodom PCR-a u stvarnom vremenu upotrijebljena genomska DNA ispitanika prethodno izolirana iz pune krvi metodom izoliranja. Pri tome je upotrijebljen komercijalno dostupan komplet 'TaqMan SNP Genotyping Assay', ID: C__25746809_50 (Applied Biosystems, SAD) te je prema uputama proizvođača genotipizacija provedena u uređaju ABI Prism 7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems, SAD). Reakcijska smjesa za PCR u stvarnom vremenu ukupnog volumena 10 µl pripremljena je prema Tablici 4, dok su uvjeti reakcije prikazani u Tablici 5. Slika 10 prikazuje primjer grafičkog prikaza rezultata dobivenog pri određivanju polimorfizma rs4680 gena *COMT*.

Tablica 4. Sastav reakcijske smjese za genotipizaciju metodom lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu.

SASTOJAK	VOLUMEN (µl)
2 x TaqMan® matična mješavina za genotipizaciju	5 (konačna koncentracija 1 x)
20 x TaqMan® mješavina početnica i proba	0,5 (konačna koncentracija 1 x)
Genomska DNA razrijeđena u deH ₂ O	4,5 (konačna količina DNA 1-20 ng)

Tablica 5. Uvjeti reakcije genotipizacije metodom lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu.

KORAK	TEMPERATURA	VRIJEME	BROJ CIKLUSA
Početni korak	95°C	10 min	1
Denaturacija	92°C	15 s	
Vezanje i produljivanje početnica	60°C	90 s	50



Slika 10. Primjer grafičkog prikaza rezultata genotipizacije metodom lančane reakcije polimeraze u stvarnom vremenu obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT*. NTC: negativna kontrola u kojoj nema kalup; VIC, FAM: fluorescentne boje.

3.4 Statistička obrada podataka

U statističkom programu Sigma Stat 3,5 (Jandell Scientific Corp., SAD) provedena je analiza dobivenih podataka. U svrhu provjere odstupanja distribucije genotipova od Hardy-Weinbergove ravnoteže (HWE) upotrijebljen je χ^2 -test. Numerički podaci, poput ostvarenih bodova na ljestvici pozitivnih i negativnih simptoma, između pojedinih skupina su, zbog nenormalnosti distribucije testirane Kolmogorov-Smirnov testom, uspoređeni pomoću neparametrijskih Mann-Whitney, odnosno Kruskal-Wallis testa. Razina značajnosti α postavljena je na 0,05.

4. Rezultati

4.1. Pušenje i ostvaren broj PANSS bodova

U istraživanje su bila uključena 573 muškarca oboljela od PTSP-a izazvanog ratnim iskustvom. Uzorci DNA ispitanika studije su poslužili za provođenje genotipizacije s obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT*. Težina simptoma ispitanika procijenjenih prema ljestvici PANSS uspoređena je između nosioca različitih genotipova obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* kako bi se utvrdilo postojanje povezanosti između genotipa *COMT* i težine simptoma prema PANSS-u. S obzirom na status pušenja ispitanici su bili podijeljeni na pušače (≥ 10 cigareta po danu; N=380) i nepušače (nikad pušač; N=193). Na svim ispitanicima napravljena je klinička evaluacija težine simptoma pri čemu je korištena ljestvica pozitivnih i negativnih simptoma te njezine podljestvice. Dob ispitanika i broj bodova ostvaren na ljestvicama izraženi su kao medijan (1.-3. kvartil). Dob čitave ispitivane skupine iznosila je 51 (44-59) godina.

Zbog eliminacije potencijalnih vanjskih čimbenika koji bi mogli imati značajan učinak na ishod eksperimenta, ponajprije se ispitao utjecaj pušenja na broj bodova koje su ispitanici ostvarili na PANSS-u. Postojanje povezanosti pušenja i broja bodova ostvarenih na ljestvicama (PANSScog, PANSSexc, PANSSpsy, PANSSdep, PANSSpos, PANSSneg, PANSSgen, PANSStot) ispitano je testom Mann-Whitney (Tablica 6). Rezultati testa pokazuju da postoji značajna razlika između pušača i nepušača u broju bodova postignutih na podljestvicama za kogniciju ($P=0,038$) i depresiju ($P=0,030$), općoj psihopatološkoj ljestvici ($P=0,028$) te u ukupnom broju ostvarenih bodova ($P=0,020$) (Tablica 6). Na svim navedenim ljestvicama pušači su ostvarili veći broj bodova u odnosu na nepušače (Tablica 6). Dobivene razlike između pušača i nepušača pokazuju da ovisnost o pušenju značajno utječe na broj ostvarenih bodova na PANSS-u. Sukladno tome, daljnje analize su napravljene uz podjelu ispitanika po pušenju.

Tablica 6. Dob i bodovi ostvareni na ljestvici pozitivnih i negativnih simptoma kod ispitanika podijeljenih po pušenju.

	Pušači (N=380)	Nepušači (N=193)	Mann-Whitney test
Dob (godine)	51 (43-59)	51 (44-57)	U=36,11 P=0,843
PANSScog	7 (5-8)	6 (5-8)	U=32824,00 P=0,038
PANSSexc	12 (10-13)	11 (10-13)	U=33295,5 P=0,069
PANSSpsy	6 (4-8)	6 (4-8)	U=34169,0 P=0,173
PANSSdep	11 (9-12)	10 (9-11)	U=32631,5 P=0,030
PANSSpos	13 (9-14)	12 (7-14)	U=33840,0 P=0,127
PANSSneg	13 (9-14)	12 (9-14)	U=33530,0 P=0,092
PANSSgen	32 (30-36)	32 (28-34)	U=32568,5 P=0,028
PANSStot	57 (50-63)	55 (48-61)	U=32327,0 P=0,020

Dob ispitanika i broj ostvarenih PANSS bodova izraženi su kao medijan (1.-3. kvartil). Značajni rezultati prikazani su podebljano. N: broj ispitanika; Nepušač: osoba koja nikad nije pušila; Pušač: osoba koja puši ≥ 10 cigareta po danu; PANSScog: podljestvica PANSS za kogniciju; PANSSexc: podljestvica PANSS za ekscitaciju; PANSSpsy: podljestvica PANSS za psihotičnost; PANSSdep: podljestvica PANSS za depresiju; PANSSpos: pozitivna ljestvica; PANSSneg: negativna ljestvica; PANSSgen: opća psihopatološka ljestvica; PANSStot: ukupan broj PANSS bodova; U-vrijednost statistike Mann-Whitney; P: razina značajnosti.

4.2. Povezanost polimorfizma rs4680 gena *COMT* i ostvarenih PANSS bodova

Iz periferne krvi ispitanika metodom izoliranja izolirana je DNA. Na izoliranim uzorcima DNA provedena je genotipizacija obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* pomoću PCR-a u stvarnom vremenu. Utvrđeno je da je 153 ispitanika imalo genotip Met/Met, 279 genotip Met/Val te 141 genotip Val/Val. Kako bi se provjerilo postoji li odstupanje dobivenih genotipova obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* od HWE proveden je χ^2 -test. Za navedeni polimorfizam na svim ispitanicima utvrđeno je da ne postoji odstupanje raspodjele

genotipova od HWE ($\chi^2=0,16$; $P=0,685$). Nakon podjele po pušenju među 380 pušača 98 ispitanika imalo je genotip Met/Met, 186 genotip Met/Val te 96 genotip Val/Val. Nadalje, među 193 nepušača 55 ispitanika imalo je genotip Met/Met, 93 Met/Val te 45 Val/Val. Postoji li odstupanje dobivenih genotipova obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* od HWE provjereno je χ^2 -test-om i nakon podjele po pušenju, pri čemu je ustanovljeno da ne postoji odstupanje raspodjele genotipova od HWE niti među pušačima ($\chi^2=0,17$; $P=0,682$), niti među nepušačima ($\chi^2=0,02$; $P=0,884$). Kod obje skupine (pušači i nepušači) proveden je neparametrijski Kuruskal-Wallis test u svrhu ispitivanja postojanja razlika u broju ostvarenih PANSS bodova između ispitanika različitih genotipova obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT*. Kod statistički značajnih rezultata skupine su unakrsno uspoređivane posthoc Dunnovim testom kako bi se detektirala razlika koja najviše doprinosi značajnom rezultatu. Naposljetku, s ciljem provjere doprinosa pojedinog alela (Met i Val) obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* broju ostvarenih PANSS bodova, korišten je Mann-Whitney test. Pritom su ispitanici u obje skupine podijeljeni na Val nosioce (genotipovi Val/Val, Val/Met) i Met homozigote (genotip Met/Met), odnosno Met nosioce (genotipovi Met/Met, Met/Val) i Val homozigote (genotip Val/Val).

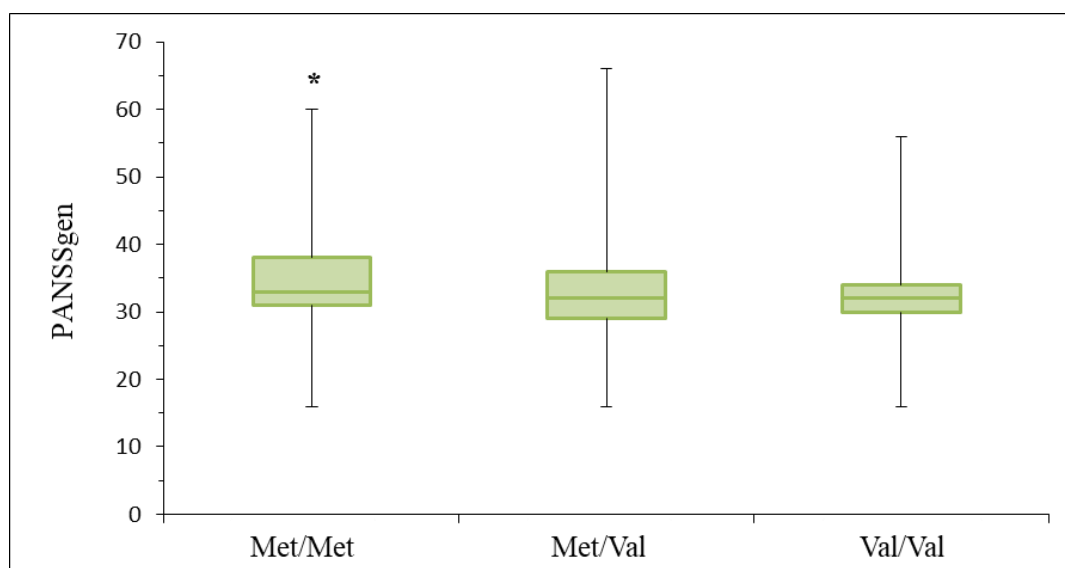
4.2.1. Povezanost polimorfizma rs4680 gena *COMT* i ostvarenih PANSS bodova kod pušača

Rezultati Kuruskal-Wallis testa kod pušača pokazali su da između osoba različitih genotipova postoji značajna razlika ($P=0,028$) samo u broju ostvarenih bodova na općoj psihopatološkoj ljestvici (Tablica 7). Za taj rezultat, posthoc Dunn testom (Slika 11) utvrđena je statistički značajna razlika ($P=0,050$) između genotipova heterozigota i homozigota za alel Met, pri čemu su heterozigoti imali niži broj ostvarenih bodova u odnosu na osobe genotipa Met/Met.

Tablica 7. Povezanost genotipova obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i ostvarenih bodova na podljestvicama PANSScog, PANSSexc, PANSSpsy, PANSSdep, PANSSpos, PANSSneg, PANSSgen i PANSStot kod pušača.

Genotip	Met/Met (N=98)	Met/Val (N=186)	Val/Val (N=96)	Kruskal-Wallis test
PANSScog	7 (5-8)	7 (5-8)	7 (5-8)	H=0,46 P=0,794
PANSSexc	12 (10-13)	12 (10-13)	12 (10-13)	H=0,56 P=0,758
PANSSpsy	6 (4-8)	6 (4-8)	6 (4-8)	H=0,00 P=0,998
PANSSdep	11 (9-12)	11 (9-12)	10 (9-12)	H=2,93 P=0,231
PANSSpos	13 (8-14)	13 (9-14)	13 (9-15)	H=0,09 P=0,956
PANSSneg	13 (9-15)	12 (9-14)	13 (10-14)	H=2,00 P=0,367
PANSSgen	33 (31-38)	32 (29-36)	32 (30-34)	H=7,12 P=0,028
PANSStot	59 (52-66)	57 (50-62)	57 (51-61)	H=2,67 P=0,263

Broj ostvarenih PANSS bodova izražen je kao medijan (1.-3. kvartil). Značajni rezultati prikazani su podebljano. N: broj ispitanika; Met/Met: homozigoti za alel Met; Met/Val: heterozigoti; Val/Val: homozigoti za alel Val; PANSScog: podljestvica PANSS za kogniciju; PANSSexc: podljestvica PANSS za ekscitaciju; PANSSpsy: podljestvica PANSS za psihotičnost; PANSSdep: podljestvica PANSS za depresiju; PANSSpos: pozitivna ljestvica; PANSSneg: negativna ljestvica; PANSSgen: opća psihopatološka ljestvica; PANSStot: ukupan broj PANSS bodova; H: vrijednost statistike Kuruskal Wallis; P: razina značajnosti.



Slika 11. Povezanost genotipova obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i ostvarenih bodova na podljestvici PANSSgen kod pušača (*Met/Met vs Met/Val; $P=0,050$; posthoc Dunn test). Na grafu središnji pravokutnik prikazuje vrijednosti od 1. do 3. kvartila, središnja linija prikazuje medijan, a horizontalne linije se kreću od minimalne do maksimalne vrijednosti. Met/Met: homozigoti za alel Met; Met/Val: heterozigoti; Val/Val: homozigoti za alel Val; PANSSgen: opća psihopatološka ljestvica.

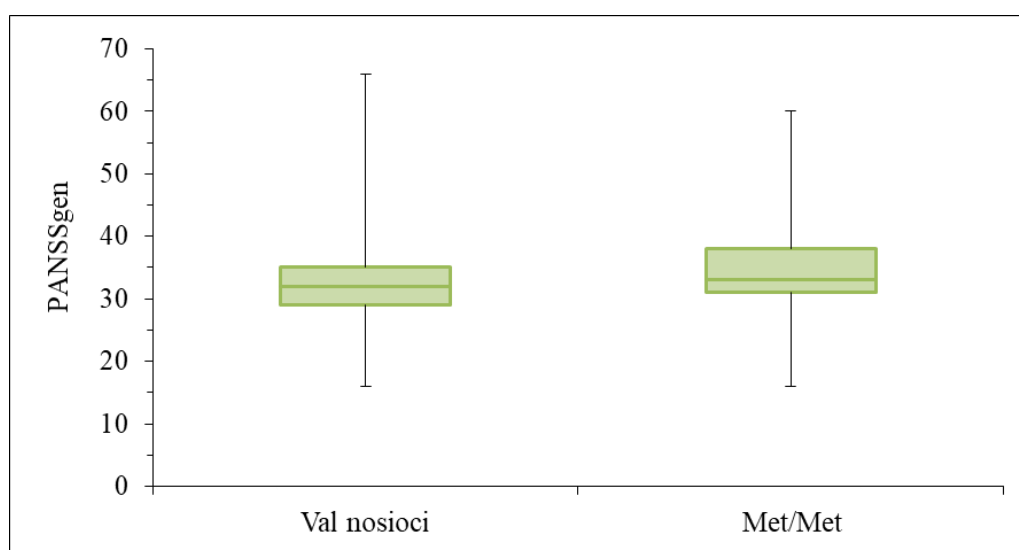
Nakon podjele na nosioce alela Val (Tablica 8) odnosno Met (Tablica 9), značajna razlika ($P=0,008$) dobivena je između Val nosioca i Met homozigota u broju bodova na općoj psihopatološkoj ljestvici (Tablica 8, Slika 12). U tom su slučaju Val nosioci ostvarili niži broj bodova u odnosu na Met homozigote (Tablica 8).

Tablica 8. Povezanost nosioca alela Val obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i ostvarenih bodova na podljestvicama PANSScog, PANSSexc, PANSSpsy, PANSSdep, PANSSpos, PANSSneg, PANSSgen i PANSStot kod pušača.

Genotip	Val nosioci (N=282)	Met homozigoti (N=98)	Mann-Whitney test
PANSScog	7 (5-8)	7 (5-8)	U=13190,00 P=0,497
PANSSexc	12 (10-13)	12 (10-13)	U=13132,5 P=0,460
PANSSpsy	6 (4-8)	6 (4-8)	U=13786,0 P=0,972
PANSSdep	10 (9-12)	11 (9-12)	U=12235,0 P=0,088

Genotip	Val nosioci (N=282)	Met homozigoti (N=98)	Mann-Whitney test
PANSSpos	13 (9-15)	13 (8-14)	U=13547,0 P=0,771
PANSSneg	12 (9-14)	13 (9-15)	U=12559,5 P=0,177
PANSSgen	32 (29-35)	33 (31-38)	U=11340,0 P=0,008
PANSStot	57 (50-62)	59 (52-66)	U=12289,5 P=0,103

Broj ostvarenih PANSS bodova izražen je kao medijan (1.-3. kvartil). Značajni rezultati prikazani su podebljano. N: broj ispitanika; Val nosioci: homozigoti za alel Val i heterozigoti; PANSScog: podljestvica PANSS za kogniciju; PANSSexc: podljestvica PANSS za ekscitaciju; PANSSpsy: podljestvica PANSS za psihotičnost; PANSSdep: podljestvica PANSS za depresiju; PANSSpos: pozitivna ljestvica; PANSSneg: negativna ljestvica; PANSSgen: opća psihopatološka ljestvica; PANSStot: ukupan broj PANSS bodova; U: vrijednost statistike Mann Whitney; P: razina značajnosti.



Slika 12. Povezanost nosioca alela Val obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i ostvarenih bodova na podljestvici PANSSgen kod pušača (U=11340,0; P=0,008; Mann-Whitney test). Na grafu središnji pravokutnik prikazuje vrijednosti od 1. do 3. kvartila, središnja linija prikazuje medijan, a horizontalne linije se kreću od minimalne do maksimalne vrijednosti. Val nosioci: homozigoti za alel Val i heterozigoti; Met/Met: homozigoti za alel Met; PANSSgen: opća psihopatološka ljestvica.

Tablica 9. Povezanost nosioca alela Met obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i ostvarenih bodova na podljestvicama PANSScog, PANSSexc, PANSSpsy, PANSSdep, PANSSpos, PANSSneg, PANSSgen i PANSStot kod pušača.

Genotip	Met nosioci (N=284)	Val homozigoti (N=96)	Mann-Whitney test
PANSScog	7 (5-8)	7 (5-8)	U=13387,5 P=0,790
PANSSexc	12 (10-13)	12 (10-13)	U=13484,0 P=0,873
PANSSpsy	6 (4-8)	6 (4-8)	U=13584,5 P=0,959
PANSSdep	11 (9-12)	10 (9-12)	U=12963,0 P=0,468
PANSSpos	13 (9-14)	13 (9-15)	U=13599,5 P=0,972
PANSSneg	13 (9-14)	13 (10-14)	U=13570,5 P= 0,947
PANSSgen	32 (30-36)	32 (30-34)	U=12534,0 P=0,237
PANSStot	57 (50-64)	57 (51-61)	U=13176,5 P=0,624

Broj ostvarenih PANSS bodova izražen je kao medijan (1.-3. kvartil). Značajni rezultati prikazani su podebljano. N: broj ispitanika; Met nosioci: homozigoti za alel Met i heterozigoti; PANSScog: podljestvica PANSS za kogniciju; PANSSexc: podljestvica PANSS za ekscitaciju; PANSSpsy: podljestvica PANSS za psihotičnost; PANSSdep: podljestvica PANSS za depresiju; PANSSpos: pozitivna ljestvica; PANSSneg: negativna ljestvica; PANSSgen: opća psihopatološka ljestvica; PANSStot: ukupan broj PANSS bodova; U: vrijednost statistike Mann Whitney; P: razina značajnosti.

4.2.2. Povezanost polimorfizma rs4680 i ostvarenih PANSS bodova kod nepušača

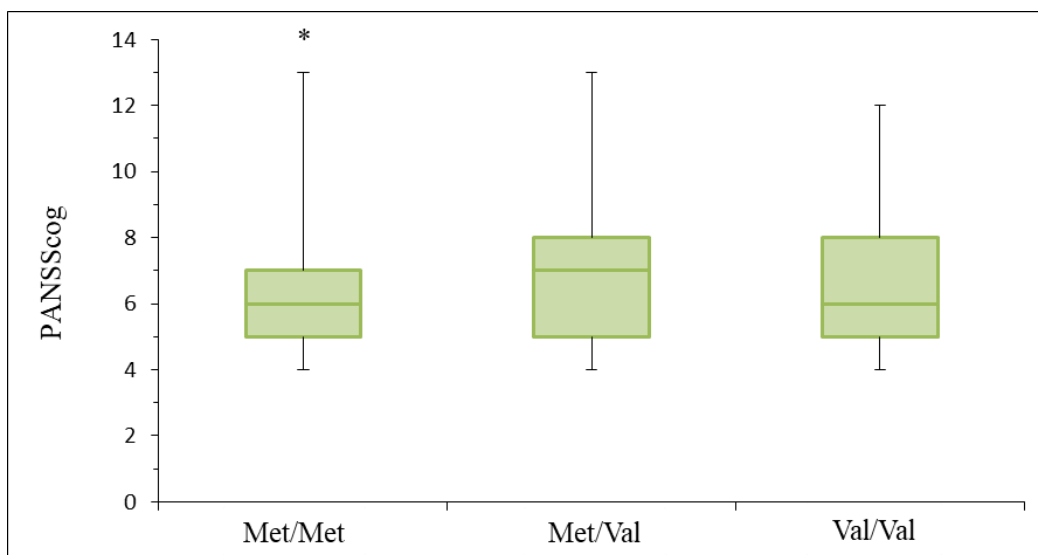
Kod nepušača, rezultati Kuruskal-Wallis testa pokazali su da postoji statistički značajna razlika između osoba različitih genotipova u broju bodova ostvarenih na podljestvicama PANSScog (P=0,024), PANSSexc (P=0,028) i PANSSpsy (P=0,049) (Tablica 10). Posthoc Dunn testom utvrđena je razlika u broju ostvarenih PANSScog bodova između Met homozigota i heterozigota (P=0,022, Slika 13) i PANSSexc bodova između Met homozigota i Val homozigota (P=0,049, Slika 14), dok kod PANSSpsy bodova (Slika 15) unakrsno ispitivanje grupa nije rezultiralo statistički značajnom razlikom. Osobe genotipa Met/Met su

ostvarile manji broj bodova u odnosu na heterozigote na PANSScog, odnosno homozigote za alel Val na PANSSexc (Tablica 10).

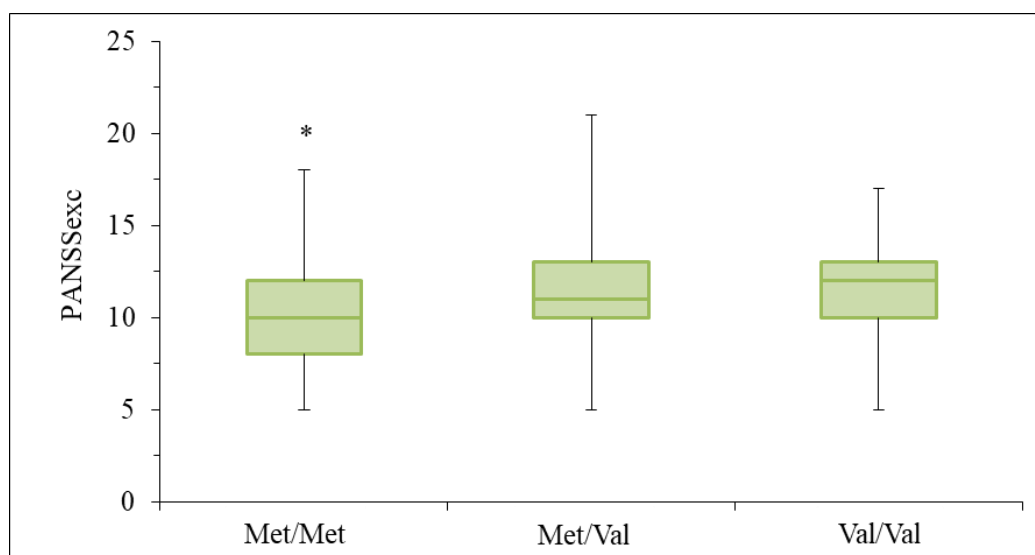
Tablica 10. Povezanost genotipova obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i ostvarenih bodova na podljestvicama PANSScog, PANSSexc, PANSSpsy, PANSSdep, PANSSpos, PANSSneg, PANSSgen i PANSStot kod nepušača.

Genotip	Met/Met (N=55)	Met/Val (N=93)	Val/Val (N=45)	Kruskal-Wallis test
PANSScog	6 (5-7)	7 (5-8)	6 (5-8)	H=7,45 P=0,024
PANSSexc	10 (8-12)	11 (10-13)	12 (10-13)	H=7,16 P=0,028
PANSSpsy	5 (4-7)	6 (4-8)	7 (4-8)	H=6,03 P=0,049
PANSSdep	9 (8-11)	10 (9-12)	10 (9-11)	H=3,02 P=0,221
PANSSpos	9 (7-14)	12 (8-15)	13 (9-14)	H=3,40 P=0,183
PANSSneg	11 (8-13)	12 (10-14)	12 (10-14)	H=2,16 P=0,340
PANSSgen	30 (28-34)	32 (29-36)	32 (29-34)	H=3,75 P=0,154
PANSStot	51 (46-61)	55 (50-63)	56 (50-59)	H=4,48 P=0,106

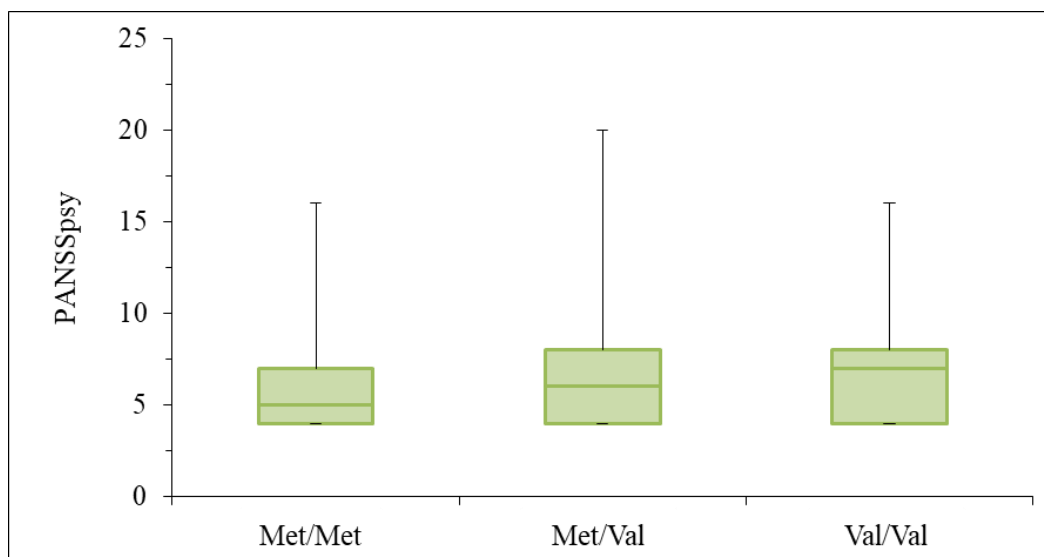
Broj ostvarenih PANSS bodova izražen je kao medijan (1.-3. kvartil). Značajni rezultati prikazani su podebljano. N: broj ispitanika; Met/Met: homozigoti za alel Met; Met/Val: heterozigoti; Val/Val: homozigoti za alel Val; PANSScog: podljestvica PANSS za kogniciju; PANSSexc: podljestvica PANSS za ekscitaciju; PANSSpsy: podljestvica PANSS za psihotičnost; PANSSdep: podljestvica PANSS za depresiju; PANSSpos: pozitivna ljestvica; PANSSneg: negativna ljestvica; PANSSgen: opća psihopatološka ljestvica; PANSStot: ukupan broj PANSS bodova; H: vrijednost statistike Kruskal Wallis; P: razina značajnosti.



Slika 13. Povezanost genotipova obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i ostvarenih bodova na podljestvici PANSScog kod nepušača (*Met/Met vs Met/Val; $P=0,022$; posthoc Dunn test). Na grafu središnji pravokutnik prikazuje vrijednosti od 1. do 3. kvartila, središnja linija prikazuje medijan, a horizontalne linije se kreću od minimalne do maksimalne vrijednosti. Met/Met: homozigoti za alel Met; Met/Val: heterozigoti; Val/Val: homozigoti za alel Val; PANSScog: podljestvica PANSS za kogniciju.



Slika 14. Povezanost genotipova obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i ostvarenih bodova na podljestvici PANSSexc kod nepušača (*Met/Met vs Val/Val; $P=0,049$; posthoc Dunn test). Na grafu središnji pravokutnik prikazuje vrijednosti od 1. do 3. kvartila, središnja linija prikazuje medijan, a horizontalne linije se kreću od minimalne do maksimalne vrijednosti. Met/Met: homozigoti za alel Met; Met/Val: heterozigoti; Val/Val: homozigoti za alel Val; PANSSexc: podljestvica PANSS za ekscitaciju.



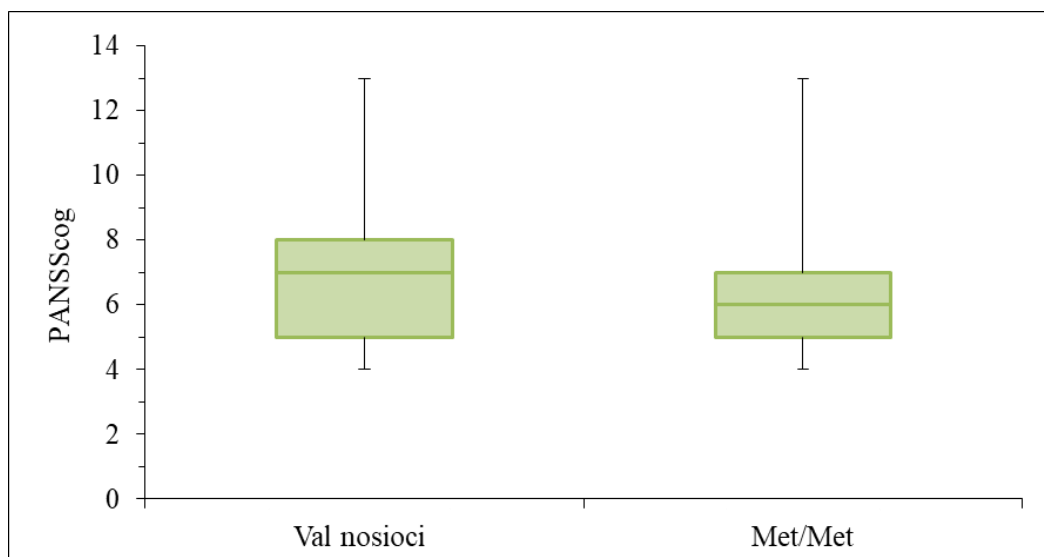
Slika 15. Povezanost genotipova obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i ostvarenih bodova na podljestvici PANSSpsy kod nepušača (unakrsno uspoređivanje grupa pomoću posthoc Dunn testa nije rezultiralo značajnom razlikom). Na grafu središnji pravokutnik prikazuje vrijednosti od 1. do 3. kvartila, središnja linija prikazuje medijan, a horizontalne linije se kreću od minimalne do maksimalne vrijednosti. Met/Met: homozigoti za alel Met; Met/Val: heterozigoti; Val/Val: homozigoti za alel Val; PANSSpsy: podljestvica PANSS za psihotičnost.

Pri provjeri povezanosti prisutnosti pojedinog alela (Val ili Met) i broja ostvarenih PANSS bodova, Mann-Whitney test (Tablica 11, Tablica 12) je pokazao postojanje značajne razlike između Val nosioca i Met homozigota u broju bodova na podljestvicama PANSScog ($P=0,020$, Slika 16), PANSSexc ($P=0,009$, Slika 17), PANSSpsy ($P=0,014$, Slike 18) i PANSStot ($P=0,040$, Slika 19). Pritom su Val nosioci uvijek ostvarili veći broj bodova u odnosu na Met homozigote (Tablica 11).

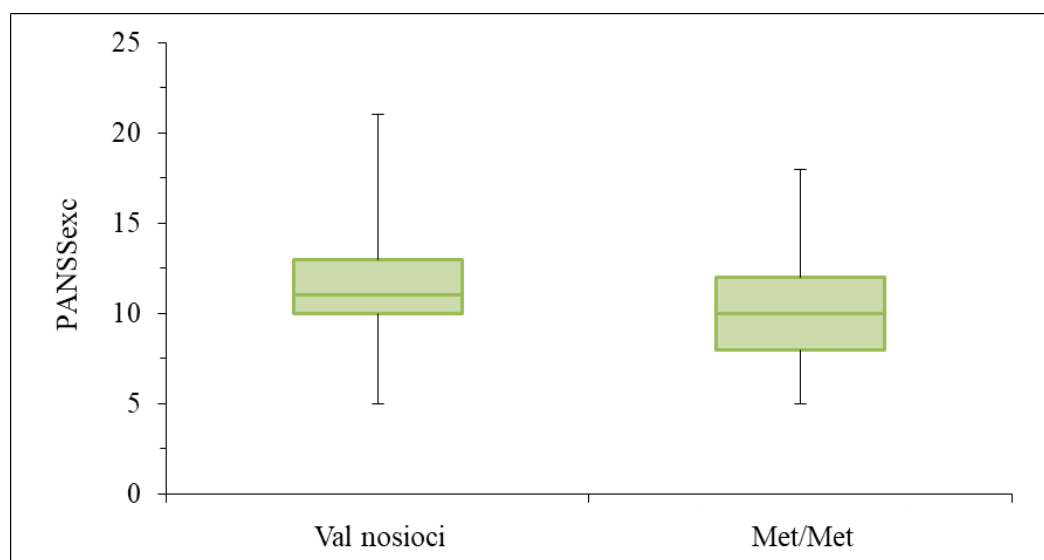
Tablica 11. Povezanost nosioca alela Val obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i postignutih bodova na podljestvicama PANSScog, PANSSexc, PANSSpsy, PANSSdep, PANSSpos, PANSSneg, PANSSgen i PANSStot kod nepušača.

Genotip	Val nosioci (N=138)	Met homozigoti (N=55)	Mann-Whitney test
PANSScog	7 (5-8)	6 (5-7)	U=2989,00 P=0,020
PANSSexc	11 (10-13)	10 (8-12)	U=2884,00 P=0,009
PANSSpsy	6 (4-8)	5 (4-7)	U=2958,50 P=0,014
PANSSdep	10 (9-11)	9 (8-11)	U=3245,00 P=0,113
PANSSpos	12 (8-15)	9 (7-14)	U=3158,50 P=0,065
PANSSneg	12 (10-14)	11 (8-13)	U=3313,50 P=0,167
PANSSgen	32 (29-35)	30 (28-34)	U=3226,00 P=0,103
PANSStot	56 (50-61)	51 (46-61)	U=3077,0 P=0,040

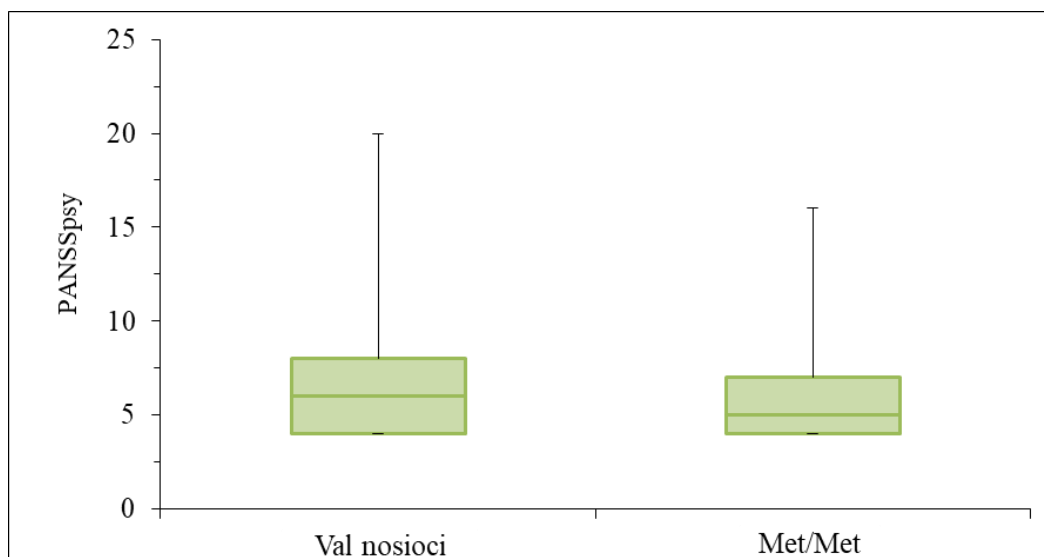
Broj ostvarenih PANSS bodova izražen je kao medijan (1.-3. kvartil). Značajni rezultati prikazani su podebljano. N: broj ispitanika; Val nosioci: homozigoti za alel Val i heterozigoti; PANSScog: podljestvica PANSS za kogniciju; PANSSexc: podljestvica PANSS za ekscitaciju; PANSSpsy: podljestvica PANSS za psihotičnost; PANSSdep: podljestvica PANSS za depresiju; PANSSpos: pozitivna ljestvica; PANSSneg: negativna ljestvica; PANSSgen: opća psihopatološka ljestvica; PANSStot: ukupan broj PANSS bodova; U: vrijednost statistike Mann Whitney; P: razina značajnosti.



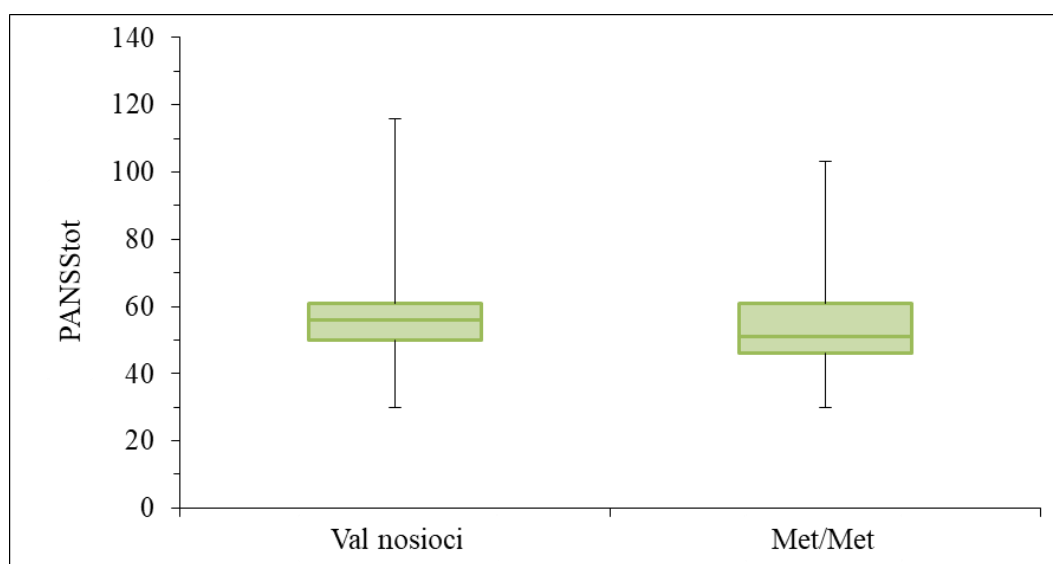
Slika 16. Povezanost nosioca alela Val obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i ostvarenih bodova na podljestvici PANSScog kod nepušača ($U=2989,00$; $P=0,020$; Mann-Whitney test). Na grafu središnji pravokutnik prikazuje vrijednosti od 1. do 3. kvartila, središnja linija prikazuje medijan, a horizontalne linije se kreću od minimalne do maksimalne vrijednosti. Val nosioci: homozigoti za alel Val i heterozigoti; Met/Met: homozigoti za alel Met; PANSScog: podljestvica PANSS za kogniciju.



Slika 17. Povezanost nosioca alela Val obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i ostvarenih bodova na podljestvici PANSSexc kod nepušača ($U= 2884,00$; $P=0,009$; Mann-Whitney test). Na grafu središnji pravokutnik prikazuje vrijednosti od 1. do 3. kvartila, središnja linija prikazuje medijan, a horizontalne linije se kreću od minimalne do maksimalne vrijednosti. Val nosioci: homozigoti za alel Val i heterozigoti; Met/Met: homozigoti za alel Met; PANSSexc: podljestvica PANSS za ekscitaciju.



Slika 18. Povezanost nosioca alela Val obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i ostvarenih bodova na podljestvici PANSSpsy kod nepušača ($U=2958,50$; $P=0,014$; Mann-Whitney test). Na grafu središnji pravokutnik prikazuje vrijednosti od 1. do 3. kvartila, središnja linija prikazuje medijan, a horizontalne linije se kreću od minimalne do maksimalne vrijednosti. Val nosioci: homozigoti za alel Val i heterozigoti; Met/Met: homozigoti za alel Met; PANSSpsy: podljestvica PANSS za psihotičnost.



Slika 19. Povezanost nosioca alela Val obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i ostvarenih bodova na podljestvici PANSSStot kod nepušača ($U=3077,0$; $P=0,040$; Mann-Whitney test). Na grafu središnji pravokutnik prikazuje vrijednosti od 1. do 3. kvartila, središnja linija prikazuje medijan, a horizontalne linije se kreću od minimalne do maksimalne vrijednosti. Val nosioci: homozigoti za alel Val i heterozigoti; Met/Met: homozigoti za alel Met; PANSSStot: ukupan broj PANSS bodova.

Tablica 12. Povezanost nosioca alela Met obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* i postignutih bodova na podljestvicama PANSScog, PANSSexc, PANSSpsy, PANSSdep, PANSSpos, PANSSneg, PANSSgen i PANSStot kod nepušača.

Genotip	Met nosioci (N=148)	Val homozigoti (N=45)	Mann-Whitney test
PANSScog	6 (5-8)	6 (5-8)	U=3162,50 P=0,605
PANSSexc	11 (9-13)	12 (10-13)	U=2871,00 P=0,158
PANSSpsy	6 (4-8)	7 (4-8)	U=3084,00 P=0,441
PANSSdep	10 (9-12)	10 (9-11)	U=3293,50 P=0,910
PANSSpos	12 (7-15)	13 (9-14)	U=3144,50 P=0,567
PANSSneg	12 (9-14)	12 (10-14)	U=3324,50 P=0,987
PANSSgen	32 (28-36)	32 (29-34)	U=3195,50 P=0,681
PANSStot	54 (48-62)	56 (50-59)	U=256,00 P=0,821

Broj ostvarenih PANSS bodova izražen je kao medijan (1.-3. kvartil). Značajni rezultati prikazani su podebljano. N: broj ispitanika; Met nosioci: homozigoti za alel Met i heterozigoti; PANSScog: podljestvica PANSS za kogniciju; PANSSexc: podljestvica PANSS za ekscitaciju; PANSSpsy: podljestvica PANSS za psihotičnost; PANSSdep: podljestvica PANSS za depresiju; PANSSpos: pozitivna ljestvica; PANSSneg: negativna ljestvica; PANSSgen: opća psihopatološka ljestvica; PANSStot: ukupan broj PANSS bodova; U: vrijednost statistike Mann Whitney; P: razina značajnosti.

5. Rasprava

U ovom je radu ispitana povezanost genotipova i alela obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* s težinom psihopatoloških simptoma PTSP-a evaluiranih prema ljestvici pozitivnih i negativnih simptoma. Ispitivanje je uključilo 573 hrvatska ratna veterana oboljela od PTSP-a.

Kao i u slučajevima drugih mentalnih poremećaja (Minichino i sur., 2013), epidemiološka i klinička istraživanja pokazala su jaku povezanost PTSP-a i pušenja, osobito među oboljelim ratnim veteranima (Feldner i sur., 2007; Fu i sur., 2007). U našem uzorku hrvatskih ratnih veterana oboljelih od PTSP-a udio pušača bio je 66%. Nadalje, u ovom je radu uočena povezanost pušenja i težine psihopatologije ispitanika evaluirane prema PANSS-u. Naime, pušači su ostvarili značajno veći broj bodova u odnosu na nepušače na PANSScog, PANSSdep, PANSSgen i PANSStot. Kada je riječ o PANSSpos, PANSSneg, PANSSpsy i PANSSexc bitna razlika između pušača i nepušača je izostala. Dobiveni rezultati se djelomično preklapaju s prethodnom studijom koja je također provedena na hrvatskim ratnim veteranima (Švob Štrac i sur., 2016) te evaluirala ispitanike koristeći PANSSpsy, PANSSexc i PANSStot. Pritom nije pronađen značajan utjecaj pušenja na ostvaren broj bodova na tim podljestvicama. Međutim, zbog preklapanja neurobiološke podloge PTSP-a i ovisnosti (Logrip i sur., 2012), dobiveni rezultati nisu zanemarivi. Štoviše, nikotin interferira s dopaminergičkim sustavom čiji se poremećaji funkcija nalaze u osnovi psihoza (Quigley i MacCabe, 2019). Uzimajući u obzir uočenu veću učestalost pušenja u osoba s PTSP-om u odnosu na zdravu populaciju (Forbes i sur., 2015), kao i povezanost ozbiljnosti simptoma PTSP-a s težom ovisnošću o pušenju (Cook i sur., 2009), dobivena razlika između pušača i nepušača može se objasniti teorijom o samoliječenju (eng.self-medication theory; Khantzian i sur., 1997) koja pretpostavlja uporabu supstanca kao pokušaj ublažavanja i suočavanja sa simptomima. Štoviše, studije su pokazale da su pušači s PTSP-om skloni pušenju kao odgovoru na stres ili simptome PTSP-a, dok pušači bez PTSP-a teže pušenju kao odgovoru na drugačije prethodnike, kao što su smanjenje negativnog afekta, dosada, glad i nemir (Beckham i sur., 2005). Naposljetku, novija su istraživanja usmjerena prema uključivanju tretmana za prestanak pušenja u terapije za liječenje PTSP-a (Battaglia i sur., 2016; Dedert i sur., 2016; Feldner i sur., 2013).

Najistraživaniji polimorfizam gena *COMT* nalazi se u njegovom 4. egzonu i uključuje G/A supstituciju koja dovodi do zamjene aminokiseline Val aminokiselinom Met na poziciji 158 (MB-COMT) odnosno 108 (S-COMT) (Lotta i sur., 1995). Rezultati prethodnih studija o

povezanosti polimorfizma rs4680 gena *COMT* i rizika razvoja PTSP-a su kontradiktorni i nekonzistentni (Boscarino i sur., 2011; Clark i sur., 2013; Goenjian i sur., 2015; Humphreys i sur., 2014; Kolossa i sur., 2010; Li i sur., 2016; Valente i sur., 2011). Zbog nekonzistentnosti rezultata, kao i heterogene prirode same bolesti, u ovom je radu ispitana povezanost polimorfizma rs4680 gena *COMT* s pojedinim psihopatološkim simptomima kategoriziranim podljestvicama PANSS. Istraživanje je rezultiralo različitim tipovima povezanosti polimorfizma rs4680 i pojedinih skupina simptoma kod pušača i nepušača. Kada govorimo o pušačima uključenim u naše istraživanje, rezultati su pokazali da su Met homozigoti ostvarili značajno veći broj bodova na općoj psihopatološkoj ljestvici u odnosu na heterozigote. Rezultat je potvrđen nakon podjele na Val nosioce i Met homozigote pri čemu su Met homozigoti ostvarili značajno viši broj bodova na PANSSgen. Među nepušačima, Met homozigoti su ostvarili značajno manji broj bodova u odnosu na nosioce alela Val na PANSScog, PANSSexc, PANSSpsy i PANSStot. Kada je riječ o podljestvicama PANSSpos, PANSSneg, PANSSgen i PANSSdep, među nepušačima je izostala razlika između nosioca različitih genotipova odnosno alela obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT*. Različite vrste povezanosti polimorfizma rs4680 gena *COMT* i težine simptoma prema PANSS-u između pušača i nepušača mogu biti posljedica kombiniranog utjecaja polimorfizma rs4680 gena *COMT* i pušenja na dopaminski sustav. Također, u studiji Nedić i suradnika (2010) uočena je povezanost polimorfizma rs4680 gena *COMT* i pušenja. Štoviše, alel Met je povezan s povećanom vjerojatnošću pušenja nakon izlaganja traumi (Amstadter i sur., 2009).

Kako broj bodova na podljestvici PANSScog nespecifično ukazuje na kognitivne sposobnosti (Nielson i sur., 2014), koje su često poremećene u osoba s PTSP-om (Hayes i sur., 2012; Scott i sur., 2015), naši rezultati upućuje na povezanost alela Val s lošijim kognitivnim sposobnostima. Prethodno je pokazano da neurotransmisija dopaminom ima važnu ulogu u modulaciji kognitivnih funkcija (Goldman-Rakic i sur., 2000). Štoviše, enzim COMT utječe na kogniciju modulirajući dopaminski tok u PFC-u i hipokampusu (Tunbridge i sur., 2006). Rezultati studija o povezanosti polimorfizma rs4680 i kognitivnih funkcijama su neujednačeni (Barnett i sur., 2008; Bertolino i sur., 2006; de Frias i sur., 2004; Egan i sur., 2001; Farrell i sur., 2012; Goldman i Goldberg, 2009; Havelka Meštrović i sur., 2018; Mier i sur., 2010; Schott i sur., 2006; Wang i sur., 2013). Uočena povezanost alela Val s lošijim kognitivnim sposobnostima u skladu je s nekolicinom prethodnih studija na zdravim osobama (Bertolino i sur., 2006; de Frias i sur., 2004; Schott i sur., 2006), osobama s PTSP-om (Havelka Meštrović i sur., 2018) kao i osobama s dijagnozom shizofrenije (Egan i sur.,

2001). Bertolino i suradnici (2006) su izvijestili o lošijem povratku memorije kod Val homozigota. Kod istog genotipa uočena je i smanjena povezanost hipokampusa i PFC-a tijekom memorijskog kodiranja (Schott i sur., 2006) kao i lošiji učinak na testovima deklarativne memorije (de Frias i sur., 2004). U skladu s našim rezultatima, među ratnim veteranima oboljelima od PTSP-a nosioci alela Met pokazali su se uspješnijima na testovima radnog pamćenja (Havelka Mestrović i sur., 2018). Štoviše, studija Hayes i suradnika (2017) izvijestila je o većem smanjenju volumena hipokampusa kod Val homozigota oboljelih od PTSP-a u odnosu na nosioce alela Met. Kortikalna hipodopaminergija u nosioca genotipa Val/Val, koji je povezan s lošijim kognitivnim sposobnostima (poremećajima izvršnih funkcija i radnog pamćenja), može biti uzrokom razlika u kognitivnim sposobnostima između nosioca različitih genotipova obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT* (Egan i sur., 2001). Štoviše, pretpostavlja se da niska razina dopamina u nosioca alela Val dovodi do atrofije hipokampusa nakon izlaganja traumi i, posljedično tomu, smanjena memorijskih sposobnosti u osoba s PTSP-om (Hayes i sur., 2017).

Naši rezultati su uputili na povezanost polimorfizma rs4680 gena *COMT* s jače izraženim psihotičkim simptomima u PTSP-u procijenjenim podljestvicom PANSSpsy. Pritom su osobe koje su homozigoti za alel Val, odnosno nosioci alela Val ostvarile veći broj bodova na PANSSpsy od osoba drugih genotipova, odnosno od homozigota za alel Met. Psihotički simptomi, posebno karakteristični za dijagnozu shizofrenije, se vrlo često javljaju u osoba oboljelih od PTSP-a (Compean i Hamner, 2019). Kod hrvatskih ratnih veterana s dijagnozom PTSP-a psihotički simptomi se javljaju u oko 20% slučajeva (Ivezić i sur., 2000; Kaštelan i sur., 2007). Otprije je poznato da u nastanku pozitivnih i negativnih simptoma shizofrenije važnu ulogu imaju poremećaji dopaminergičkog sustava (Davis i sur., 1991). Pritom se pretpostavlja da su pozitivni simptomi najvjerojatnije posljedica hiperaktivnosti supkortikalne dopaminergičke transmisije, dok negativni simptomi nastaju uslijed deficita dopaminergičke transmisije u PFC-u (Laruelle, 2014; Wang i sur., 2010). U tom kontekstu jasno je da će polimorfizam rs4680 gena *COMT*, kroz svoj utjecaj na metabolizam dopamina, utjecati i na razvoj shizotipskog endofenotipa, odnosno pojavu psihotičkih simptoma (Avramopoulos i sur., 2002). U prilog tome idu i nalazi o povezanosti alela Val gena *COMT*, kao alela koji povisuje aktivnost samog enzima, s pozitivnom i negativnom shizotipijom (Schürhoff i sur., 2007). U našem slučaju alel Val se povezuje s većim brojem bodova na PANSSpsy koja uključuje samo pozitivne simptome shizofrenije. S druge strane postoje studije kod kojih je u osoba oboljelih od shizofrenije pronađena povezanost alela Val obzirom na polimorfizam

rs4680 gena *COMT* s negativom shizotipijom (de Castro-Catala i sur., 2015) ili pak anhedonijom kao središnjim konstruktom negativne shizotipije (Docherty i Sponheim, 2008). Kako do danas neurobiološka podloga razvoja pozitivnih i negativnih simptoma nije u potpunosti razjašnjena, a uzimajući u obzir ovakve djelomično oprečne rezultate, teško je iznositi zaključke o specifičnostima u mehanizmima nastanka psihotičkih simptoma u PTSP-u.

Podljestvica PANSS_{exc} se upotrebljava za evaluaciju agitacije (Montoya i sur., 2011; Volavka i sur., 2014). Prema našim saznanjima ne postoje podaci o povezanosti polimorfizma rs4680 gena *COMT* i agitacije evaluirane pomoću podljestvice PANSS_{exc}. Agitacija koja uključuje povećan odgovor na vanjske ili unutarnje podražaje, razdražljivost, neprijateljstvo i neprikladne psihomotorne i /ili verbalne aktivnosti povezana je s verbalnom ili fizičkom agresijom (Montoya i sur., 2011; Volavka, 2014). U skladu s prethodno objavljenim studijama (Jones i sur., 2001), povezali smo alel Val s težim simptomima agitacije/agresije. Međutim, pritom je potrebno istaknuti razliku u dijagnozama ispitanika uključenih u studiju kao i razliku u korištenim kliničkim instrumentima. Naime, studija Jones i suradnika (2001) provedena je na odraslim osobama oba spola oboljelim od shizofrenije korištenjem ljestvice otvorene agresije (OAS; eng Overt Aggression Scale), dok je naša studija uključivala samo muške osobe oboljele od PTSP-a te PANSS kao klinički instrument. S druge strane, postoje studije koje povezuju genotip Met/Met s fizičkom agresijom usmjerenom prema drugima (Han i sur., 2006) i prema sebi (Strous i sur., 2003). Iako je opisana povezanost prvi put ispitana u osoba s PTSP-om, ne bi trebalo zanemariti činjenicu da bi alel Val mogao doprinijeti težim simptomima agitacije među oboljelima od PTSP-a. To se može utvrditi usporedbom s literaturom (Caspi i sur., 2008; Langley et al. 2010; Monuteaux i sur., 2009) koja ospisuju sličnu povezanost.

Opći psihopatološki simptomi, odnosno PANSS_{gen}, obuhvaćaju poremećaje kognicije, anksioznost, depresiju, nesuradnju, napetost, slabu kontrolu impulsa, motoričku retardaciju i socijalno izbjegavanje (Kay i sur., 1987). Broj bodova ostvaren na podljestvici PANSS_{gen} u našoj studiji se povezuje s prisutnošću alela Met obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT*. Literaturni podaci o povezanosti navedenog polimorfizma gena *COMT* i simptoma procijenjenih prema podljestvici PANSS_{gen} uglavnom uključuju osobe oboljele od shizofrenije te uglavnom rezultati tih studija upućuju na izostanak povezanosti (Strous i sur., 2006). Također, postoje studije koje negiraju povezanost polimorfizma rs4680 gena *COMT* i depresivnih simptoma (Peitl, i sur., 2017; Strous i sur., 2006; Tovilla-Zarate i sur., 2003).

Suprotno navedenom, neke studije povezuju navedeni polimorfizam s dijagnozom depresije (Mandelli i sur., 2007; Massat i sur., 2005) i anksioznosti (Domschke i sur., 2004). Štoviše, u našoj je studiji isto izostala povezanost polimorfizma rs4680 gena *COMT* i depresivnih simptoma procijenjenih podljestvicom PANSSdep. Obzirom da su prethodno navedene studije (Peitl, i sur., 2017; Strous i sur., 2006; Tovilla-Zarate i sur., 2003) provedene na oboljelima od shizofrenije, važno je istaknuti velike razlike u uzorcima ispitanika u odnosu na našu. Također, treba uzeti u obzir i činjenicu da je evaluacija bolesnika u našoj i studiji Tovilla-Zarate i suradnika (2003) provedena koristeći različite kliničke instrumente (PANSS naspram ljestvice za procjenu negativnih (SANS; eng. The Scale for the Assessment of Negative Symptoms), odnosno pozitivnih (SAPS, eng. The Scale for the Assessment of Positive Symptoms) simptoma).

Iako je ljestvica PANSS alat za procjenu pozitivnih i negativnih simptoma uglavnom u shizofreniji, evidentno je da ista može biti značajno informativna i u PTSP-u, psihijatrijskom poremećaju u osnovi čije biološke podloge također nalazimo poremećaje dopaminergičke funkcije. Kako je PTSP izrazito kompleksan poremećaj, važno je prilikom istraživanja njegove biološke podloge obratiti pozornost na pojedine uže definirane simptome ili skupine simptoma koji se uz njega vežu. U ovom radu smo razlučili simptome koji se javljaju u ratnih veterana oboljelih od PTSP-a te smo pronašli povezanost pojedinih simptoma s polimorfizmom rs4680 gena *COMT*. Na taj način smo doprinjeli saznanjima o etiologiji PTSP-a te smo ujedno istaknuli važnost polimorfizma rs4680 gena *COMT* kao potencijalnog biološkog procjenitelja težine psihopatologije obzirom na pozitivne i negativne simptome u ratnim iskustvom izazvanom PTSP-u.

6. Zaključak

- U uzorku 573 muških ratnih veterana oboljelih od PTSP-a uočen je veći broj ostvarenih bodova na PANSScog, PANSSdep, PANSSgen i PANSStot kod pušača u odnosu na nepušača što upućuje na utjecaj pušenja na težinu psihopatologije PTSP-a
- Na izoliranoj DNA iz uzorka krvi ispitanika analiziran je polimorfizam rs4680 gena *COMT*. Utvrđeno je da je 153 ispitanika imalo genotip Met/Met, 279 genotip Met/Val te 141 genotip Val/Val
- Pronađeni su različiti tipovi povezanosti polimorfizma rs4680 gena *COMT* i pojedinih skupina simptoma PTSP-a kategoriziranih PANSS podljestvicama
- Kod pušača, broj postignutih bodova na PANSSgen bio je veći u Met homozigota u odnosu na Val nosioce
- Na podljestvicama PANSScog, PANSSpsy, PANSSexc, PANSSdep, PANSSpos, PANSSneg i PANSStot kod pušača nije uočena razlika u broju postignutih bodova između nosioca različitih genotipova odnosno alela obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT*
- Kod nepušača, broj postignutih bodova na PANSScog, PANSSpsy, PANSSexc i PANSStot bio je manji kod homozigota za alel Met u odnosu na nosioce alela Val
- Na podljestvicama PANSSpos, PANSSneg, PANSSdep, PANSSgen kod nepušača nije postojala značajna razlika u broju postignutih bodova između nosioca različitih genotipova odnosno alela obzirom na polimorfizam rs4680 gena *COMT*

7. Literatura

- Aalto S., Bruck A., Laine M., Nagren K., Rinne J. O. (2005): Frontal and temporal dopamine release during working memory and attention tasks in healthy humans: a positron emission tomography study using the high-affinity dopamine D₂ receptor ligand [¹¹C]FLB 457. *The Journal of Neuroscience* **25**: 2471-2477.
- Akil M., Kolachana B. S., Rothmond D. A., Hyde T. M., Weinberger D. R., Kleinman J. E. (2003): Catechol-O-methyltransferase genotype and dopamine regulation in the human brain. *The Journal of Neuroscience* **23**: 2008-2013.
- American Psychiatric Association (2013): American Psychiatric Association Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Edition. American Psychiatric Association Publishing, Washington DC.
- Amstadter A. B., Nugent N. R., Koenen K. C., Ruggiero K. J., Acierno R., Galea S., Kilpatrick D. G., Gelernter J. (2009): Association between COMT, PTSD, and increased smoking following hurricane exposure in an epidemiologic sample. *Psychiatry* **72**: 360-369.
- Andreski P., Chilcoat H., Breslau N. (1998): Post-traumatic stress disorder and somatization symptoms: a prospective study. *Psychiatry Research* **79**: 131-138.
- Avramopoulos D., Stefanis N. C., Hantoumi I., Smyrnis N., Evdokimidis I., Stefanis C. N. (2002): Higher scores of self reported schizotypy in healthy young males carrying the COMT high activity allele. *Molecular Psychiatry* **7**: 706-711.
- Axelrod, J. (1957): O-Methylation of epinephrine and other catechols in vitro and in vivo. *Science* **126**: 400-401.
- Axelrod J., Senoh S., Witkop B. (1958): O-Methylation of catechol amines in vivo. *The Journal of Biological Chemistry* **233**: 697-701.
- Axelrod J., Tomchick R. (1958): Enzymatic O-methylation of epinephrine and other catechols. *The Journal of Biological Chemistry* **233**: 702-705.
- Ayano G. (2016): Dopamine: Receptors, Functions, Synthesis, Pathways, Locations and Mental Disorders: Review of Literature. *Journal of Mental Disorders and Treatment* **2**: 120.
- Badgaiyan R. D., Fischman A. J., Alpert N. M. (2009): Dopamine release during human emotional processing. *NeuroImage* **47**: 2041-2045.
- Barnett J. H., Scoriels L., Munafò M. R. (2008): Meta-analysis of the cognitive effects of the catechol-O-methyltransferase gene Val158/108Met polymorphism. *Biological Psychiatry* **64**: 137-144.

- Battaglia C., Benson S. L., Cook P. F., Prochazka A. (2013): Building a tobacco cessation telehealth care management program for veterans with posttraumatic stress disorder. *Journal of the American Psychiatric Nurses Association* **19**: 78-91.
- Beckham J. C., Feldman M. E., Vrana S. R., Mozley S. L., Erkanli A., Clancy C. P., Rose J. E. (2005): Immediate antecedents of cigarette smoking in smokers with and without posttraumatic stress disorder: A preliminary study. *Experimental and Clinical Psychopharmacology* **13**: 219-228.
- Begic D., Begic-Jokic N. (2001): Aggressive behavior in combat veteran with posttraumatic stress disorder. *Military Medicine* **166**: 671-676.
- Bertolino A., Rubino V., Sambataro F., Blasi G., Latorre V., Fazio L., Caforio G., Petruzzella V., Kolachana B., Hariri A., Meyer-Lindenberg A., Nardini M., Weinberger D. R., Scarabino T. (2006): Prefrontal-hippocampal coupling during memory processing is modulated by COMT val158met genotype. *Biological Psychiatry* **60**: 1250-1258.
- Bilder R. M., Volavka J., Lachman H. M., Grace A. A. (2004): The catechol-O-methyltransferase polymorphism: relations to the tonic-phasic dopamine hypothesis and neuropsychiatric phenotypes. *Neuropsychopharmacology* **29**: 1943-1961
- Björklund A., Dunnett S. B. (2007): Dopamine neuron system in the brain: an update. *Trends in Neurosciences* **30**: 194-202.
- Boscarino J. A. (1996): Posttraumatic stress disorder, exposure to combat, and lower plasma cortisol among Vietnam veterans. *Journal of Consulting and Clinical Psychology* **64**: 191-201.
- Boscarino J. A., Erlich P. M., Hoffman S. N., Rukstalis M., Stewart W. F. (2011): Association of FKBP5, COMT and CHRNA5 polymorphisms with PTSD among outpatients at risk for PTSD. *Psychiatry Research* **188**: 173-174.
- Brady K. T. (1997): Posttraumatic stress disorder and comorbidity: recognizing the many faces of PTSD. *The Journal of Clinical Psychiatry* **58** Suppl 9: 12-15.
- Bremner J.D., Randall P., Scott T. M., Bronen R. A., Seibyl J. P., Southwick S. M., et al. (1995): MRI-based measurement of hippocampal volume in patients with combat-related posttraumatic stress disorder. *The American Journal of Psychiatry* **152**: 973-981.
- Breslau N., Davis G. C., Andreski P., Peterson E. L., Schultz L. R. (1997): Sex differences in posttraumatic stress disorder. *Archives Of General Psychiatry* **54**: 1044-1048.
- Buttler R. W., Mueser K. T., Sprock J., Braff D. L. (1996): Positive symptoms of psychosis in posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry* **39**: 839-844.
- Caspi A., Langley K., Milne B., Moffitt T. E., O'Donovan M., Owen M. J., Polo Tomas M., Poulton R., Rutter M., Taylor A., Williams B., Thapar A. (2008): A replicated

- molecular genetic basis for subtyping antisocial behavior in children with attentiondeficit/hyperactivity disorder. *Archives of General Psychiatry* **65**: 203-210.
- Chen J., Lipska B.K., Halim N., Ma Q.D., Matsumoto M., Melhem S., Kolachana B. S., Hyde T.M., Herman M.M., Apud J., Egan M.F., Kleinman J.E., Weinberger D.R. (2004): Functional analysis of genetic variation in catechol-O-methyltransferase (COMT): effects on mRNA, protein, and enzyme activity in postmortem human brain. *American Journal of Human Genetics* **75**: 807-821.
- Chen J., Song J., Yuan P., Tian Q., Ji Y., Ren-Patterson R., Liu G., Sei Y., Weinberger D. R. (2011): Orientation and cellular distribution of membrane-bound catechol-O-methyltransferase in cortical neurons: implications for drug development. *Journal of Biological Chemistry* **286**: 34752-34760.
- Clark R., DeYoung C. G., Sponheim S. R., Bender T. L., Polusny M. A., Erbes C. R., Arbisi P. A. (2013): Predicting post-traumatic stress disorder in veterans: Interaction of traumatic load with COMT gene variation. *Journal of Psychiatric Research* **47**: 1849-1856.
- Cohn C. K., Axelrod J. (1971): The effect of estradiol on catechol-O-methyltransferase activity in rat liver. *Life Sciences* **10**: 1351-1354.
- Compean E., Hamner M. (2019): Posttraumatic stress disorder with secondary psychotic features (PTSD-SP): Diagnostic and treatment challenges. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* **88**: 265-275.
- Cook J., Jakupcak M., Rosenheck R., Fontana A., McFall M. (2009): Influence of PTSD symptom clusters on smoking status among help-seeking Iraq and Afghanistan veterans. *Nicotine & Tobacco Research* **11**: 1189-1195.
- Davis K. L., Kahn R. S., Ko G., Davidson M. (1991): Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *The American Journal of Psychiatry* **148**: 1474-1486.
- de Castro-Catala M., Barrantes-Vidal N., Sheinbaum T., Moreno-Fortuny A., Kwapil T. R., Rosa A. (2015): COMT-by-sex interaction effect on psychosis proneness. *BioMed Research International* **2015**: 829237.
- Dedert E. A., Resick P. A., McFall M. E., Dennis P. A., Olsen M., Beckham J. C. (2016): Pilot cases of combined cognitive processing therapy and smoking cessation for smokers with posttraumatic stress disorder. *Behavior Therapy* **47**: 54-65.
- de Frias C. M., Annerbrink K., Westberg L., Eriksson E., Adolfsson R., Nilsson L. G. (2004): COMT gene polymorphism is associated with declarative memory in adulthood and old age. *Behavior Genetics* **34**: 533-539.
- Docherty A. R., Sponheim S. R. (2008): Anhedonia as a phenotype for the Val158Met COMT polymorphism in relatives of patients with schizophrenia. *Journal of Abnormal Psychology* **117**: 788-798.

- Domschke K. (2012): Patho-genetics of posttraumatic stress disorder. *Psychiatria Danubina* **24**: 267-273
- Domschke K., Freitag C. M., Kuhlenbäumer G., Schirmacher A., Sand P., Nyhuis P., Jacob C., Fritze J., Franke P., Rietschel M., Garritsen H. S., Fimmers R., Nöthen M. M., Lesch K. P., Stögbauer F., Deckert J., (2004): Association of the functional V158M catechol-O-methyl-transferase polymorphism with panic disorder in women. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* **7**: 183-188.
- Drożak J., Bryła J. (2005): Dopamine: not just a neurotransmitter. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej* **59**: 405-420.
- Duthie S. J., Mavrommatis Y., Rucklidge G., Reid M., Duncan G., Moyer M. P., Pirie L. P., Bestwick C. S. (2008): The response of human colonocytes to folate deficiency in vitro: functional and proteomic analyses. *Journal of Proteome Research* **7**: 3254-3266.
- Egan M. F., Goldberg T. E., Kolachana B. S., Callicott J. H., Mazzanti C. M., Straub R. E., Goldman D., Weinberger D. R. (2001): Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**: 6917-6922.
- Eiden L. E., Weihe E. (2011): VMAT2: a dynamic regulator of brain monoaminergic neuronal function interacting with drugs of abuse. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1216**: 86-98.
- Eisenhofer G., Kopin I. J., Goldstein D. S. (2004): Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for physiology and medicine. *Pharmacological Reviews* **56**: 331-349.
- Elsworth J. D., Roth R. H. (1997): Dopamine Synthesis, Uptake, Metabolism, and Receptors: Relevance to Gene Therapy of Parkinson's Disease. *Experimental Neurology* **144**: 4-9.
- Elzing B. M., Bremner J. D. (2002): Are the neural substrates of memory the final common pathway in posttraumatic stress disorder (PTSD)? *Journal of Affective Disorders* **70**: 1-17.
- Etkin A., Wager T. D. (2007): Functional neuroimaging of anxiety: a meta-analysis of emotional processing in PTSD, social anxiety disorder, and specific phobia. *The American Journal of Psychiatry* **164**: 1476-1488.
- Farrell S. M., Tunbridge E. M., Braeutigam S., Harrison P. J. (2012): COMT Val(158)Met genotype determines the direction of cognitive effects produced by catechol-O-methyltransferase inhibition. *Biological Psychiatry* **71**: 538-544.

- Feldner M. T., Babson, K. A., Zvolensky, M. J. (2007). Smoking, traumatic event exposure, and post-traumatic stress: A critical review of the empirical literature. *Clinical Psychology Review*, **27**: 14-45.
- Feldner M. T., Smith R. C., Monson C. M., Zvolensky M. J. (2013): Initial evaluation of an integrated treatment for comorbid PTSD and smoking using a nonconcurrent, multiple-baseline design. *Behavior Therapy* **44**: 514-528.
- Floderus Y., Ross S. B., Wetterberg L. (1981): Erythrocyte catechol-O-methyltransferase activity in a Swedish population. *Clinical Genetics* **19**: 389-392.
- Forbes M. K., Flanagan J. C., Barrett E. L., Crome E., Baillie A. J., Mills K. L., Teesson M. (2015): Smoking, posttraumatic stress disorder, and alcohol use disorders in a nationally representative sample of Australian men and women. *Drug and Alcohol Dependence* **156**: 176-183.
- Fu S., McFall M., Saxon A., Beckham J., Carmody T., Baker D., Joseph A. (2007): Post-traumatic stress disorder and smoking: A systematic review. *Nicotine & Tobacco Research* **9**: 1071-1084.
- Gardner B., Hall D. A., Strange P. G. (1996): Pharmacological analysis of dopamine stimulation of [35S]-GTP gamma binding via human D2short and D2long dopamine receptors expressed in recombi-nant cells. *British Journal of Pharmacology* **118**: 1544-1550.
- Gardner B.R., Hall D.A., Strange P.G. (1997): Agonist action at D2 (short) dopamine receptors determined in ligand binding and functional assays. *Journal of Neurochemistry* **69**: 2589-2598.
- Goenjian A. K., Noble E. P., Steinberg A. M., Walling D. P., Stepanyan S. T., Dandekar S., Bailey J. N. (2015): Association of COMT and TPH-2 genes with DSM-5 based PTSD symptoms. *Journal of Affective Disorders* **172**: 472-478.
- Goldman D., Goldberg T. E. (2009): The role of COMT Val158Met in cognition. *Biological Psychiatry* **65**: e1-e4.
- Goldman-Rakic P. S., Muly E. C. III, Williams G. V. (2000): D1 receptors in prefrontal cells and circuits. *Brain Research Reviews* **31**: 295–301.
- Gottesman I. I., Gould T. D. (2003): The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *The American Journal of Psychiatry* **160**: 636-645.
- Grossman M. H., Emanuel B. S., Budarf M. L. (1992): Chromosomal mapping of the human catechol-O-methyltransferase gene to 22q11.1---q11.2. *Genomics* **12**: 822-825.
- Hamner M. B. (1997): Psychotic features and combat-associated PTSD. *Depression and Anxiety* **5**: 34-38.

- Han D. H., Kee B. S., Min K. J., Lee Y. S., Na C., Park D. B., Lyoo I. K. (2006): Effects of catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphism on the cognitive stability and aggression in the firstonset schizophrenic patients. *NeuroReport* **17**: 95-99.
- Havelka Meštrović A., Tudor L., Nikolac Perković M., Nedić Erjavec G., Kovačić Petrović Z., Švob Štrac D., Konjevod M., Pivac N. (2018): Significant association between catechol-O-methyltransferase (COMT) Val158/108Met polymorphism and cognitive function in veterans with PTSD. *Neuroscience Letters* **666**: 38-43.
- Hayes J. P., Logue M. W., Reagan A., Salat D., Wolf E. J., Sadeh N., Spielberg J. M., Sperbeck E., Hayes S. M., McGlinchey R. E., Milberg W. P., Verfaellie M., Stone A., Schichman S. A., Miller M. W. (2017): COMT Val158Met polymorphism moderates the association between PTSD symptom severity and hippocampal volume. *Journal of Psychiatry & Neuroscience* **42**: 95-102.
- Hayes J. P., VanElzakker M. B., Shin L. M. (2012): Emotion and cognition interactions in PTSD: a review of neurocognitive and neuroimaging studies. *Frontiers in Integrative Neuroscience* **6**: 89.
- Hoge C. W., Auchterlonie J. L., Milliken C. S. (2006): Mental health problems, use of mental health services, and attrition from military service after returning from deployment to Iraq or Afghanistan. *JAMA* **295**: 1023-1032.
- Hong J., Shu-Leong H., Tao X., Lap-Ping Y. (1998): Distribution of catechol-O-methyltransferase expression in human central nervous system. *NeuroReport* **9**: 2861-2864.
- Hosak I. (2007): Role of the COMT gene Val 158Met polymorphism in mental disorders: a review. *European Psychiatry* **22**: 276-281.
- Huang C. S., Chern H. D., Chang K. J., Cheng C. W., Hsu S.M., Shen C. Y. (1999): Breast cancer risk associated with genotype polymorphism of the estrogen metabolizing genes CYP17, CYP1A1, and COMT: a multigenic study on cancer susceptibility. *Cancer Research* **59**: 4870-4875.
- Humphreys K. L., Scheeringa M. S., Drury S. S. (2014): Race moderates the association of Catechol-O-methyltransferase genotype and posttraumatic stress disorder in preschool children. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology* **24**: 454-457.
- Ivezić S., Bagarić A., Oruč L., Mimica N., Ljubin T. (2000): Psychotic symptoms and comorbid psychiatric disorders in Croatian combat-related posttraumatic stress disorder patients. *Croatian Medical Journal* **41**: 179-183.
- Jones D. J., Miller G. W. (2008): The effects of environmental neurotoxicants on the dopaminergic system: A possible role in drug addiction. *Biochemical Pharmacology* **76**: 569-581.

- Jones G., Zammit S., Norton N., Hamshere M. L., Jones S. J., Milham C., Sanders R. D., McCarthy G. M., Jones L. A., Cardno A. G., Gray M., Murphy K. C., Owen M. J. (2001): Aggressive behaviour in patients with schizophrenia is associated with catechol-O-methyltransferase genotype. *British Journal of Psychiatry* **179**: 351-355.
- Juárez Olguín H., Calderón Guzmán D., Hernández García E., Barragán Mejía G. (2016): The Role of Dopamine and Its Dysfunction as a Consequence of Oxidative Stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2016**: 9730467
- Kaczurkin A. N., Burton P. C., Chazin S. M., Manbeck A. B., Espensen-Sturges T, Cooper S. E., Sponheim S. R., Lissek S. (2017): Neural Substrates of Overgeneralized Conditioned Fear in PTSD. *American Journal of Psychiatry* **174**: 125-134.
- Karhunen T., Tilgmann C., Ulmanen I., Panula P. (1995): Neuronal and non-neuronal catechol-O-methyltransferase in primary cultures of rat brain cells. *International Journal of Developmental Neuroscience* **13**: 825-834.
- Kaštelan A., Frančišković T., Moro Lj., Rončević-Gržeta I., Grković J., Jurcan V., Lesica T., Graovac M., Girotto I. (2007): Psychotic Symptoms in Combat-Related Post-Traumatic Stress Disorder. *Military Medicine* **172**: 273-277.
- Kay S. R., Fiszbein A., Opler L. A. (1987): The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* **13**: 261-276.
- Kelmendi B., Adams T. G., Yarnell S., Southwick S., Abdallah C.G., Krystal J.H. (2016): PTSD: from neurobiology to pharmacological treatments. *European Journal of Psychotraumatology* **7**:31858.
- Kessler R. C. (2000): Posttraumatic stress disorder: the burden to the individual and to society. *The Journal of Clinical Psychiatry* **61**: 4-12.
- Kessler R. C., Borges G., Walters E. E. (1999): Prevalence and risk factors for lifetime suicide attempts in National Comorbidity Survey. *Archives Of General Psychiatry* **56**: 617-626.
- Kessler R. C., Sonnega A., Bromet E., Hughes M., Nelson C. B. (1995): Posttraumatic stress disorder in the National Comorbidity Survey. *Archives Of General Psychiatry* **52**: 1048-1060.
- Khantzian E. J. (1997): The self-medication hypothesis of substance use disorders: A reconsideration and recent applications. *Harvard Review of Psychiatry* **4**: 231-244.
- Klein M. O., Battagello D. S., Cardoso A. R., Hauser D. N., Bittencourt J. C., Correa R. G. (2018): Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases. *Cellular and Molecular Neurobiology* **39**: 31-59.
- Kolassa I. T., Kolassa S., Ertl V., Papassotiropoulos A., De Quervain D. J. (2010): The risk of posttraumatic stress disorder after trauma depends on traumatic load and the

- catechol-o-methyltransferase Val(158)Met polymorphism. *Biological Psychiatry* **67**: 304-308.
- Kontaxakis V. P., Havaki-Kontaxaki B. J, Stamouli S. S, Margariti M. M., Collias C. T., Christodoulou G. N. (2000): Comparasion of four scales measuring depression in schizophrenic inpatients. *European Psychiatry* **15**: 274-277.
- Kozarić-Kovačić D., Borovečki A. (2005): Prevalence of psychotic comorbidity in combat-realted post-traumatic stress disorder. *Military Medicine* **170**: 223-226.
- Kozarić-Kovačić D., Kocijan-Hercigonja D. (2001): Assessment of post-trauamtic disorder and comorbidity. *Military Medicine* **166**: 677-680.
- Kozarić-Kovačić D., Kovačić Z., Rukavina L. (2007): Posttraumatski stresni poremećaj. *Medix* **71**: 102-106.
- Kozarić-Kovačić D., Pivac N. (2007): Novel approaches to the diagnosis and treatment of posttraumatic stress disorder. U: Begec, S. (ur.) *The Integration and Menagement of Traumatized People after Terrorist Attact*. Amsterdam, IOS Press, str. 13-40.
- Laatikainen L. M., Sharp T., Bannerman D. M., Harrison P. J., Tunbridge E. M. (2012): Modulation of hippocampal dopamine metabolism and hippocampal-dependent cognitive function by catechol-O-methyltransferase inhibition. *Journal of Psychopharmacology* **26**: 1561-1568.
- Langley K., Heron, J., O'Donovan M. C., Owen M. J., Thapar A. (2010): Genotype link with extreme antisocial behavior: the contribution of cognitive pathways. *Archives Of General Psychiatry* **67**: 1317-1323.
- Lanius R. A., Williamson P. C., Hopper J., Densmore M., Boksman K., Gupta M. A., Neufeld R. W., Gati J. S., Menon R. S. (2010): Recall of emotional states in posttraumatic stress disorder: an fMRI investigation. *Biological Psychiatry* **53**: 204-210.
- Laruelle M. (2014): Schizophrenia: from dopaminergic to glutamatergic interventions. *Current Opinion in Pharmacology* **14**: 97-102.
- Law B. J. C, Bennett M. R., Thompson M. L., Levy C., Shepherd S. A., Leys D., Micklefield J. (2016): Effects of Active-Site Modification and Quaternary Structure on the Regioselectivity of Catechol-O-Methyltransferase. *Angewandte Chemie International Edition in English* **55**: 2683-2687.
- Lebois L. A. M., Wolff J. D., Ressler K. J. (2016): Neuroimaging genetic approaches to posttraumatic stress disorder. *Experimental Neurology* **284**(Pt B): 141-152.
- Lee S., Kang J., Kim J. (2019): Structural and biochemical characterization of Rv0187, an O-methyltransferase from Mycobacterium tuberculosis. *Scientific Reports* **9**: 8059.

- Lévesque D., Diaz J., Pilon C., Martres M. P., Giros B., Souil E., Schott D., Morgat J. L., Schwartz J. C., Sokoloff P. (1992): Identification, characterization, and localization of the dopamine D3 receptor in rat brain using 7-[3H]hydroxy-N,N-di-n-propyl-2-aminotetralin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **89**: 8155-8159.
- Li L., Bao Y., He S., Wang G., Guan Y., Ma D., Wang P., Huang X., Tao S., Zhang D., Liu Q., Wang Y., Yang J. (2016): The Association Between Genetic Variants in the Dopaminergic System and Posttraumatic Stress Disorder: A Meta-Analysis. *Medicine* (Baltimore) **95**: e3074.
- Lindström E., Tuninger E., Levander S. (2012): PECC — Factor structure and findings in three longitudinal cohorts of patients with schizophrenia. *Nordic Journal of Psychiatry* **66**: 33-39.
- Logrip M. L., Zorrilla E. P., Koob G. F. (2012): Stress modulation of drug selfadministration: Implications for addiction comorbidity with posttraumatic stress disorder. *Neuropharmacology* **62**: 552-564.
- Lonsdorf T. B., Weike A. I., Nikamo P., Schalling M., Hamm A. O., Ohman A. (2009): Genetic gating of human fear learning and extinction: possible implications for gene-environment interaction in anxiety disorder. *Psychological Science* **20**: 198-206.
- Lotta T., Vidgren J., Tilgmann C., Ulmanen I., Melen K., Julkunen I., Taskinen J. (1995): Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: A revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry* **34**: 4202-4210.
- Ma Z., Liu H., Wu B. (2013): Structure-based drug design of catechol-O-methyltransferase inhibitors for CNS disorders. *British Journal of Clinical Pharmacology* **77**: 410-420.
- Mandelli L., Serretti A., Marino E., Pirovano A., Calati R., Colombo C. (2007): Interaction between serotonin transporter gene, catechol-O-methyltransferase gene and stressful life events in mood disorders. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* **10**: 437-447.
- Männistö P. T., Kaakkola S. (1999): Catechol-O-methyltransferase (COMT): Biochemistry, Molecular Biology, Pharmacology, and Clinical Efficacy of the New Selective COMT Inhibitors. *Pharmacological Reviews* **51**: 594-628.
- Massat I., Souery D., Del-Favero J., Nothen M., Blackwood D., Muir W., Kaneva R., Serretti, A., Lorenzi C., Rietschel M., Milanova V., Papadimitriou G. N., Dikeos J., Van Broekhoven C., Mendlewicz J. (2005): Association between COMT (Val158Met) functional polymorphism and early onset in patients with major depressive disorder in a European multicenter genetic association study. *Molecular Psychiatry* **10**: 598-605.

- Matsumoto M., Weickert C. S., Akil M., Lipska B. K., Hyde T. M., Herman M. M., Kleinman J. E., Weinberger D. R. (2003): Catechol O-methyltransferase mRNA expression in human and rat brain: evidence for a role in cortical neuronal function. *Neuroscience* **116**: 127-137.
- Menezes J., Alves N., Borges S., Roehrs R., de Carvalho Myskiw J., Furini C. R., Izquierdo I., Mello-Carpes P. B. (2015): Facilitation of fear extinction by novelty depends on dopamine acting on D1-subtype dopamine receptors in hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **112**: 1652-1658.
- Meyer-Lindenberg A., Kohn P. D., Kolachana B., Kippenhan S., McInerney-Leo A., Nussbaum R., Weinberger D. R., Berman K. F. (2005): Midbrain dopamine and prefrontal function in humans: interaction and modulation by COMT genotype. *Nature Neuroscience* **8**: 594-596.
- Meyer-Lindenberg A., Nichols T., Callicott J. H., Ding J., Kolachana B., Buckholtz J., Mattay V. S., Egan M., Weinberger D. R. (2006): Impact of complex genetic variation in COMT on human brain function. *Molecular Psychiatry* **11**: 867-877.
- Mier D., Kirsch P., Meyer-Lindenberg A. (2010): Neural substrates of pleiotropic action of genetic variation in COMT: a meta-analysis. *Molecular Psychiatry* **15**: 918-927.
- Milad M. R., Pitman R. K., Ellis C. B., Gold A. L., Shin L. M., Lasko N. B., Zeidan M. A., Handwerger K., Orr S. P., Rauch S. L. (2009): Neurobiological basis of failure to recall extinction memory in posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry* **66**: 1075-1082.
- Mill J., Dempster E., Caspi A., Williams B., Moffitt T., Craig I. (2006): Evidence for monozygotic twin (MZ) discordance in methylation level at two CpG sites in the promoter region of the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene. *American Journal of Medical Genetics Part B Neuropsychiatric Genetics* **141**: 421-425.
- Miller S. A., Dykes D. D., Polesky H. F. (1988): A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* **16**:1215.
- Minichino A., Bersani F. S., Calò W. K., Spagnoli F., Francesconi M., Vicinanza R., Chiaie R. D., Biondi M. (2013): Smoking Behaviour and Mental Health Disorders—Mutual Influences and Implications for Therapy. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **10**: 4790-4811.
- Montoya A., Valladares A., Lizán L., San L., Escobar R., Paz S. (2011): Validation of the Excited Component of the Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS-EC) in a naturalistic sample of 278 patients with acute psychosis and agitation in a psychiatric emergency room. *Health and Quality of Life Outcomes* **9**:18.
- Monuteaux M. C., Biederman J., Doyle A. E., Mick E., Faraone S. V. (2009): Genetic risk for conduct disorder symptom subtypes in an ADHD sample: specificity to aggressive

- symptoms. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* **48**: 757-764.
- Myers K. M., Davis M. (2007): Mechanism of fear extinction. *Molecular Psychiatry* **12**: 120-150.
- Mynett-Johnson L. A., Murphy V. E., Claffey E., Shields D. C., McKeon P. (1998): Preliminary evidence of an association between bipolar disorder in females and the catechol-O-methyltransferase gene. *Psychiatric Genetics* **8**: 221-225.
- Nedić G., Nikolac M., Borovečki F., Hajnsek S., Muck-Seler D., Pivac N. (2010): Association study of a functional catechol-O-methyltransferase polymorphism and smoking in healthy Caucasian subjects. *Neuroscience Letters* **473**: 216-219.
- Nielsen R. E., Lindström E., Telléus G. K., Levander S. (2014): Is the PANSS cognitive scale measuring cognition?. *Nordic Journal of Psychiatry* **68**: 573-578.
- Nikolac Perković M. (2015): Uloga moždanog neurotrofnog čimbenika u demenciji. Doktorska disertacija. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, str. 54,57.
- Nunes T., Machado R., Rocha J. F., Fernandes-Lopes C., Costa R., Torráo L., Loureiro A. I., Falcão A., Vaz-da-Silva M., Wright L., Almeida L., Soares-da-Silva P. (2009): Pharmacokinetic-pharmacodynamic interaction between nebicapone and controlled-release levodopa/benserazide: a single-center, Phase I, double-blind, randomized, placebo-controlled, four-way crossover study in healthy subjects. *Clinical Therapeutics* **31**: 2258-2271.
- Orłowski A., St-Pierre J. F., Magarkar A., Bunker A., Pasenkiewicz-Gierula M., Vattulainen I., Róg T. (2011): Properties of the membrane binding component of catechol-O-methyltransferase revealed by atomistic molecular dynamics simulations. *The Journal of Physical Chemistry B* **115**: 13541-13550.
- Peitl V., Štefanović M., Karlović D. (2017): Depressive symptoms in schizophrenia and dopamine and serotonin gene polymorphisms. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* **77**: 209-215.
- Pitman R. K., Rasmusson A. M., Koenen K. C., Shin L. M., Orr S. P., Gilbertson M. W., Milad M. R., Liberzon I. (2012): Biological studies of post-traumatic stress disorder. *Nature Reviews Neuroscience* **13**: 769-787.
- Pooley E. C., Fineberg N., Harrison P. J. (2007): The met(158) allele of catechol-O-methyltransferase (COMT) is associated with obsessive-compulsive disorder in men: case-control study and meta-analysis. *Molecular Psychiatry* **12**: 556-561.
- Quigley H., MacCabe J. H. (2019): The relationship between nicotine and psychosis. *Therapeutic Advances in Psychopharmacology* **9**: 2045125319859969.

- Rangel-Barajas C., Rebec G. V. (2016): Dysregulation of Corticostriatal Connectivity in Huntington's Disease: A Role for Dopamine Modulation. *Journal of Huntington's Disease* **5**: 303-331
- Rauch S. L., Shin L. M., Phelps E. A. (2006): Neurocircuitry models of posttraumatic stress disorder and extinction: human neuroimaging research--past, present, and future. *Biological Psychiatry* **60**: 376-382.
- Rauch S. L., Shin L. M., Segal E., Pitman R. K., Carson M. A., McMullin K., Whalen P. J., Makris N. (2003): Selectively reduced regional cortical volumes in post-traumatic stress disorder. *Neuroreport* **14**: 1089-1101.
- Rauch S. L., Shin L. M., Whalen P. J., Pitman R. K. (1998): Neuroimaging and the neuroanatomy of PTSD. *CNS Spectrums* **3**: 30-41.
- Ressler K. J., Mercer K. B., Bradley B., Jovanovic T., Mahan A., Kerley K., et al (2011): Post-traumatic stress disorder is associated with PACAP and the PAC1 receptor. *Nature* **470**: 492-497.
- Rivett A. J., Francis A., Roth, J. A. (1983): Distinct cellular localization of membrane-bound and soluble forms of catechol-O-methyltransferase in brain. *Journal of Neurochemistry* **40**: 215-219.
- Romanelli R. J., Williams J. T., Neve K. A. (2009): Chapter 6: Dopamine receptor signalling: intracellular pathways to behavior. U: Neve K.A. (ur.) *The Dopamine Receptors*, 2nd Edition. New York, Humana Press, str. 137-174.
- Rougemont-Bücking A., Linnman C., Zeffiro T.A., Zeidan M. A., Lebron-Milad K., Rodriguez-Romaguera J., Rauch S. L., Pitman R.K., Milad M.R. (2010): Altered processing of contextual information during fear extinction in PTSD: an fMRI study. *CNS Neuroscience & Therapeutics* **17**: 227-236.
- Rutherford K., Le Trong I., Stenkamp R.E., Parson W. W. (2008): Crystal structures of human 108V and 108M catechol O-methyltransferase. *Journal of Molecular Biology* **380**: 120-130.
- Sack W. H., Clarke G. N., Seeley J. (1995): Posttraumatic stress disorder across two generations of Cambodian refugees. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* **34**: 1160-1166.
- Salama S. A., Jamaluddin M., Kumar R., Hassan M. H., Al-Hendy A. (2007): Progesterone regulates catechol-O-methyl transferase gene expression in breast cancer cells: distinct effect of progesterone receptor isoforms. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **107**: 253-261.
- Sartor C. E., Grant J. D., Lynskey M. T., McCutcheon V. V., Waldron M., Statham D. J., Bucholz K. K., Madden P. A., Heath A. C., Martin N. G., Nelson E. C. (2012):

- Common heritable contributions to low-risk trauma, high-risk trauma, posttraumatic stress disorder, and major depression. *Archives Of General Psychiatry* **69**: 293-299.
- Sautter F. J., Brailey K., Uddo M. M., Hamilton M. F., Beard M. G., Borges A. H. (1999): PTSD and comorbid psychotic disorder: comparison with veterans diagnosed with PTSD or psychotic disorder. *Journal of Traumatic Stress* **12**: 73-88.
- Schiffman J., LaBrie J., Carter J., Cannon T., Schulsinger F., Parnas J., Mednick S. (2002): Perception of parent-child relationships in high-risk families, and adult schizophrenia outcome of offspring. *Journal of Psychiatric Research* **36**: 41-47.
- Schott B. H., Seidenbecher C. I., Fenker D. B., Lauer C. J., Bunzeck N., Bernstein H. G., Tischmeyer W., Gundelfinger E. D., Heinze H. J., Düzel E. (2006): The dopaminergic midbrain participates in human episodic memory formation: evidence from genetic imaging. *The Journal of Neuroscience* **26**: 1407-1417.
- Schürhoff F., Szöke A., Chevalier F., et al. (2007): Schizotypal dimensions: an intermediate phenotype associated with the COMT high activity allele. *The American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics* **144**: 64-68.
- Scott J. C., Matt G. E., Wrocklage K. M., Cmich C., Jordan J., Southwick S. M., Krystal J. H., Schweinsburg B. C. (2015): A Quantitative Meta-Analysis of Neurocognitive Functioning in Posttraumatic Stress Disorder. *Psychological Bulletin* **141**: 105-140.
- Seal K. H., Bertenthal D., Miner C. R., Sen S., Marmar C. (2007): Bringing the war back home: mental health disorders among 103,788 US veterans returning from Iraq and Afghanistan seen at Department of Veterans Affairs facilities. *Archives of Internal Medicine* **167**: 476-482.
- Seeman P. (2009): Chapter 1: Historical overview: Introduction to the dopamine receptors. U: Neve K.A. (ur.) *The Dopamine Receptors*, 2end Edition. New York, Humana Press, str. 1-21.
- Sesack S. R., Hawrylak V. A., Matus C., Guido M. A., Levey A. I. (1998): Dopamine axon varicosities in the prelimbic division of the rat prefrontal cortex exhibit sparse immunoreactivity for the dopamine transporter. *The Journal of Neuroscience* **18**: 2697-2708.
- Shalev A., Liberzon I., Marmar C. (2017): Post-Traumatic Stress Disorder. *The New England Journal of Medicine* **376**: 2459-2469.
- Sherin J. E., Nemeroff C. B. (2011): Post-traumatic stress disorder: the neurobiological impact of psychological trauma. *Dialogues in Clinical Neuroscience* **13**: 263-278.
- Simmons A. N., Paulus M. P., Thorp S. R., Matthews S. C., Norman S. B., Stein M. B. (2008): Functional activation and neural networks in women with posttraumatic stress disorder related to intimate partner violence. *Biological Psychiatry* **64**: 681-690.

- Southwick A. M., Bremner J. D., Rasmusson A., Morgan C. A. 3rd, Arnsten A., Charney D. S. (1999): Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry* **46**: 1192-1204.
- Stefanovics E. A., Krystal J. H., Rosenheck R. A. (2014): Symptom structure and severity: a comparison of responses to the positive and negative syndrome scale (PANSS) between patients with PTSD or schizophrenia. *Comprehensive Psychiatry* **55**: 887-895.
- Strous R. D., Lapidus R., Viglin D., Kotler M., Lachman H. M. (2006): Analysis of an association between the COMT polymorphism and clinical symptomatology in schizophrenia. *Neuroscience Letters* **393**: 170-173.
- Strous R. D., Nolan K. A., Lapidus R., Diaz L., Saito T., Lachman H. M. (2003): Aggressive behavior in schizophrenia is associated with the low enzyme activity COMT polymorphism: a replication study. *American Journal of Medical Genetics Part B Neuropsychiatric Genetics* **120B**: 29-34.
- Swart M., Bruggeman R., Larøi F., Alizadeh B.Z., Kema I., KorteKaas R., Wiersma D., Aleman A. (2011): COMT Val158Met polymorphism, verbalizing of emotion and activation of affective brain systems. *NeuroImage* **55**: 338-44.
- Švob Štrac D., Kovačić Petrović Z., Nikolac Perković M., Umolac D., Nedić Erjavec G., Pivac N. (2016): Platelet monoamine oxidase type B, MAOB intron 13 and MAOA-uVNTR polymorphism and symptoms of post-traumatic stress disorder. *Stress* **19**: 362-373.
- Tchivileva I. E., Nackley A. G., Qian L., Wentworth S., Conrad M., Diatchenko L. B. (2009): Characterization of NF-kB-mediated inhibition of catechol-O-methyltransferase. *Molecular Pain* **5**: 13.
- Tiihonen J., Hallikainen T., Lachman H., Saito T., Volavka J., Kauhanen J., Salonen J. T., Ryyanen O. P., Koulou M., Karvonen M. K., Pohjalainen T., Syvalahti E., Hietala J. Association between the functional variant of the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene and type 1 alcoholism. *Molecular Psychiatry* **4**: 286-289.
- Tenhunen J., Salminen M., Lundstrom K., Kiviluoto T., Savolainen R., Ulmanen I. (1994): Genomic organization of the human catechol-O-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. *European Journal of Biochemistry* **223**: 1049-1059.
- Tovilla-Zárate C., Medellín B. C., Fresán A., López-Narváez L., Castro T. B., Juárez Rojop I., Ramírez-Bello J., Genis A., Nicolini H. (2013): No association between catechol-o-methyltransferase Val108/158Met polymorphism and schizophrenia or its clinical symptomatology in a Mexican population. *Molecular Biology Reports* **40**: 2053-2058.

- True W. R., Rice J., Eisen S. A., Heath A. C., Goldberg J., Lyons M. J., Nowak J. (1993): A twin study of genetic and environmental contributions to liability for posttraumatic stress symptoms. *Archives Of General Psychiatry* **50**: 257-264.
- Tunbridge E. M. (2010): The catechol-o-methyltransferase gene: its regulation and polymorphisms. *International Review of Neurobiology* **95**: 7-27.
- Tunbridge E. M., Harrison P. J., Weinberger D. R. (2006): Catechol-o-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond. *Biological Psychiatry* **60**: 141-151.
- Tunbridge E. M., Lane T. A., Harrison P. J. (2007a): Expression of multiple catechol-o-methyltransferase (COMT) mRNA variants in human brain. *The American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics* **144B**: 834-839.
- Tunbridge E. M., Weickert C. S., Kleinman J. E., Herman M. M., Chen J., Kolachana B. S., Harrison P.J., Weinberger D.R. (2007b): Catechol-o-methyltransferase enzyme activity and protein expression in human prefrontal cortex across the postnatal lifespan. *Cerebral Cortex* **17**: 1206-1212.
- Valente N. L. M., Fiks J. P., de Mello M. F. (2015): Catechol-O-Methyltransferase (COMT) val158met Polymorphism as a Risk Factor for PTSD. U: Martin C., Preedy V., Patel V. (ur.) *Comprehensive Guide to Post-Traumatic Stress Disorder*. Chambridge, Springer, str. 1-11.
- Valente N. L., Vallada H., Cordeiro Q., Bressan R. A., Andreoli S. B., Mari J. J., Mello M. F. (2011): Catechol-O-methyltransferase (COMT) val158met polymorphism as a risk factor for PTSD after urban violence. *Journal of Molecular Neuroscience* **43**: 516-523.
- Vidgren J., Ovaska M. (1997): Structural aspects in the inhibitor design of catechol O-methyltransferase. U: Veerapandian, P. (ur.) *Structure based Drug Design*. New York, Marcel Dekker, Inc., str. 343-363.
- Vidgren J., Svensson L. A. and Liljas A. (1994): Crystal structure of catechol Omethyltransferase. *Nature (Lond)* **368**: 354-358.
- Volavka J. (2014): Aggression in Psychoses. *Advances in Psychiatry* **2014**
- Wang Y., Li J., Chen C., Chen C., Zhu B., Moysis R.K., et al. (2013): COMT rs4680 Met is not always the “smart allele: Val allele is associated with better working memory and larger hippocampal volume in healthy Chinese. *Genes, Brain and Behavior* **12**: 323-329.
- Wang Y., Fang Y., Shen Y., Xu Q. (2010): Analysis of association between the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene and negative symptoms in chronic schizophrenia. *Psychiatry Research* **179**: 147-150.

- Watkins L. E., Han S., Harpaz-Rotem I., Mota N. P., Southwick S. M., Krystal J. H. *et al* (2016): FKBP5 polymorphisms, childhood abuse, and PTSD symptoms: Results from the National Health and Resilience in veterans study. *Psychoneuroendocrinology* **69**: 98-105.
- Williams H. J., Owen M. J., O'Donovan M. C. (2007): Is COMT a susceptibility gene for schizophrenia? *Schizophrenia Bull* **33**: 635-641.
- Winqvist R., Lundstrom K., Salminen M., Laatikainen M., Ulmanen I. (1992): The human catechol-O-methyltransferase (COMT) gene maps to band q11.2 of chromosome 22 and shows a frequent RFLP with BglI. *Cytogenetic and Genome Research* **59**: 253-257.
- Woo J. M., Yoon K. S., Choi Y. H., Oh K. S., Lee Y. S., Yu B. H. (2004): The association between panic disorder and the L/L genotype of catechol-O-methyltransferase. *Journal of Psychiatric Research* **38**: 365-370.
- Xie T., Ho S. L., Ramsden D. (1999): Characterization and implications of estrogenic down-regulation of human catechol-O-methyltransferase gene transcription. *Molecular Pharmacology* **56**: 31-38.
- Yavich L., Forsberg M. M., Karayiorgou M., Gogos J. A., Männistö P. T. (2007): Site-specific role of catechol-O-methyltransferase in dopamine overflow within prefrontal cortex and dorsal striatum. *The Journal of Neuroscience* **27**: 10196-10209.
- Yehuda R. (2006): Advances in understanding neuroendocrine alterations in PTSD and their therapeutic implications. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1071**: 137-166.
- Yehuda R., Hoge C. W., McFarlane A. C., Vermetten E., Lanius R. A., Nievergelt C. M., Hobfoll S. E., Koenen K. C., Neylan T. C., Hyman S. E. (2015): Post-traumatic stress disorder. *Nature Reviews Disease Primers* **1**: 15057.
- Yehuda R., Schmeidler J., Wainberg M., Binder-Brynes K., Duvdevani T. (1998): Vulnerability to posttraumatic stress disorder in adult offspring of Holocaust survivors. *American Journal of Psychiatry* **155**: 1163-1171.
- Yehuda R., Southwick S., Giller E. L., Ma X., Mason J. W. (1992): Urinary catecholamine excretion and severity of PTSD symptoms in Vietnam combat veterans. *The Journal of Nervous and Mental Disease* **180**: 321-325.
- Zass L. J., Hart S. A., Seedat S., Hemmings S. M. J., Malan-Müller S. (2016): Neuroinflammatory genes associated with post-traumatic stress disorder: Implications for comorbidity. *Psychiatric Genetics* **27**: 1-16.
- Zhao W. Q., Latinwo L., Liu X. X., Lee E. S., Lamango N., Charlton C. G. (2001): l-Dopa Upregulates the Expression and Activities of Methionine Adenosyl Transferase and Catechol-O-Methyltransferase. *Experimental Neurology* **171**: 127-138.

Zubieta J. K., Heitzeg M. M., Smith Y. R., Bueller J. A., Xu K., Xu Y., Koeppe R. A., Stohler C. S., Goldman D. (2003): COMT val158met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor. *Science* **299**: 1240-1243.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/dopamine>

<https://basicmedicalkey.com/psychosis-and-schizophrenia/>

8. Životopis

Rođena sam 18.9.1994. u Sisku. Pohađala sam Prvu osnovnu školu u Petrinji, a potom upisala Opću gimnaziju u Petrinji. 2013. godine sam upisala preddiplomski studij molekularne biologije u Zagrebu te sam 2016. godine stekla zvanje *Sveučilišne prvostupnice molekularne biologije*. Pod vodstvom doc.dr.sc. Duje Lisičića izradila sam završni rad na temu *Hipoksija/ishemija i fiziološka rješenja kod životinja*. Diplomski studij nastavila sam na istom fakultetu. Diplomsku radnju izradila sam u Laboratoriju za molekularnu neuropsihijatriju Zavoda za molekularnu medicinu Instituta „Ruđer Bošković“, pod voditeljstvom dr. sc. Gordane Nedić Erjavec, znanstvene suradnice.

Tijekom studiranja sudjelovala sam u Noći biologije, kao i organizaciji simpozija biologa Simbiose 2018. godine u Republici Hrvatskoj. Vrlo dobro se služim engleskim jezikom u govoru i pisanju, a njemački poznajem na bazičnoj razini.