

Varijante gena za katehol-O-metiltransferazu u bolesnika s depresijom

Vuić, Barbara

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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:217:859161>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-29**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Barbara Vuić

Varijante gena za katehol-O-metiltransferazu u bolesnika s
depresijom

Diplomski rad

Zagreb, 2019.

Ovaj rad izrađen je u Laboratoriju za molekularnu neuropsihijatriju, na Zavodu za molekularnu medicinu Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu, pod vodstvom doc. dr. sc. Dubravke Švob Štrac, više znanstvene suradnice. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistre eksperimentalne biologije.

Zahvale

Veliku zahvalnost u prvom redu dugujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Dubravki Švob Štrac na vodstvu kroz postupak izrade i pisanja ovog diplomskog rada, detaljnim uputama, korisnim savjetima, toplim preporukama, pristupačnosti, razumijevanju, predanosti i nadasve ugodnom društvu i komunikaciji.

Slijedeću zahvalu želim iskazati prof. dr. sc. Dubravki Hranilović na usmjerenju k mentorici, dobroj volji i susretljivosti prilikom prihvaćanja ko-mentorstva, ispravicima, odličnim savjetima i za život korisnim informacijama koje sam imala prilike čuti na njezinim kolegijima.

Zahvaljujem svim članovima Laboratorija za molekularnu neuropsihijatriju Instituta Ruđer Bošković na pomoći pri radu, odgovorima na sve upite te jako ugodnoj i motivirajućoj atmosferi.

Najveće hvala mojim roditeljima bez kojih ne bih bila ovdje gdje jesam, na njihovoj prije svega bezgraničnoj ljubavi, a onda i poticanju, ohrabivanju, uvjeravanju i pomoći da uspijem u svemu što sam željela. Hvala što ste zanemarili svaki moj neuspjeh i proslavili sa mnom svaki moj uspjeh! Zahvaljujem se i svojoj braći na trpljenju mojih učenja naglas i poželjenoj sreći prije svakog ispita!

Posebnu zahvalnost iskazujem svojoj kolegici Luciji na podršci, prijateljstvu, utjehama, uvijek spremnoj pomoći i ljubavi.

Još jedna posebna zahvala (i nikako manje bitna) ide mojim prijateljima koji su mi kroz naša druženja uvijek maknuli misli s problema, skrenuli ih na ljepše životne teme i vratili osmijeh kada je bilo potrebno!

Veliko hvala i svima ostalima koji su mi omogućili da mi studentski život bude lakši i ljepši i istovremeno ga učinili zabavnim i nezaboravnim!

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Diplomski rad

Varijante gena za katehol-O-metiltransferazu u bolesnika s depresijom

Barbara Vuić

Rooseveltove trg 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

SAŽETAK

Depresija je jedan od najučestalijih psihijatrijskih poremećaja današnjice, a obilježavaju ga sniženo raspoloženje, gubitak interesa i zadovoljstva, osjećaj krivnje i manje vrijednosti, poremećaji apetita i sna, smanjena koncentracija, nedostatak životne energije te povećani suicidalni rizik. Pojavnost ove ozbiljne bolesti vrlo je složena i uključuje brojne rizične gene i okolišne čimbenike, a njezin nastanak pokušavaju objasniti razne teorije. Prema monoaminskoj hipotezi, na kojoj se zasniva aktualna farmakološka terapija, u podlozi depresije nalazi se poremećaj monoaminskih (serotonin, dopamin, noradrenalin) neurotransmitorskih sustava u mozgu. Katehol-O-metiltransferaza (COMT) je enzim koji razgrađuje kateholamine, uključujući neurotransmitore dopamin i noradrenalin, koji igraju važnu ulogu u nastanku depresivnih simptoma. Enzim je kodiran genom *COMT* koji se kod ljudi nalazi na 22. kromosomu, a sadrži veliki broj polimorfizama koji mogu imati utjecaj na neurotransmisiju i time pridonijeti razvoju depresije. Iako su raznovrsne studije istraživale varijante gena *COMT* vezano uz neurofiziološke, bihevioralne i kliničke fenotipove depresije, kao i uz odgovor na terapiju antidepressivnim lijekovima, rezultati iz literature često su oprečni. Kako uloga varijanti gena *COMT* u razvoju depresije nije jasna, cilj istraživanja bio je utvrditi postoji li u osoba oboljelih od depresije povezanost varijanti rs4680 i rs4818 gena *COMT* s težinom depresivnih simptoma. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da nema statistički značajne povezanosti dviju varijanti gena *COMT* sa simptomima depresije, osim rs4680 varijante s hipohondrijskim simptomima HAMD ljestvice.

(57 stranica, 18 slika, 14 tablica, 112 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Ključne riječi: depresija, COMT, rs4680, rs4818, HAMD, MADRS

Voditelj: doc. dr. sc. Dubravka Švob Štrac, viša znanstvena suradnica, Institut Ruđer Bošković, Zagreb

Suvoditelj: prof. dr. sc. Dubravka Hranilović, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu

Ocjenitelji: prof. dr. sc. Dubravka Hranilović, izv. prof. dr. sc. Inga Marijanović, izv. prof. dr. sc. Petar Kružić

Rad prihvaćen: 18.09.2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Division of Biology

Graduation Thesis

Catechol-O-methyltransferase gene variants in patients with depressive disorder

Barbara Vuić

Rooseveltova trg 6, 10 000 Zagreb, Croatia

ABSTRACT

Depression is one of the most common psychiatric disorders nowadays characterized by reduced mood, loss of interest and satisfaction, guilt and low self-value, appetite and sleep disorders, reduced concentration, lack of life energy and increased suicid risk. The occurrence of this serious disease is very complex and it involves many risk genes and environmental factors so various theories try to explain its origin. According to the monoamine hypothesis, on which current pharmacological therapy is based, depression is characterized by the disruption of monoamine (serotonin, dopamine, noradrenaline) neurotransmitter systems of the brain. Catechol-O-methyltransferase (COMT) is an enzyme that degrades catecholamines, including neurotransmitter dopamine and noradrenaline, which play an important role in the occurrence of depression symptoms. The enzyme is encoded by the gene *COMT*, which is located on the 22nd chromosome in humans and it contains a large number of polymorphisms that may have an effect on neurotransmission and thus contribute to the development of depression. Although various studies have investigated *COMT* gene variants associated with neurophysiological, behavioral and clinical phenotypes of depression, as well as responding to antidepressant therapy, the literature results are often contradictory. As the role of the *COMT* gene in the development of depression is not clear, the aim of the study was to determine whether there is any association between the rs4680 and rs4818 *COMT* genetic polymorphisms with the severity of depression symptoms in depressed patients. The results of this study showed that there was no statistically significant association of the two *COMT* gene variants with severity of depression symptoms, except rs4680 with hypochondriacal symptoms of HAMD scale.

(57 pages, 18 pictures, 14 tables, 112 references, original in: Croatian)

Thesis deposited in the Central Biological Library

Key words: depression, COMT, rs4680, rs4818, HAMD, MADRS

Supervisor: Dubravka Švob Štrac, PhD, Senior Research Associate, Rudjer Boskovic Institute

Co-supervisor: Professor Dubravka Hranilović, PhD, Faculty of Science, University of Science

Reviewers: Prof. Dubravka Hranilović, PhD, Assoc. Prof. Inga Marijanović, PhD, Assoc. Prof. Petar Kružić, PhD

Thesis accepted: 18.09.2019.

POPIS KRATICA

3M4HM – 3-metoksi-4-hidroksimandelična kiselina

3M4HPG – 3-metoksi-4-hidroksifenilglikol

5-HT – 5-hidroksitriptamin (serotonin)

5-HTR – 5-hidroksitriptamin (serotoninski) receptor

ACD – eng. *Acid Citrate Dextrose*

AMPA - eng. *alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid*

ANOVA – eng. *Analysis Of Variance*

AR – adrenergički receptor

CNS – središnji živčani sustav, eng. *Central Nervous System*

COMT – katehol-O-metiltransferaza enzim, eng. *Catechol-O-Methyltransferase*

COMT – katehol-O-metiltransferaza gen

CPRS - eng. *the Comprehensive Psychopathological Rating Scale*

DA – dopamin

DAT – dopaminski prijenosnik

DMDD – eng. *Disruptive Mood Dysregulation Disorder*

DNA – deoksiribonukleinska kiselina, eng. *Deoxyribonucleic Acid*

DNC – 3,5-dihidrokathehol

DOPA – dihidroksifenilalanin

DSM-5 – dijagnostički i statistički priručnik za duševne poremećaje, eng. *The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition*

GluR – glutamatni receptori

HAMD-17 - eng. *Hamilton Depression Rating Scale (HDRS, Ham-D)*

ICD – 10 - eng. *International Statistical Classification of Diseases and Related Health*

KA1-2R – kainatni receptori 1-2

LD – neravnoteža udruživanja, eng. *Linkage Disequilibrium*

MADRS - eng. *Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale*

MAO – monoamino oksidaza

MB-COMT – membranski vezana izoforma COMT-a, eng. *Membrane-Bound*

MDD – veliki depresivni poremećaj, eng. *Major Depressive Disorder*

Met – metionin

NAC – *nucleus accumbens*

NaCl – natrijev klorid

NE – noradrenalin, eng. *Norepinephrine*

NMDAR – N-metil-D-aspartat receptor

P1 – promotor 1

P2 – promotor 2

PCR – lančana reakcija polimerazom, eng. *Polymerase Chain Reaction*

PMDD – premenstrualni disforični poremećaj, eng. *Premenstrual Dysphoric Disorder*

RCLB – pufer za lizu eritrocita, eng. *Red Cell Lysis Buffer*

Real-time PCR – lančana reakcija polimerazom u stvarnom vremenu

RPM – okretaj u minuti, eng. *Rotation Per Minute*

SAH – S-adenozil-L-homocistein

SAM – S-adenozil-L-metionin

S-COMT – u citosolu topiva izoforma COMT-a, eng. *Soluble*

SDS – natrij-dodecil sulfat, eng. *Sodium Dodecyl Sulfate*

SE pufer – natrij-EDTA pufer

SNP – polimorfizam jednog nukleotida, eng. *Single Nucleotide Polymorphism*

SNRI – inhibitori ponovne pohrane serotonina i noradrenalina, eng. *Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitors*

SSRI – selektivni inhibitori ponovne pohrane serotonina, eng. *Selective Serotonin Reuptake Inhibitors*

STAR*D - eng. *Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression*

TE pufer – tris-EDTA pufer

TPH2 – triptofan hidroksilaza-2 gen

Val – valin

VTA – ventralna tegmentalna regija, eng. *Ventral Tegmental Area*

WHO – Svjetska zdravstvena organizacija, eng. *World Health Organization*

Sadržaj

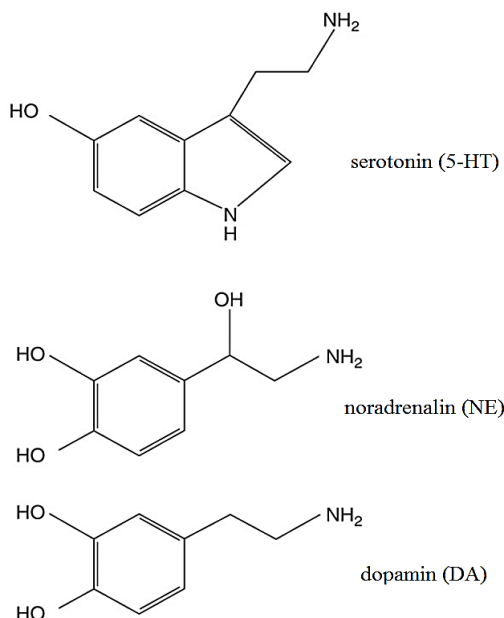
| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 1.1. Monoaminski neurotransmitori | 1 |
| 1.1.1. Serotonergička neurotransmisija | 3 |
| 1.1.2. Dopaminergička neurotransmisija | 4 |
| 1.1.3. Noradrenergička neurotransmisija | 6 |
| 1.2. Depresija | 6 |
| 1.2.1. Veliki depresivni poremećaj (eng. <i>Major Depressive Disorder</i> , MDD) | 7 |
| 1.2.2. Monoaminska hipoteza nastanka depresije | 8 |
| 1.2.3. Antidepresivi i druge metode liječenja depresije | 9 |
| 1.3. Katehol-O-metiltransferaza (COMT) | 11 |
| 1.3.1. Gen <i>COMT</i> i njegove varijante (polimorfizmi) | 13 |
| 1.3.2. <i>COMT</i> i depresija | 16 |
| 2. CILJ ISTRAŽIVANJA | 18 |
| 3. MATERIJALI I METODE | 19 |
| 3.1. Uzorci ispitanika | 19 |
| 3.2. Izolacija DNA iz krvi metodom isoljavanja | 20 |
| 3.3. Određivanje genotipova s obzirom na varijante rs4818 i rs4680 gena <i>COMT</i> | 21 |
| 3.4. Statistička obrada podataka | 24 |
| 4. REZULTATI | 25 |
| 4.1. Demografski podaci | 25 |
| 4.2. Genotipovi varijanti rs4818 i rs4680 gena <i>COMT</i> u kontrolnoj skupini i skupini depresivnih ispitanika | 26 |
| 4.3. Haplotipovi varijanti rs4818 i rs4680 gena <i>COMT</i> u kontrolnoj skupini i skupini depresivnih ispitanika | 29 |
| 4.4. Povezanost varijanti rs4818 i rs4680 gena <i>COMT</i> s težinom simptoma kod ispitanika s depresijom | 30 |
| 5. RASPRAVA | 36 |

| | |
|---------------------|----|
| 6. ZAKLJUČAK | 40 |
| 7. LITERATURA | 41 |
| 8. PRILOZI | 51 |

1. UVOD

1.1. Monoaminski neurotransmitori

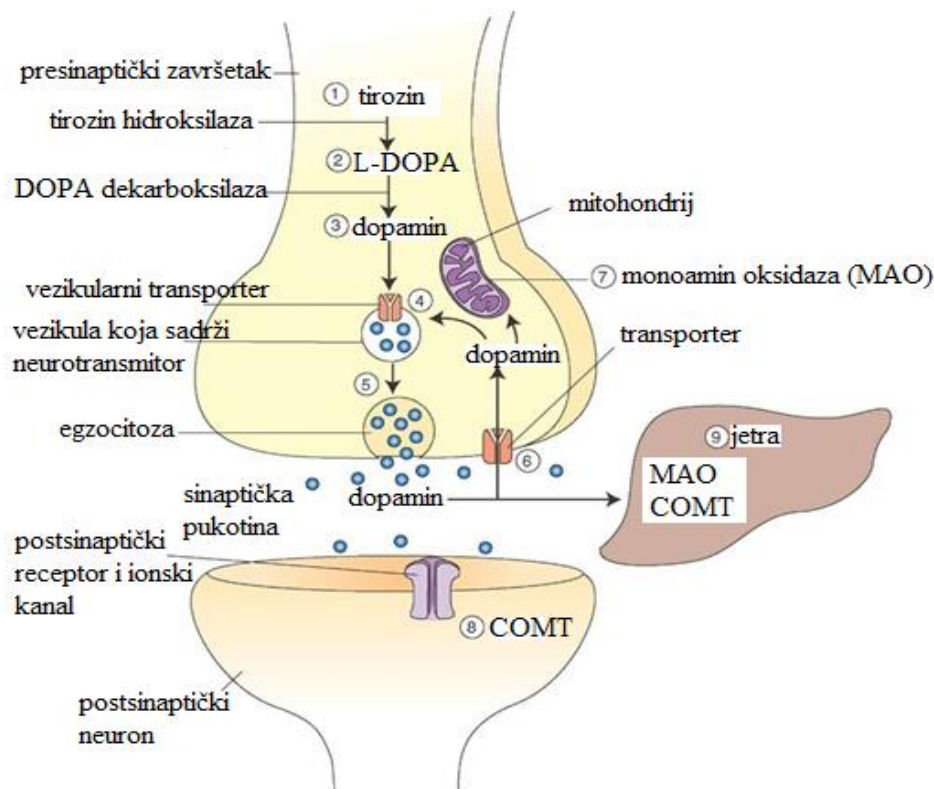
Monoaminskim neurotransmitorima pripadaju biogeni amini: adrenalin, noradrenalin (NE, eng. *Norepinephrine*), dopamin (DA), histamin i serotonin (5-HT, 5-hidroksitriptamin) (Kovács, 2004). Poremećaji monoaminskih neurotransmitora sve su češće prepoznati u obliku naslijeđenih neurometaboličkih sindroma uzrokovanih nepravilnostima u sintezi, prijenosu i metabolizmu kateholamina dopamina, adrenalina i noradrenalina te indolamina serotonina (Marecos i sur., 2014). Iako su za normalnu moždanu funkciju neopohodni svi neurotransmitori, smatra se da su u depresiji posebno značajni dopamin, noradrenalin i serotonin (Slika 1.). Naime, povećane ili snižene razine tih triju monoamina najčešće se povezuju s osnovnim simptomima depresije (Nutt, 2008).



Slika 1. Molekularne strukture serotonina (5-HT), noradrenalina (NE) i dopamina (DA) (preuzeto i prilagođeno s https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structures-of-MDMA-Ecstasy-MDEA-MDA-serotonin-5-HT-norepinephrine-and_fig1_7183482)

Dopamin (DA) je kateholamin iz kojeg pomoću enzima dopamin β -hidroksilaze nastaje noradrenalin (NE), a iz noradrenalina uz enzim feniletanolamin-N-metiltransferazu adrenalin (https://www.pharmacorama.com/en/Sections/Catecholamines_3.php). Serotonin je derivat triptamina koji na poziciji 5 ima hidroksilnu skupinu, a sintetizira se iz aminokiseline L-triptofana (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5202>).

Osim neurotransmitora proizvedenih od strane živčanog sustava, kateholaminima pripadaju i cirkulirajući hormoni sintetizirani u srži nadbubrežne žlijezde (Simmons i Wohl, 2009). Svi kateholamini dobivaju se iz zajedničkog prekursora, aminokiseline tirozina. Prvi korak u sintezi kateholamina katalizira enzim tirozin hidroksilaza te nastaje dihidroksifenilalanin (DOPA) (Kovács, 2004). Na Slici 2. prikazana je sinteza i ciklus djelovanja kateholamina na primjeru dopamina.

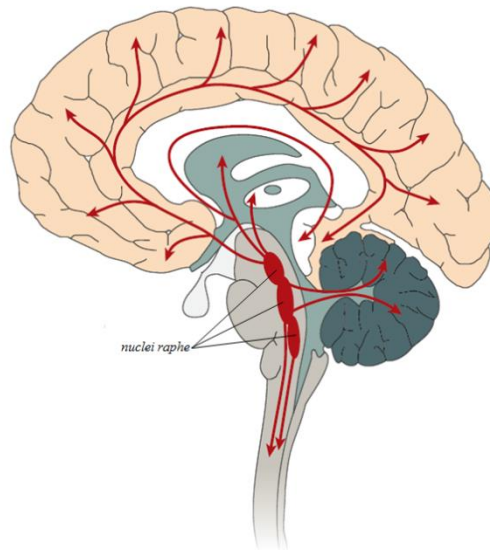


Slika 2. Sinteza i ciklus djelovanja kateholamina na primjeru dopamina; na slici su označeni brojevima: 1) prekursor za sintezu neurotransmitora dopamina – tirozin, 2) enzim tirozin hidroksilaza koji pretvara tirozin u dihidroksifenilalanin (DOPA-u), 3) enzim DOPA dekarboksilaza koji pretvara DOPA-u u dopamin, 4) pakiranje dopamina u vezikule aktivnim prijenosom, 5) izbacivanje dopamina u sinaptičku pukotinu (egzocitoza), 6) ponovni unos dopamina u presinaptički neuron dopaminskim prijenosnikom (glavni mehanizam inaktivacije) i njegovo skladištenje u vezikule za ponovnu upotrebu, 7) drugi dio dopamina metabolizira mitohondrijska monoamino oksidaza (MAO), 8) dio dopamina koji se aktivno prenosi u postsinaptički neuron gdje ga inaktivira enzim katehol-O-metiltransferaza (COMT) i 9) preostali dio dopamina iz sinaptičke pukotine cirkulacijom odlazi do jetre gdje ga metaboliziraju enzimi COMT i MAO (preuzeto i prilagođeno s <http://what-when-how.com/neuroscience/neurotransmitters-the-neuron-part-3/>)

Stres pokreće složenu reakciju živčanog i endokrinog sustava, takozvani „bori se ili bježi“ odgovor. Taj brzi odgovor posredovan je na prvom mjestu kateholaminima adrenalinom i noradrenalinom, izlučenim iz srži nadbubrežne žlijezde. Kateholaminski neurohormoni, koji su u interakciji s adrenergičkim receptorima prisutnim na staničnim membranama visceralnih organa i glatkih mišića, vode do aktivacije signalnih puteva i uzrokuju promjene u funkciji organa i tonusu glatkih mišića. Tijekom „bori se ili bježi“ odgovora porast adrenalina i noradrenalina iz srži nadbubrežne žlijezde i noradrenalina iz simpatičkih živčanih završetaka uzrokuje povećani krvni tlak, pojačani rad srca, relaksaciju bronhijalnih i intestinalnih mišića te drugih glatkih mišića. Iako je taj brzi odgovor nužan za preživljavanje, povišene razine cirkulirajućih kateholamina kroz duži vremenski period mogu uzrokovati patološka stanja poput hipertrofije srčanog mišića, srčanog udara, hipertenzije i posttraumatskog stresnog poremećaja. Cirkulirajući kateholamini također mogu mijenjati memoriju budući da djeluju na aferentne senzoričke neurone i tako utjecati na funkciju živčanog sustava (Tank i Lee Wong, 2015). Uz navedene kateholamine, serotonin također oblikuje živčanu aktivnost i široki spektar neuropsiholoških procesa (Berger i sur., 2009).

1.1.1. Serotonergička neurotransmisija

Serotonin i serotoninški receptori važni su u regulaciji svih funkcija mozga i disregulacija serotonergičkog sustava je uključena u patogenezu mnogih psihijatrijskih i neuroloških poremećaja. Serotoninški receptori (5-HTR) su podijeljeni u 7 skupina, od 5-HTR₁ do 5-HTR₇, s obzirom na njihovu rasprostranjenost, molekularnu strukturu, odgovor i funkciju. Svi su G-protein vezujući receptori, osim 5-HTR₃ receptora koji je ionski kanal reguliran ligandom. Iako su 5-HTR široko rasprostranjeni u središnjem živčanom sustavu (CNS) i u manjoj mjeri u nekim perifernim organima, prefrontalni korteks i hipokampus eksprimiraju gotovo sve 5-HTR (Švob Štrac i sur., 2016). 5-HTR₁ (točnije podtipovi 5-HTR_{1A}, 5-HTR_{1B/D}, 5-HTR_{2A}, 5-HTR_{2C}), 5-HTR₃, 5-HTR₆ i 5-HTR₇ su povezani s depresijom (Köhler i sur., 2015). Serotonin oblikuje gotovo sve ljudske bihevioralne i neuropsihijatrijske procese, među kojima su raspoloženje, percepcija, ljutnja, agresija, apetit, pamćenje, seksualnost i drugi. Samo mali broj neurona CNS-a proizvodi serotonin i većina serotonina u ljudskom tijelu pronađena je izvan CNS-a. Međutim, serotoninški neuroni šalju uzlazne signale u kortikalnu i limbičku regiju te srednji i stražnji mozak (Slika 3.) te moduliraju aktivnost brojnih neuralnih krugova u ljudskom mozgu (Berger i sur., 2009).



Slika 3. Središnji serotonergički putevi (Berger i sur., 2009)

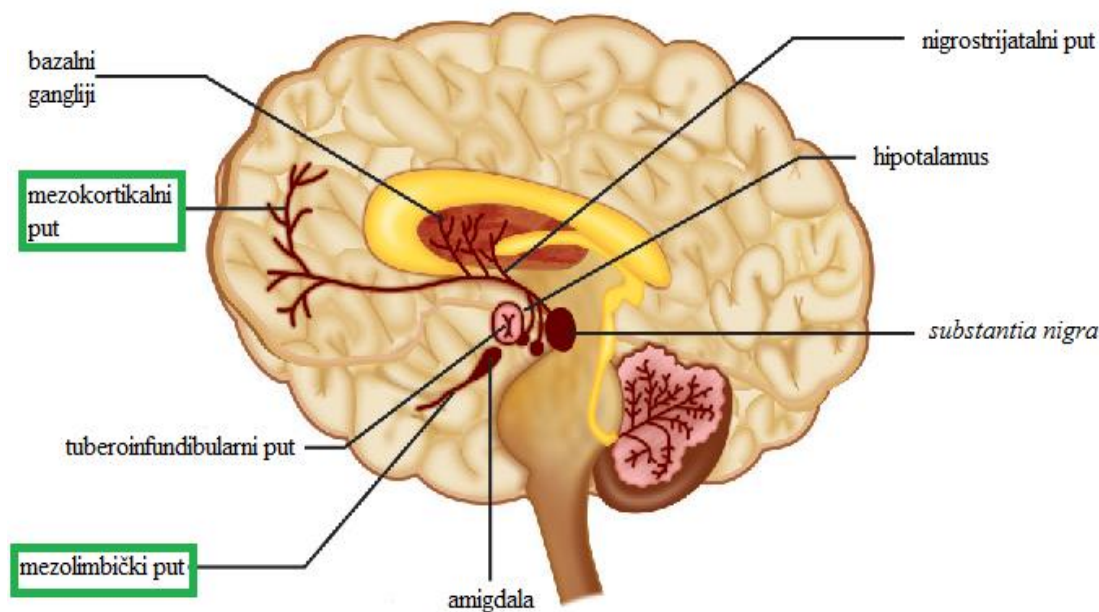
Na Slici 3. prikazani su središnji serotonergički putevi. Serotonin se u CNS-u gotovo isključivo proizvodi u neuronima jezgara rafi (*nuclei raphe*) koje su smještene u sredini moždanog debla. Ti neuroni formiraju najveći i najsloženiji eferentni sustav u ljudskom mozgu. Kaudalne rafe inerviraju leđnu moždinu, dok rostralne, dorzalne i medijalne inerviraju većinu preostalog CNS-a. Gotova svaka stanica u mozgu je u blizini serotonergičkog vlakna i gotovo sva ponašanja (jednako kao i druge funkcije mozga) su regulirana serotoninom. Stoga su serotoninški receptori i transporter glavna meta u razvoju lijekova za CNS, a mnogi trenutno dostupni lijekovi moduliraju neurotransmisiju serotonina (Berger i sur., 2009).

1.1.2. Dopaminergička neurotransmisija

Neurotransmitor dopamin također ima važnu ulogu u CNS-u. Kontrolira različite psihološke funkcije u mozgu djelujući preko svojih G-protein vezujućih receptora D1, D2, D3, D4 i D5 (Mishra i sur., 2018). Postoje četiri glavna dopaminergička puta u mozgu: mezolimbčki, mezkortikalni, nigrostrijatalni i tuberoinfundibularni dopaminergički put (Slika 4.). Mezkortikalni i mezolimbčki dopaminergički putevi uključeni su u dva osnovna simptoma depresije, anhedoniju (odsustvo zadovoljstva) i gubitak motivacije. Aksoni dopaminergičkih neurona smješteni su u *nucleusu accumbensu* (NAc), a tijela i dendriti u ventralnoj tegmentalnoj regiji (VTA). Taj sustav ima potencijalnu ulogu u patofiziologiji i etiologiji depresije (Amidfar M., 2018).

Dopamin ima ulogu u regulaciji motivacije, psihomotornoj pokretljivosti, koncentraciji, sposobnosti doživljaja užitka, pa su poremećaji u tim funkcijama i osnovna obilježja

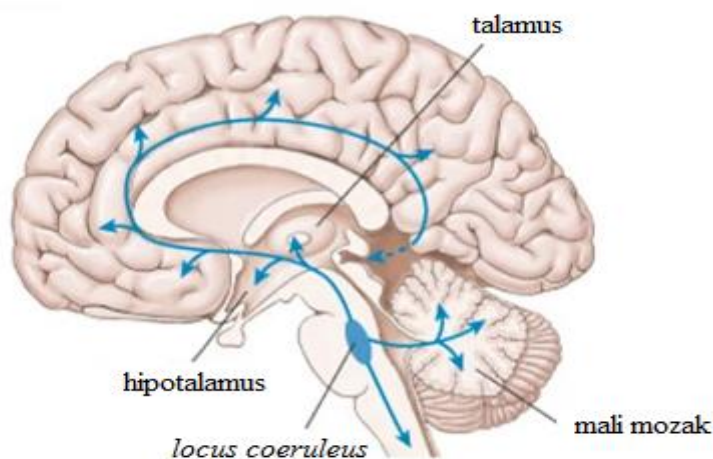
depresivnih simptoma. Povezanost dopamina i depresije uočena je u niskim koncentracijama metabolita dopamina (homovanilične kiseline) u cerebrospinalnoj tekućini depresivnih bolesnika. Simptomi anhedonije su također povezani s promijenjenom mezolimbikom dopaminskom transmisijom. Uočena je smanjena gustoća dopaminskog prijenosnika (DAT) i pojačano vezanje D2/D3 dopaminskog receptora u središnjim i bazalnim jezgrama postmortalnih amigdala depresivnih bolesnika. Također je uočena i povećana regulacija dopaminskih D2/D3 receptora i smanjena aktivnost DAT-a, što ukazuje na moguće kompenzatorne mehanizme koji prate nedostatak funkcije mezolimbikog dopaminergičkog sustava kod pacijenata s depresijom (Amidfar M., 2018). *Nucleus accumbens* (NAc) bi također mogao biti uključen u patofiziologiju depresije budući da prima signale od mezolimbikih dopaminergičkih neurona. To se događa uslijed pojačane dopaminergičke funkcije u mezolimbikom sustavu koja se očituje pojačanom ekspresijom dopaminskih D2 i D3 receptora te otpuštanjem dopamina. Poremećena dopaminergička neurotransmisija u mezolimbikom sustavu stoga je predložena kao mogući uzrok nastanka osnovnih simptoma depresije koji uključuju anhedoniju, gubitak motivacije i psihomotornu retardaciju (Amidfar M., 2018).



Slika 4. Dopaminergički putevi u mozgu; zelenom bojom označeni su mezolimbikni i mezokortikalni dopaminergički putevi značajni za depresiju (preuzeto i prilagođeno s <https://www.semanticscholar.org/paper/Neuroleptic-malignant-syndrome.-Bhandari/96d99be027af21846f8811eee3592be9a10a8d50/figure/0>)

1.1.3. Noradrenergička neurotransmisija

Smanjena noradrenergička neurotransmisija povezana je sa smanjenom energijom, problemima s koncentracijom, pažnjom i kognitivnim sposobnostima. Noradrenalin iskazuje svoje učinke vezanjem za G-protein vezujuće α - i β -adrenergičke receptore (AR). α -AR se dalje dijele na α_1 i α_2 i svaki od njih na još 3 podvrste: α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} te α_{2A} , α_{2B} i α_{2C} . β -AR uključuju β_1 , β_2 i β_3 podtipove (Maletic i sur., 2017). Noradrenergički putevi u mozgu proizlaze iz tijela stanica u *locusu coeruleusu* i šalju signale u različite regije mozga i leđne moždine (Slika 5.). Osim glavnih signala u frontalni korteks, noradrenergički neuroni šalju signale i u limbički sustav, čije su komponente (amigdala, hipokampus i hipotalamus) uključene u emocije i kogniciju, kao i u mnoge druge funkcije koje su promijenjene kod depresivnih bolesnika (apetit, odgovor na bol, stupanj zadovoljstva i agresivno ponašanje) (Moret i Briley, 2011).



Slika 5. Noradrenergički put (preuzeto i prilagođeno s

<https://www.optimoz.com.au/blogs/news/brain-soup-the-science-of-neurotransmitters-and-neuromodulators>)

1.2. Depresija

Depresija je poremećaj raspoloženja koji uzrokuje trajni osjećaj tuge i gubitka interesa (Chand i Arif, 2019). Česti je i onesposobljavajući psihijatrijski poremećaj sa složenom etiologijom koja uključuje predisponirajuće rizične gene i okolišne stresore (Antypa i sur., 2013). Depresija je opisana u 2 aktualne klasifikacije, DSM-5 (eng. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition*, APA 2013, <https://www.psychiatry.org/psychiatrists/practice/dsm>) i ICD-10 (eng. *International Statistical Classification of Diseases and Related Health*, WHO

2010, <https://www.who.int/health-topics/international-classification-of-diseases>). DSM-5 i ICD-10 nude različite kategorizacije depresije. Prema DSM-5 depresivni poremećaji dijele se na *disruptive mood dysregulation disorder* (DMDD), veliki depresivni poremećaj (eng. *Major Depressive Disorder*, MDD), perzistirajući depresivni poremećaj (distimiju), premenstrualni disforični poremećaj (PMDD), depresivni poremećaj uzrokovan lijekom/supstancom, depresivni poremećaj uslijed nekog drugog medicinskog stanja i druge specifične i nespecifične depresivne poremećaje. Prema ICD-10 klasifikaciji poremećaji raspoloženja ili afektivni poremećaji nose oznake F32, F33, F34 i F38. F32 označava prvu depresivnu epizodu, F33 povratni depresivni poremećaj, F34 perzistirajući poremećaj raspoloženja ili perzistirajući afektivni poremećaj i F38 druge poremećaje raspoloženja, odnosno druge afektivne poremećaje (Bernaras i sur., 2019). U ovom radu je korištena klasifikacija DSM-5.

1.2.1. Veliki depresivni poremećaj (eng. *Major Depressive Disorder*, MDD)

Veliki depresivni poremećaj (eng. *Major Depressive Disorder*) ili depresija u daljnjem tekstu jedan je od najčešćih psihijatrijskih poremećaja današnjice. Ozbiljni je i epizodni poremećaj povezan sa smanjenom mogućnosti funkcioniranja, smanjenom kvalitetom života, medicinskim morbiditetom i mortalitetom (Kessler i Bromet, 2013). Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO, eng. *World Health Organization*) depresija drži četvrto mjesto na ljestvici učestalosti svih bolesti i smatra se da će do 2020-e godine zauzeti drugo mjesto, slijedeći stope kardiovaskularnih bolesti (Kessler i Bromet, 2013). Kod ženskog dijela populacije depresija će uskoro biti na prvom mjestu učestalosti zbog njihove biološke specifičnosti. Tome u prilog ide činjenica da se depresija dvostruko češće pojavljuje kod žena, nego kod muškaraca. Smatra se da su uzrok tome hormonalne promjene koje se kod žena u reproduktivnoj dobi odvijaju tijekom jednog mjeseca, a imaju utjecaj na metabolizam, ponajprije serotonina (Begić, Jukić i Medved, 2015).

Simptomi velikog depresivnog poremećaja su depresivno raspoloženje, smanjeni interes i zadovoljstvo u svim ili gotovo svim aktivnostima, znatni gubitak tjelesne mase ili nakupljanje kilograma, smanjeni ili povećani apetit, nesanica ili hipersomnija, psihomotorna agitacija ili retardacija, umor ili gubitak energije, osjećaj bezvrijednosti i pretjerane krivnje, smanjena sposobnost mišljenja i koncentracije, ponavljajuće misli o smrti, ideje o samoubojstvu, pokušaj samoubojstva ili planovi za njegovo izvršenje (Otte i sur., 2016).

Depresija je gotovo uvijek multifaktorijalna bolest i u većini slučajeva je rezultat kombinacije akutnih i kroničnih stresora te bioloških, razvojnih i psihosocijalnih čimbenika (Tang i Pinsky, 2015). Ukoliko se poremećaj ne može objasniti obiteljskom povijesti ili stresnim životnim događajima, tada je moguće da osoba pati od neurološke bolesti. Depresivni simptomi mogu se rano pojaviti i kod djece i adolescenata uz poremećaje poput epileptičkih sindroma, poremećaja spavanja, nekih neurometaboličkih bolesti te intrakranijalnih tumora (Narbona, 2014).

Budući da su uzroci nastanka depresije kompleksni, nastoje se objasniti nizom bioloških i psihosocijalnih teorija. Od mnogih teorija, važno je spomenuti monoaminsku hipotezu, obzirom da se na njoj temelji aktualna farmakološka terapija (Ruhé i sur., 2007).

1.2.2. Monoaminska hipoteza nastanka depresije

Prema monoaminskoj hipotezi u srži nastanka depresije, s biološkog gledišta, leži neravnoteža u monoaminergičkoj neurotransmisiji (Köhler i sur., 2016). Tri neurotransitorska sustava uključena su u nastanak depresije: serotonergički, noradrenergički i dopaminergički sustav. Dokaz njihove uključenosti u patogenezu depresije su promjene u njihovom metabolizmu, broju i osjetljivosti njihovih receptora. Za depresivne bolesnike je karakteristična smanjena aktivnost triju navedenih sustava, ali i pretjerana osjetljivost receptora. Gubitak zadovoljstva i osjećaja sreće povezan je sa smanjenom koncentracijom serotonina u amigdalama, poremećaj spavanja s promjenama koncentracije serotonina u tijelima serotoninergičkih neurona u području centra za spavanje i pesimizam s padom koncentracije serotonina u prefrontalnom korteksu. Anoreksija, gubitak energije i libida su povezani sa smanjenom koncentracijom noradrenalina u hipokampusu i hipotalamusu, a psihomotorna retardacija sa smanjenom koncentracijom dopamina u bazalnim ganglijima. Također su i pad koncentracije i smanjenje funkcije autonomnog živčanog sustava povezani s promjenom aktivnosti noradrenergičkog sustava (Begić, Jukić i Medved, 2015).

Nadalje, serotonin ima ključnu ulogu naročito u mozgu, budući da je uključen u regulaciju funkcija važnih za život (apetit, spavanje, pamćenje, učenje, regulacija temperature, socijalno ponašanje i druge), jednako kao i u mnoga patološka stanja psihe (Nique i sur., 2014). Serotonin oblikuje neuroplastičnost posebno tijekom ranih godina života, stoga poremećaj u funkciji pridonosi nastanku depresije (Kraus i sur., 2017). Rezultati magnetske rezonancije kod životinja pokazali su da se smanjenje gustoće i veličine neurona te smanjenje volumena hipokampusa kod depresivnih jedinki događa uslijed promjena neuroplastičnosti uzrokovanih serotoninom (Bernaras i sur., 2019).

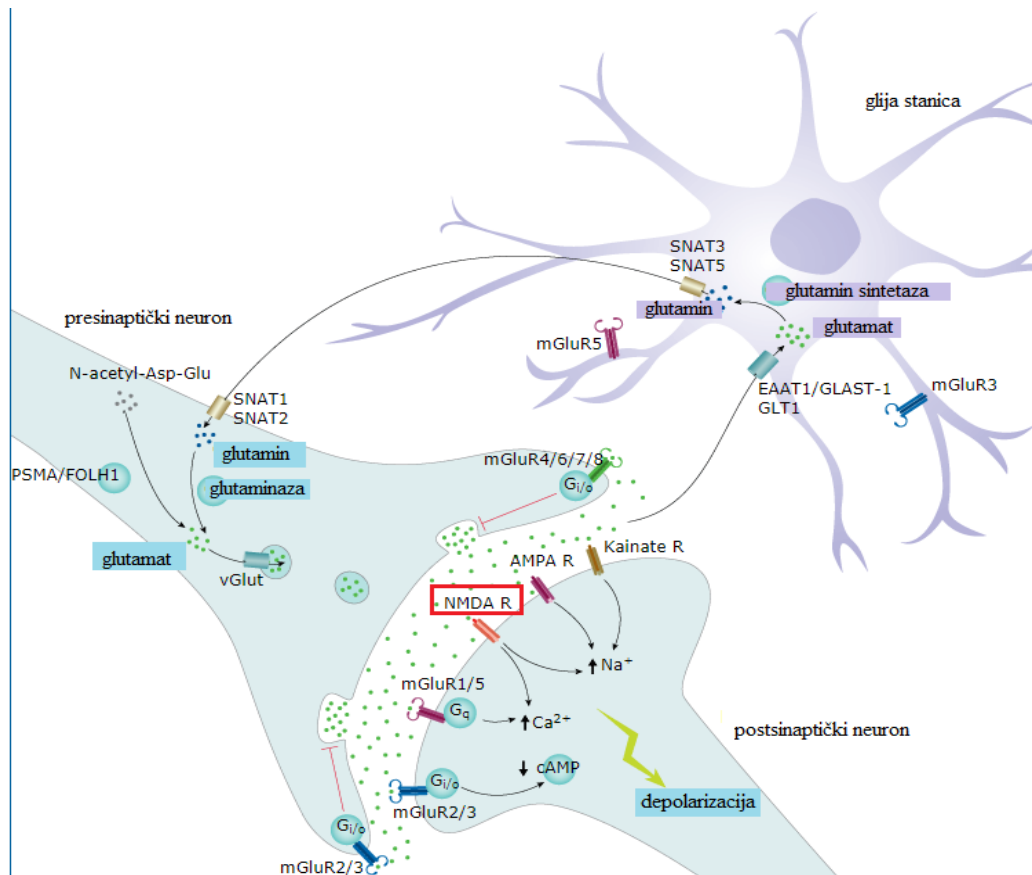
1.2.3. Antidepresivi i druge metode liječenja depresije

Danas je dostupan veliki broj antidepresiva, a pokazalo se da svi oni imaju gotovo jednaku učinkovitost u liječenju depresije. Zbog nuspojava i sigurnosnog profila, selektivni inhibitori ponovne pohrane serotonina (SSRI, eng. *Selective Serotonin Reuptake Inhibitors*) prva su linija u liječenju većine pacijenata s velikim depresivnim poremećajem (Gautam i sur., 2017). Od drugih selektivnih inhibitora ponovne pohrane monoamina ističu se reboksetin, selektivni inhibitor ponovne pohrane noradrenalina i bupropion, inhibitor ponovne pohrane noradrenalina i dopamina. Od dualnih inhibitora ponovne pohrane serotonina i noradrenalina (SNRI, eng. *Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitors*) ističu se venlafaksin i duloksetin (Harmer i sur., 2017).

Nedavna istraživanja dovode do otkrića lijekova koji istovremeno blokiraju ponovnu pohranu serotonina i imaju dodatne učinke na različite podtipove serotoniniskog (5-HT) receptora. Vilazodon je djelomični agonist aktivnosti 5-HT_{1A} receptora, dok se vortiooksetin veže na nekoliko podtipova serotoniniskog receptora (5HT_{1A}, 5HT_{1B}, 5HT_{1D}, 5HT₃ i 5HT₇). Imaju li ovi lijekovi prednost nad SSRI skupinom još uvijek nije poznato, ali je poznato da vilazodon uzrokuje manju seksualnu disfunkciju i da vortiooksetin ima posebnu korist u kognitivnom oštećenju uzrokovanom depresijom (Harmer i sur., 2017).

Međutim, upotreba trenutno dostupnih antidepresiva ograničena je njihovim nuspojavama, sporim djelovanjem i neadekvatnom učinkovitošću liječenja. Teško je postići potpunu remisiju pa pacijenti mogu patiti od zaostalih depresivnih simptoma i ne mogu se vratiti u prvobitno stanje. Trenutno dostupni antidepresivi mogu iskazivati svoj antidepresivni učinak kroz povećanje neuralne plastičnosti, stoga se razvijaju nove strategije liječenja depresivnog poremećaja. Istraživanje povezanosti glutamatergičkog sustava i depresije počinje s N-metil-D-aspartat (NMDA) receptorom (Slika 6.). NMDA receptor (NMDAR) je uključen u provođenje signala i kontrolu otvaranja i zatvaranja ionskih kanala. Smatra se da ima važnu ulogu u učenju i formiranju pamćenja te u patofiziologiji anksioznosti i depresivnog poremećaja. Kronična uporaba konvencionalnih antidepresiva može promijeniti funkciju NMDA receptora. U depresivnim bolesnicima je uočena disfunkcija glutamatergičkog sustava, stoga se i glutamatergički sustav smatra bitnim u patofiziologiji depresije. U skladu s time neurotransmisija putem NMDA receptora može biti nova meta u liječenju depresije, a tvari koje djeluju na glutamatergički sustav (posebno na NMDA receptor) potencijalni novi antidepresivi. Jedan od takvih je ketamin, antagonist NMDA receptora, koji ima brzi antidepresivni učinak,

ali njegova dugoročna učinkovitost i sigurnost izaziva zabrinutost te ga je potrebno detaljnije istražiti (Huang i sur., 2017).



Slika 6. Glutamatergička neurotransmisija; crvenom bojom je označen NMDA receptor (NMDAR) (preuzeto i prilagođeno s <https://www.rndsystems.com/pathways/synaptic-neurotransmission-pathways-glutamatergic-excitation>)

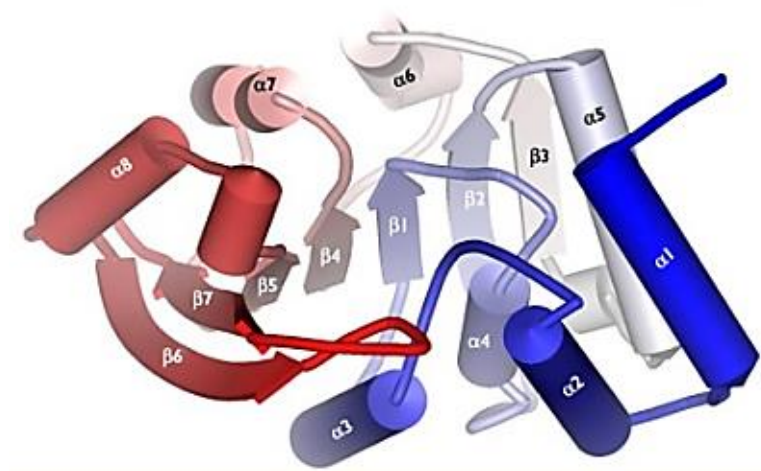
Glutamatergički receptori (GluR) glavni su ekscitatorni receptori u mozgu i dijele se na ionotropne i metabotropne. Ionotropni GluR su tetramerni kationski kanali koji pokreću depolarizaciju postsinaptičkih membrana uslijed presinaptičkog otpuštanja glutamata. Taj proces je važan u staničnim modelima učenja i memorije, moduliranju ekscitabilnosti neuralnih mreža i sudjelovanju u sazrijevanju sinapsi. Ionotropni GluR klasificirani su s obzirom na osjetljivost na AMPA (eng. *alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid*), kainatnu kiselinu i NMDA (eng. *N-methyl-D-aspartic acid*). AMPA receptori (GluR 1-4) izazivaju ekscitatorne postsinaptičke potencijale i posreduju u brznoj sinaptičkoj transmisiji. Suprotno njima, kainatni receptori (GluR 5-6 i KA1-2) i NMDA receptori (NR1-3) posreduju u sporij sinaptičkoj transmisiji i djeluju na plastičnost.

Bolesnicima koji imaju na terapiju rezistentnu depresiju, za pojačanje djelovanja lijeka koristi se stabilizator raspoloženja, antiepileptik lamotrigin. Također se primjenjuje i

elektrokonvulzivna terapija. Elektrokonvulzivnom terapijom se poništavaju patološki bioelektrični potencijali u središnjem živčanom sustavu i potom uspostavljaju normalni te se potiče ponovno povezivanje pojedinih neurona i uspostavljanje narušenih neuronskih krugova (Begić, Jukić i Medved, 2015). Osim navedenih metoda ova vrsta depresije može se liječiti ponavljajućom transkranijalnom magnetskom stimulacijom, svjetlosnom terapijom, izravnom transkranijalnom terapijom, stimulacijom vagusa, dubokom stimulacijom mozga i terapijom uskraćivanja sna. Trenutni rezultati upućuju na to da je ponavljajuća transkranijalna magnetska stimulacija, primijenjena na lijevi dorzolateralni prefrontalni korteks, obećavajuća strategija za liječenje depresije, ali ne pokazuju svi pacijenti pozitivan ishod. Još uvijek nije poznato koje trajanje i koji intenzitet stimulacije donosi najviše koristi, isto kao što ni ne postoji točna lokacija u mozgu za pojedinačno postavljanje zavojnica (Gautam i sur.,2017).

1.3.Katehol-O-metiltransferaza (COMT)

Katehol-O-metiltransferazu (COMT) su prvi put opisali Axelrod i Tomchick 1958-e godine (Axelrod i Tomchick, 1958). COMT protein sastavljen je od sedmerolančane β ploče koja je smještena između 2 seta α zavojnica, $\alpha 1$ - $\alpha 5$ zavojnica s jedne i $\alpha 6$ - $\alpha 8$ zavojnica s druge strane (Slika 7.) (Ma i sur., 2014). Taj enzim katalizira prijenos metilne skupine s S-adenozil-L-metionina (SAM-a) na jednu od hidroksilnih skupina kateholnog supstrata u prisutnosti magnezijevog iona (Mg^{2+}). Oduzimanjem metilne skupine S-adenozil-L-metionin (SAM) prelazi u S-adenozil-L-homocistein (SAH), a magnezijev ion pridonosi ionizaciji hidroksilne skupine i kontroli orijentacije kateholnog supstrata (Männistö i Kaakkola, 1999).



Slika 7. Tercijarna struktura COMT enzima (preuzeto iz rada Ma i sur., 2014)

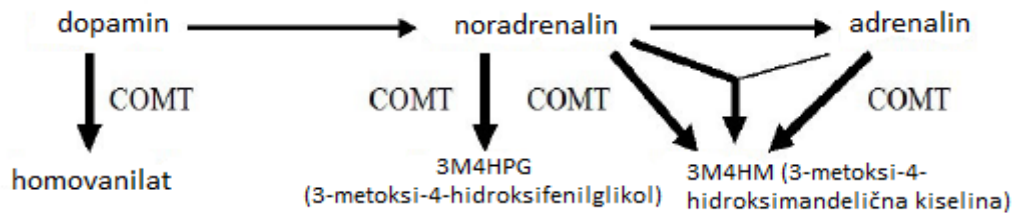
Uobičajeni endogeni supstrati su kateholaminski neurotransmitori dopamin, noradrenalin i adrenalin. Mnoge neuroaktivne tvari koje imaju kateholnu strukturu kao što ima L-DOPA mogu biti brzo inaktivirane COMT-om. Također se i kateholestrojeni poput 2-hidroksi- i 4-hidroksiestradiola, koji su stvoreni oksidativnim metabolizmom iz estradiola, metiliraju na isti način kao kateholamini (Nissinen i Männistö, 2010).

Enzim COMT postoji u dvije izoforme, izoformi topivoj u citosolu (S-COMT, eng. *Soluble*) i izoformi vezanoj za membranu hrapavog endoplazmatskog retikuluma (MB-COMT, eng. *Membrane-Bound*). Te dvije izoforme razlikuju se u 50 hidrofobnih aminokiselina koje tvore produžetak kojim se MB-COMT veže za membranu (Ma i sur., 2014). Aktivno mjesto i S-COMT-a i MB-COMT-a sastoji se od istih aminokiselina, a nalazi se na vanjskoj površini enzima u plitkom utoru i može vezati supstrate različitih struktura (Vidgren i Ovaska, 1997; Vidgren i sur., 1994). S-COMT i MB-COMT imaju jednaki afinitet za vezanje SAM-a, slični kapacitet za vezanje Mg^{2+} , inhibiciju kalcijem i optimalnu pH aktivnost. Međutim, afiniteti dvije izoforme enzima COMT prema supstratima značajno se razlikuju (McGregor, 2014). S-COMT ima mali afinitet i veliki kapacitet za dopamin, dok MB-COMT ima znatno veći afinitet i mali kapacitet (Guldborg i Mardsen, 1975; Roth, 1992). Iako su katalitička mjesta S-COMT-a i MB-COMT-a građena od istih aminokiselina, MB-COMT nudi bolje vezujuće interakcije bez ikakvih konformacijskih promjena u osnovnoj strukturi enzima (Bai i sur., 2007).

COMT prenosi metilnu skupinu na jednu od dvije kateholne hidroksilne skupine. Obje izoforme favoriziraju 3-O-metilaciju (*meta* pozicija) nad 4-O-metilacijom (*para* pozicija), međutim MB-COMT regionalno je selektivniji od S-COMT-a (Lotta i sur., 1995). Regionalna selektivnost O-metilacije može se objasniti činjenicom da se katalitičko mjesto COMT-a stabilizira u prisutnosti SAM-a i kateholamina (Bai i sur., 2007). MB-COMT ima veći afinitet za vezanje kateholamina od S-COMT-a. S druge strane, afinitet vezanja S-COMT-a veći je s kateholestrojenim supstratima, nego s kateholaminima. Stoga S-COMT ima važniju ulogu u inaktivaciji endogenih kateholestrojenih supstrata (Bai i sur., 2007).

COMT sudjeluje u putevima degradacije kateholamina (Slika 8.). COMT je u mozgu uključen u razgradnju kateholamina i od posebnog je značaja u frontalnom korteksu gdje utječe na kognitivno ponašanje, osobnost, planiranje i sprječavanje ponašanja, apstraktno razmišljanje, emocije i kratkoročno pamćenje (McGregor, 2014). U prefrontalnom korteksu dopaminski prijenosnik ne utječe na izvanstaničnu koncentraciju dopamina jer je prisutan u malim količinama pa su za inaktivaciju dopamina u prvom redu odgovorni katabolički enzimi

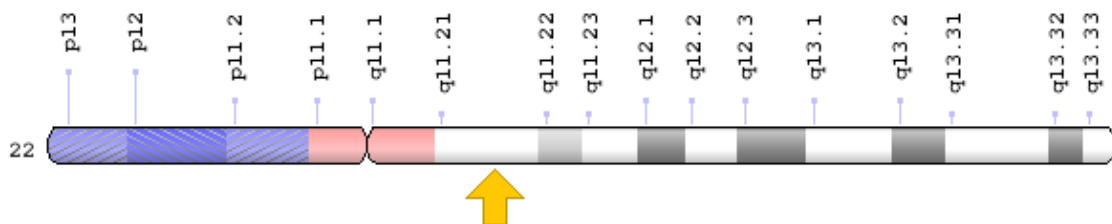
uključujući COMT (Chen i sur.,2004). Kako bi učinkovito funkcionirao, prefrontalni korteks zahtijeva signalizaciju neurotransmitorima, dopaminom i noradrenalinom. COMT pomaže u održavanju odgovarajućih razina neurotransmitora u ovom dijelu mozga (McGregor, 2014).



Slika 8. Putevi razgradnje kateholamina (preuzeto i prilagođeno iz rada autora McGregora, 2014)

1.3.1. Gen *COMT* i njegove varijante (polimorfizmi)

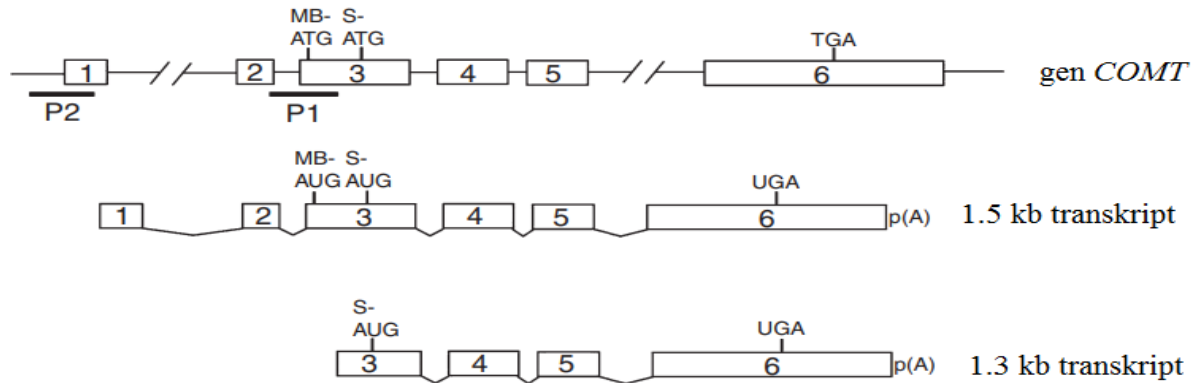
Gen za katehol-O-metiltransferazu smješten je na dugom kraku 22-og kromosoma, na lokaciji 22q11.21 (Slika 9.) (Grossman i sur., 1992).



Slika 9. Citogenska lokacija gena *COMT* (preuzeto s <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/COMT#location>)

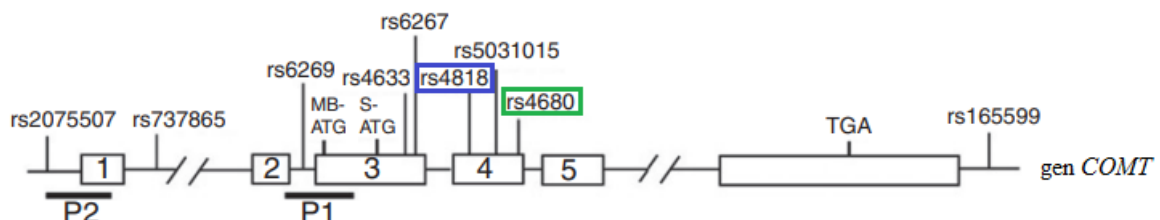
Čini ga 6 eksona koji kodiraju za 2 različite izoforme enzima, MB-COMT (protein od 271 aminokiseline) i S-COMT (protein od 221 aminokiseline). Prva 2 eksona su nekodirajuća (McGregor, 2014). Na trećem eksonu se nalaze 2 različita ATG start kodona za promotore P1 (promotor 1) i P2 (promotor 2) koji pokreću transkripciju dviju izoformi (Shield i sur., 2004). P1 započinje proizvodnju transkripta S-COMT-a dugog 1,3 kb, a P2 proizvodnju transkripta MB-COMT-a dugog 1,5 kb. Iz transkripta dugog 1,3 kb nastaje S-COMT, a iz transkripta dugog 1,5 kb mogu nastati i S-COMT i MB-COMT. To se događa iz razloga što je P1 smješten između startnih kodona S-COMT-a i MB-COMT-a pa dolazi do djelomičnog preklapanja sa sekvencom za MB-COMT. Slika 10. prikazuje strukturu gena *COMT*, lokaciju P1 i P2 te izoforme S-COMT i MB-COMT. MB-COMT dominantna je izoforma u mozgu, dok je S-COMT izoforma

prisutna u perifernim tkivima (Tenhunen i sur., 1994). MB-COMT je važan u frontalnom korteksu i strijatalnim neuronima, koji primaju signale od dopaminergičkih neurona, jer su ta područja odgovorna za razgradnju 60% dopamina (Gogos i sur. 1998; Huotari i sur., 2002).



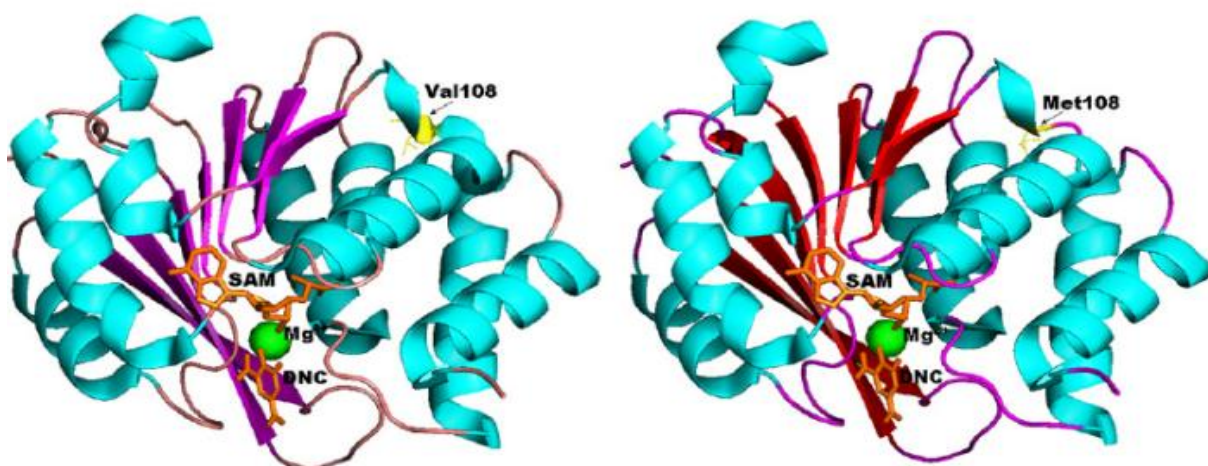
Slika 10. Struktura gena *COMT*, promotori i izoforme S-COMT i MB-COMT (preuzeto i prilagođeno iz rada autorice Tunbridge, 2010)

SNP (eng. *Single Nucleotide Polymorphism*) ili polimorfizam jednog nukleotida najčešći je oblik genske varijacije kod ljudi. Svaki SNP predstavlja razliku u jednoj bazi, odnosno nukleotidu, koji grade DNA molekulu. SNP-ovi su normalno prisutni u ljudskoj DNA, gdje je učestalost rjeđeg alela $> 1\%$ u populaciji. Mogu služiti kao biološki biljezi, pomažući znanstvenicima locirati gene koji su povezani s bolesti. Kada je SNP prisutan u genu ili u regulatornoj regiji u blizini gena, tada može (ali i ne mora) utjecati na funkciju gena i imati izravnu ulogu u bolesti (<https://ghr.nlm.nih.gov/primer/genomicresearch/snp>). U ljudskom *COMT*-u je identificirano 314 polimorfnihih varijanti do 2010-e godine, međutim mnoge od njih nisu potvrđene i veliki broj se pojavljuje s malom učestalošću (Tunbridge, 2010). Na Slici 11. prikazani su polimorfizmi gena *COMT*, s naglaskom na rs4680 i rs4818, čija je povezanost s depresijom istraživana u ovom radu. Oba se polimorfizma nalaze na 4. eksonu.



Slika 11. Lokacija polimorfizama gena *COMT*. Zelenom bojom je označen polimorfizam rs4680, a plavom bojom polimorfizam rs4818 (preuzeto iz rada autorice Tudbridge, 2010)

Za *COMT* polimorfizam rs4680, podaci dobiveni sekvenciranjem pokazali su zamjenu baze adenina bazom gvanin, odnosno aminokiseline valin aminokiselinom metionin na poziciji 158 kod MB-COMT-a i 108 kod S-COMT-a. Na Slici 12. je prikazana izvorna i polimorfna kristalna struktura S-COMT-a. Promijenjena forma dobila je oznaku rs4680 ili *COMT108/158*. Glavna razlika između *COMT108/158* i izvornog gena (eng. *wild gene*) je u enzimskoj ekspresiji proteina. *COMT108/158* ima smanjenu enzimsku ekspresiju proteina. Niže razine enzimске ekspresije proteina pripisane su bržem vremenu raspada, odnosno deaktivaciji enzima. Normalna izoforma enzima *COMT108/158* valin ima vrijeme poluživota 4,7 dana, dok je trajanje života metionin izoforme (spore izoforme) 3 dana. To je dalje objašnjeno promijenjenim staničnim okolišem u kojem povećani oksidativni uvjeti dovode do znatnog smanjenja enzimске ekspresije proteina. Iz toga je zaključeno da je spora izoforma možda povezana s bržim raspadom enzima (McGregor, 2014). Spora varijanta rs4680 povezana je s nižom termostabilnosti, četverostruko manjom enzimskom aktivnosti, nižom ekspresijom proteina i većom aktivnosti dopamina od normalne varijante (Sagud i sur., 2018).



Slika 12. Prikaz kristalne strukture ljudskog izvornog i polimorfnog S-COMT-a; lijevo je označen S-COMT s aminokiselinom valin (Val) na poziciji 108, a desno S-COMT s aminokiselinom metionin (Met) na poziciji 108; DNC označava 3,5-dihidrokathehol (analog supstrata) (preuzeto s https://www.researchgate.net/figure/Crystal-structure-of-human-S-COMT-Structure-of-human-S-COMT-A-108V-and-B-108M-bound_fig3_259327808)

Druga dobro istražena varijanta gena *COMT* je rs4818. U ovom slučaju je došlo do zamjene baze citozin bazom gvanin (šifra kodira za istu aminokiselinu - leucin) u kodonu 86 S-COMT-a, odnosno u kodonu 136 MB-COMT-a. Varijanta koja sadrži gvanin povezana je s većom aktivnosti COMT-a i nižom dopaminskom aktivnosti u prefrontalnom korteksu. Varijanta

rs4818 uzrokuje veću razliku u aktivnosti COMT-a u usporedbi s varijantom rs4680 (Sagud i sur., 2018).

Nadalje, kombinacija G703T alela triptofan hidroksilaza-2 gena – *TPH2* (gen kodira za ključni enzim u stvaranju serotonina u mozgu i povezan je s brojnim psihijatrijskim stanjima – Lehto i sur., 2015), važnog u oblikovanju živčanog prijenosa serotonina, i *COMT108/158* alela je daleko bolja u kontroli emocija i socijalne kognicije, nego druge kombinacije alela. Zato se smatra da *COMT108/158* štiti od promjene funkcije mozga uzrokovane serotoninom i zajedno s još nekoliko varijacija u genima serotoninskog sustava ima povoljne ishode za one koji ga imaju (McGregor, 2014).

1.3.2. *COMT* i depresija

COMT ima ulogu u regulaciji razina kateholamina i enkefalina (endogenih opioidnih peptida koji imaju ulogu u analgeziji i supresiji boli nakon izlaganja stresnom podražaju; Henry i sur., 2017), pa se smatra ključnim regulatorom percepcije boli. Među pojedincima koji boluju od depresivnog poremećaja često je prisutan tjelesni osjećaj patnje, odnosno bol. Pronađene su brojne neurobiološke poveznice između depresije i boli među kojima su aktivacija i promjena istih anatomskih struktura (inzularni korteks, prefrontalni korteks, anteriorni cingulatni korteks, amigdala i hipokampus), aktivacija istih neuralnih krugova (uzlazni i silazni putevi boli) i iste neurokemikalije (citokini) (Fijal i sur., 2010).

Nadalje, polimorfizam rs4680 ima različite učinke u različitim etničkim populacijama. Otkrivena je povezanost između *COMT158Met* alela i depresivnog poremećaja kod pojedinaca istočnoazijskog porijekla te *COMT158Val* alela i depresivnog poremećaja kod pojedinaca europskog porijekla. Val alel povećava rizik od razvoja depresivnog poremećaja kod pojedinaca europskog porijekla, dok je Met alel rizični alel za pojedince istočnoazijskog porijekla (Wang i sur., 2016).

Utjecaj *COMT*-a na suicidalno ponašanje kod pojedinaca neosjetljivih na terapiju antidepresivom istražen je kroz 7 SNP-ova (kojima pripadaju rs4680 i rs4818). Niti u ukupnom uzorku, niti u pojedinačnim skupinama (skupina koja je pozitivno reagirala na antidepresiv – eng. *responders*, skupina kojoj je bolest neko vrijeme postala manje ozbiljna – eng. *remitters* i skupina kojoj bolest nije jenjavala – eng. *non-remitters*) nije zamijećena značajna povezanost sa suicidalnim ponašanjem. Međutim, u skupini koja nije pozitivno reagirala na antidepresiv (eng. *non-responders*) 3 SNP-a su pokazala značajnu povezanost sa suicidalnim rizikom.

Varijante gena *COMT* nisu izravno uključene u suicidalno ponašanje, ali imaju ulogu u oblikovanju pojedinih osobina pojedinaca (Calati i sur., 2011).

Varijanta rs4680 je u mnogim genskim istraživanjima smatrana odgovornom za pojedine razlike u ljudskoj *COMT* aktivnosti od 1990-ih godina. Nedavna istraživanja istaknula su funkcionalnu važnost i drugih varijanti gena *COMT* u ljudskom mozgu, više nego varijante rs4680 te uključenost haplotipova u psihijatrijske poremećaje (Kocabas i sur., 2010).

Varijacije *COMT* gena mogle bi imati utjecaj na odgovor na terapiju antidepresivima (Benedetti i sur., 2009). Haplotipovi varijanti rs4680, rs4818 i rs4633 povezani su s fenotipovima u odgovoru na različite terapije, a posebno na terapiju antidepresivom. Povezanost između tih varijanti i odgovora na antidepresiv odražava se kroz visoki stupanj neravnoteže udruživanja (LD-a, eng. *Linkage Disequilibrium*) između funkcionalne varijante rs4680 i drugih funkcionalnih varijanti *COMT* gena (Kobacas i sur., 2010).

Nekoliko nedavnih istraživanja pokazalo je visoku aktivnost *COMT* alela (Val) kod pojedinaca koji nisu odgovarali na terapiju antidepresivom (Baune i sur., 2008, Benedetti i sur., 2009, Tsai i sur., 2009). Suprotno tome, neka istraživanja navode da nositelji Val alela pokazuju bolji odgovor na terapiju antidepresivom (Szegedi i sur., 2005, Gupta i sur., 2009). Sveukupna procjena STAR*D istraživanja (eng. *Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression*; prospektivnog, nasumičnog, višestupanjskog kliničkog postupka na ambulantnim pacijentima s nepsihotičnim depresivnim poremećajem, Rush i sur., 2004) iznjela je da je među 768 varijanti (uključujući i jednu *COMT* varijantu - rs4680) jedino varijanta gena za serotoninški 2A receptor (HTR2A) povezana s odgovorom na antidepresiv (McMahon i sur., 2006). Nedavna istraživanja navode da antidepresivni lijekovi utječu na epigenetičku regulaciju (modifikaciju histona i DNA metilaciju) i da tvari koje izmjenjuju epigenetiku mogu ispoljiti antidepresivne učinke (Laje i McMahon, 2007).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Mnoga istraživanja upućuju na povezanost gena *COMT* i psihijatrijskih poremećaja poput depresije. Gen *COMT* povezuje se i sa suicidalnim ponašanjem, jednako kao i s odgovorom na farmakoterapiju, međutim rezultati istraživanja često su oprečni i nejasni (Schosser i sur., 2011). Cilj ovog rada je utvrditi postoji li povezanost dviju varijanti gena *COMT*, rs4680 i rs4818, s depresivnim poremećajem i težinom depresivnih simptoma. U tu svrhu će se provesti genotipska i haplotipska analiza na uzorcima kontrolnih ispitanika i bolesnika s depresijom, a depresivni simptomi će se evaluirati primjenom Hamiltonove ocjenske ljestvice za depresiju (HAMD, eng. *Hamilton Depression Rating Scale*) i ocjenske ljestvice MADRS (eng. *Montgomery–Åsberg Depression Rating Scale*).

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Uzorci ispitanika

U istraživanje je uključeno 193 ispitanika oba spola, od toga su 102 zdrava kontrolna ispitanika i 91 ispitanik s depresivnim poremećajem. Depresivni bolesnici liječeni su u Klinici za psihijatriju „Vrapče“. Dijagnozu depresije postavili suiskusni psihijatri prema ICD-10 i DSM-5 kriterijima. Težina depresije utvrđena je Hamiltonovom ocjenskom ljestvicom za depresiju sa 17 stavki (skala HAMD-17, eng. *Hamilton Depression Rating Scale*; Hamilton, 1960) i ocjenskom ljestvicom MADRS (eng. *Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale*, Montgomery i Åsberg, 1979). HAMD-17 (HDRS ili Ham-D, pogledati Prilog 1) je najčešće korištena ljestvica za procjenu depresije. Originalna verzija sadrži 17 stavki koje se odnose na simptome depresije koje je osoba doživjela u posljednjih tjedan dana. HAMD-17 prvotno je napravljena za hospitalizirane bolesnike, za melankolične i fizičke simptome depresije. Kasnija verzija je sadržavala 21 stavku, od kojih su 4 stavke bile namijenjene određivanju podtipa depresije. Međutim, te stavke ponekad su bile pogrešno korištene za određivanje stupnja težine bolesti. Ograničenje ove ljestvice je što nisu uključeni atipični simptomi depresije (primjerice hipersomnija i hiperfagija) (Hamilton, 1960). Ljestvica MADRS (pogledati Prilog 2) izvučena je iz ljestvice CPRS (eng. *the Comprehensive Psychopathological Rating Scale*, Åsberg i sur., 1978), sadrži 10 stavki za procjenu osnovnih simptoma depresije i osmislili su je Montgomery i Åsberg 1979-e godine (Montgomery i Åsberg, 1979). Devet od deset stavki temelji se na samoprocjeni pacijenta, a jedna na procjeni ispitivača tijekom pacijentovog ispunjavanja stavki. Stavkama se ispituje: vidljiva tuga, prijavljena tuga, unutarnja napetost, smanjeni san/spavanje, smanjeni apetit, poteškoće s koncentracijom, umor, nemogućnost osjećanja, pesimistične i suicidalne misli. Rezultati odgovora bilježe se vrijednostima 0, 2, 4 i 6 kojima se mjeri broj i stupanj jačine depresivnih simptoma. 0 označava normalne vrijednosti, dok se 6 odnosi na simptome teške depresije. Raspon postignutih bodova kreće se od 0 do 60 te što je broj bodova veći, to je i oblik depresije teži. MADRS se primjenjuje relativno brzo i za razliku od HAMD-17 ne stavlja naglasak na fizičke simptome depresije, nego na osnovne simptome raspoloženja kao što su tuga, napetost, nestabilnost, pesimistične i suicidalne misli. Ograničenje MADRS ljestvice je odsutnost usredotočenosti na uobičajene bipolarnе depresivne simptome kao što su osjećaj bezvrijednosti, anhedonija i motorička retardacija u bipolarnim kliničkim ispitivanjima (Berk i sur., 2004).

Svakom se bolesniku uzeo uzorak krvi (~8ml) u epruvete s vakuumom s 2 ml ACD antikoagulansa.

3.2. Izolacija DNA iz krvi metodom izoliranja

Kemikalije potrebne za izolaciju:

- RCLB (pufer za lizu eritrocita); 10 mM Tris (Mr 121,14), 5 mM MgCl₂ (Mr 203,31), 10 mM NaCl (Mr 58,44) – pH 7,6 (autoklavirati)
- SE (natrij-EDTA) pufer; 75 mM NaCl (Mr 58,44), 25 mM Na₂EDTA (Mr 372,24) – pH 8,0 (autoklavirati)
- TE (Tris-EDTA) pufer; 10 mM Tris (Mr 121,14), 1 mM EDTA (Mr 372,24) – pH 7,6 (autoklavirati)
- proteinaza K (TaKaRa, 20 mg/ml)
- 10%-tni SDS (natrij-dodecil sulfat)
- 5 M NaCl
- izopropanol
- 75%-tni etanol

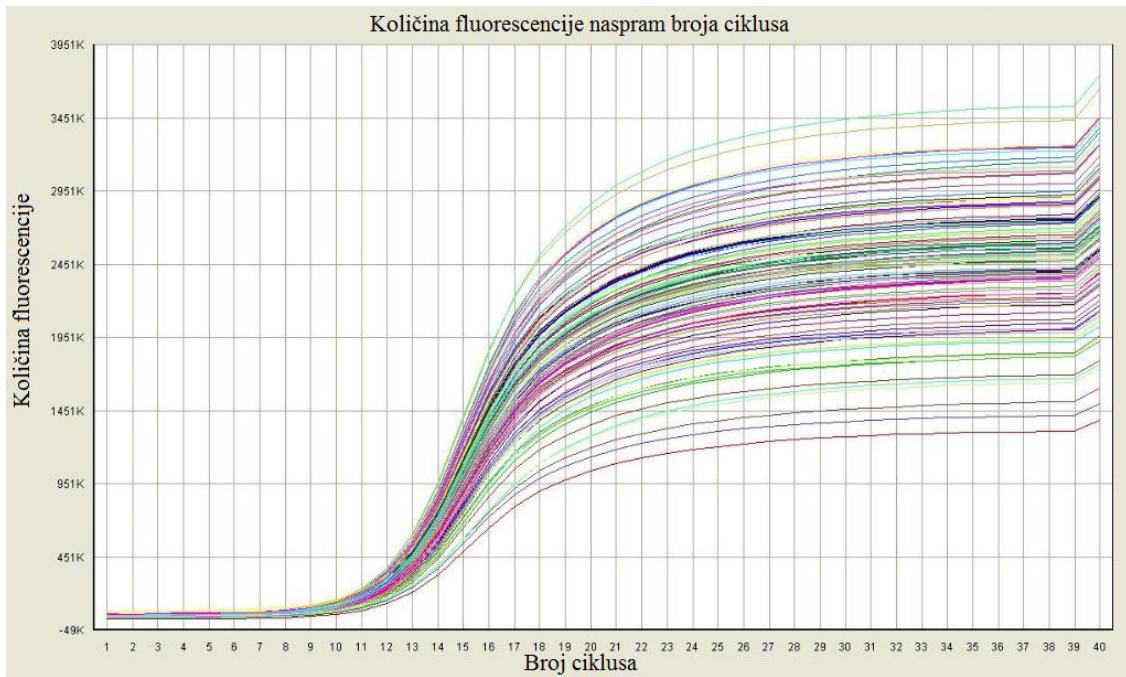
Smrznuti uzorci krvi ispitanika izvađeni su iz zamrzivača i ostavljeni na stalku neko vrijeme, pri sobnoj temperaturi, kako bi se odmrznuli. Nakon odmrzavanja su stavljeni na valjkastu miješalicu i miješani 15 minuta kako bi se dobila homogena smjesa. Potom su Eppendorf epruvete od 1,5 ml obilježene oznakama podudarnim s oznakama na epruvetama krvi, kako ne bi došlo do pogreške. Zatim je slijedilo pipetiranje 300 µl krvi ispitanika u označene Eppendorf epruvete. Nakon unošenja krvi u epruvete dodano je 900 µl hladnog RCLB pufera. Uzorci su dobro promiješani na vorteks miješalici 15-20 sekundi i ostavljeni na ledu 10 minuta kako bi došlo do lize eritrocita, uslijed ozljede i prsnuća njihovih membrana. Zatim su uzorci stavljeni u centrifugu na 12 000 x g i pri 4 °C 45 sekundi. Lizirani eritrociti se nakon postupka centrifuge nalaze u supernatantu, a leukociti se istalože na dno epruvete. Supernatant je odstranjen pipetom i bačen, a na talog je dodano 500 µl RCLB pufera i uzorci su ponovno podvrgnuti centrifugi. Ovaj postupak je ponovljen 3 puta u svrhu pročišćavanja uzoraka. Na čisti talog je zatim dodano 300 µl SE pufera i potom je promiješano na vorteks miješalici. Dodano je 1,5 µl proteinaze K i 30 µl 10%-tnog SDS-a. Epruvete su zatim okretane laganim pokretom ruke kako bi se sadržaj dobro izmiješao. Uzorci su inkubirani u termobloku 1,5-2 sata pri 56 °C uz miješanje na 500 rpm-a da bi se leukociti lizirali. Nakon toga su ohlađeni pri sobnoj temperaturi i potom je uslijedilo dodavanje 110 µl 5 M NaCl-a i kratko miješanje na vorteks miješalici. Centrifugiranjem na 12 000 x g i pri 4 °C 5 minuta, DNA se nalazi u supernatantu, a ostali

dijelovi stanice se istalože na dno epruvete. U nove, pažljivo označene Eppendorf epruvete je preliven supernatant, kojem je potom dodano 800 µl hladnog izopropanola. Epruvete su odmah zatvorene i laganim pokretima ruke okretane nekoliko puta, dok se nije pojavio DNA precipitat. Kako bi se DNA istaložila, uzorci su podvrgnuti centrifugi na 12 000 x g i pri 4 °C 2 minute. Supernatant je odliven, a na talog je dodano 250 µl 75%-tnog etanola. Nakon ponovne centrifuge na 12 000 x g 2 minute, supernatant je ponovno odliven, a epruvete su ocijeđene na papiru i ostavljene otvorenih čepova 15-30 minuta u termobloku pri 37 °C. Posljednji korak bilo je dodavanje 100 µl TE pufera, nakon čega su uzorci ostavljeni sat vremena pri 37 °C u svrhu otapanja DNA. DNA je do daljnjeg postupka pohranjena pri 4 °C.

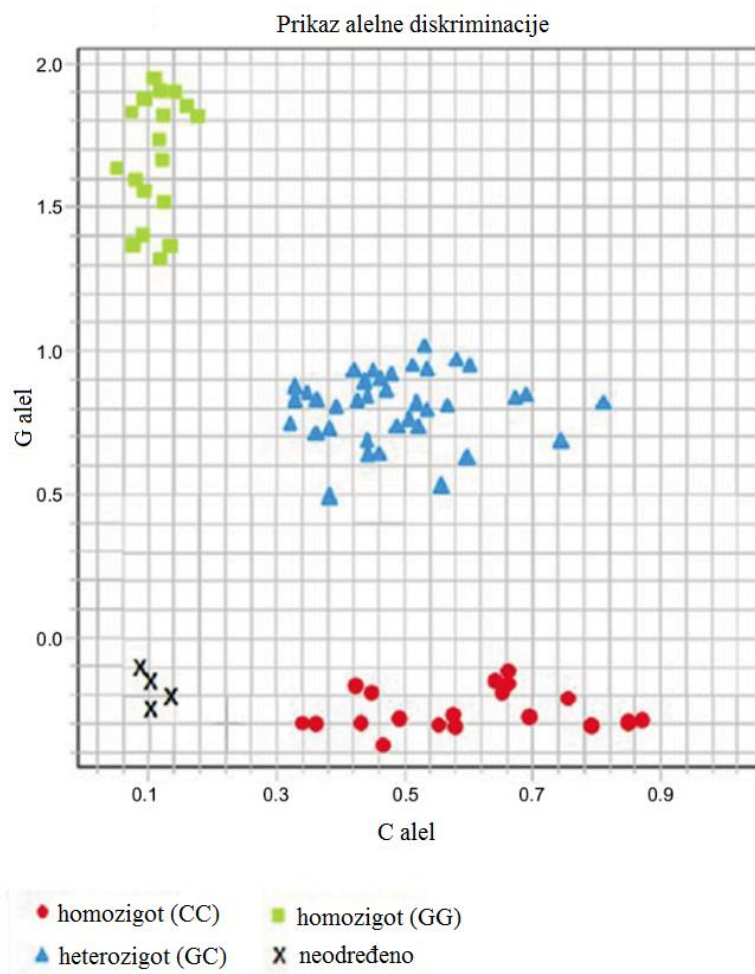
3.3. Određivanje genotipova s obzirom na varijante rs4818 i rs4680 gena *COMT*

Na uzorcima DNA izoliranim iz krvi bolesnika metodom izoliranja (Miller i sur., 1988) provedena je genotipizacija polimorfizama rs4680 i rs4818 gena *COMT* primjenom lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu.

„Real-time PCR“ ili lančana reakcija polimerazom u stvarnom vremenu izmijenjena je metoda klasične metode lančane reakcije polimerazom (PCR-a) u kojoj uređaj prati stvaranje nosintetizirane DNA kroz cikluse. Ta metoda se koristi za genotipizaciju DNA i za određivanje razine genske ekspresije gena od interesa. Genotipovi ispitanika određeni su ovom metodom, s obzirom na polimorfizme rs4680 i rs4818 gena *COMT*. U reakcijsku smjesu su dodane dvije fluorescentno obilježene oligonukleotidne sonde, s ciljem genotipizacije željene DNA. Prilikom ovog postupka dolazi do hibridizacije oligonukleotidnih sondi za komplementarna polimorfna mjesta na DNA. Na 5' kraju je vezana fluorescentna boja VIC ili FAM, pa se sonde specifično vežu na slijed DNA koji sadrži promijenjenu bazu, dok je na 3' kraj vezan utišivač fluorescencije. Utišivač fluorescencije sprječava fluorescenciju boje kada je sonda vezana za DNA. U fazi produljivanja početnica, odnosno tijekom umnožavanja DNA, svojom 5'→3' egzonukleaznom aktivnosti DNA polimeraza uklanja sondu s DNA te na taj način omogućuje odvajanje fluorescentne boje od utišivača i tada dolazi do fluorescencije. Fluorescenciju uređaj obilježava kao signal, a identifikacija genotipa za pojedini uzorak određuje se na temelju jačine i vrste tog signala. Ukoliko je zabilježena fluorescencija obje boje, tada je riječ o heterozigotnom genotipu, a kada uređaj zabilježi fluorescenciju jedne boje, tada se radi o homozigotnom genotipu. U računalnom programu potom se dobije ispis razine fluorescencije za svaku boju (Slika 13.) i grafički prikaz kao konačni rezultat (Slika 14.).



Slika 13. Prikaz količine fluorescencije naspram broja ciklusa



Slika 14. Prikaz alelne diskriminacije

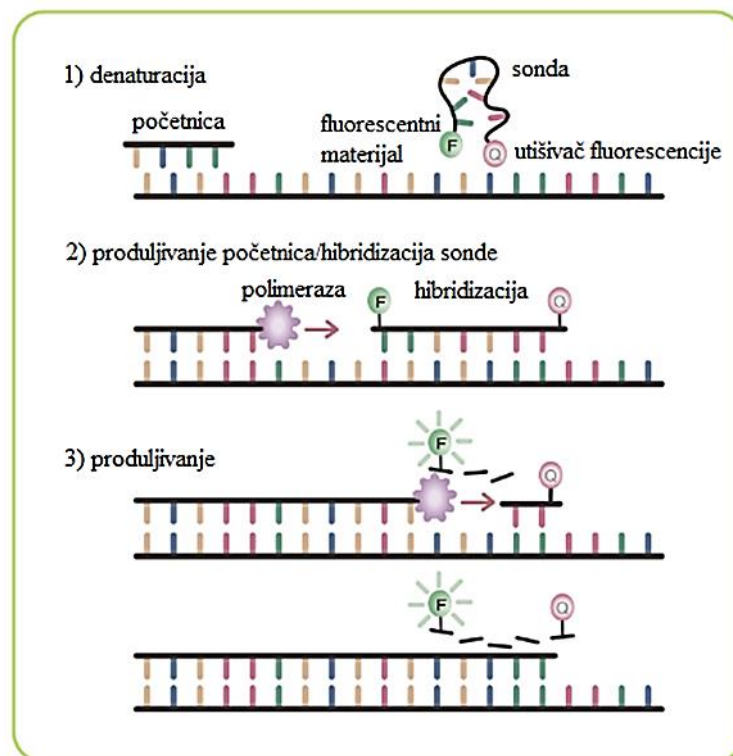
Različiti fluorescentni biljezi koriste se u metodi PCR-a u stvarnom vremenu. Dva najčešće korištena biljega su „TaqMan probe“ i „SYBR Green“. U svrhu ovog istraživanja korišten je „TaqMan probe“ (<https://microbenotes.com/real-time-pcr-principle-process-markers-advantages-applications/>). Princip detekcije TaqMan sonde prikazan je na Slici 15.

Sastav reakcijske smjese za genotipizaciju metodom PCR-a u stvarnom vremenu:

- 5 µl TaqMan univerzalne matične mješavine
- 0,5 µl mješavine neoznačenih početnica i bojom označenih sonde (VIC i FAM)
- 4,5 µl genomske DNA (1-20 ng) otopljene u vodi

Uvjeti u kojima se odvija reakcija za genotipizaciju metodom PCR-a u stvarnom vremenu:

- početni koraci – 95 °C, 10 min
- denaturacija – 92 °C, 15 s
- vezanje i produljivanje početnica – 60 °C, 90 s
- broj ciklusa – 50



Slika 15. Shematski prikaz detekcije TaqMan sonde (preuzeto i obrađeno s <https://microbenotes.com/real-time-pcr-principle-process-markers-advantages-applications/>)

3.4. Statistička obrada podataka

Za statističku obradu podataka korišten je računalni program „GraphPad Prism“. „GraphPad Prism“ ima 8 različitih vrsta tablica podataka, posebno oblikovanih za analize. Sadrži veliki broj od uobičajenih do visokospecifičnih analiza: nelinearne regresije, t testove, neparametrijske usporedbe, jedno-, dvo- i trosmjerne ANOVA-e, analize kontingencijskih tablica i mnoge druge. Svaka analiza ima popis provjere koji pomaže u razumijevanju potrebnih statističkih pretpostavki i potvrđivanju odabranog testa (<https://www.graphpad.com/scientific-software/prism/>).

Za testiranje normalnosti raspodjele podataka korišten je „D'Agostino & Pearson omnibus normality test“, parametrijski test korelacije koji se zasniva na testiranju snage povezanosti dviju varijabli i koji je korišten za ispitivanje normalne raspodjele dobi ispitanika. Za normalnu raspodjelu podataka, odnosno za podatke koji prate Gaussovu krivulju, korišteni su parametrijski testovi, dok su za podatke koji odstupaju od normalne raspodjele korišteni neparametrijski testovi. Za određivanje statističke razlike kod kvantitativnih tipova podataka za 2 neovisne skupine korišteni su parametrijski Student t-test i neparametrijski Mann-Whitney test, dok su za više neovisnih skupina korišteni parametrijski test jednosmjerna ANOVA i neparametrijski Kruskal-Wallis test. Ukoliko su ANOVA-om ili Kruskal-Wallis testom utvrđene statistički značajne razlike još je napravljen i Tukey post-hoc test, odnosno Dunnov test u svrhu usporedbe svake skupine sa svakom.

Za analizu kvalitativnih (kategorijskih) tipova korišteni su χ^2 -test i Fisherov egzaktan test („Fisher's exact test“). χ^2 -test se koristio za usporedbu 3 ili više skupina nezavisnih kategoričkih podataka, dok se Fisherov egzaktan test koristio za ispitivanje razlika između dviju skupina nezavisnih kategoričkih podataka. χ^2 -test ujedno se koristio i za provjeru odstupanja raspodjele genotipova od Hardy-Weinbergove ravnoteže.

„Haploview 4.2.“ program (<https://www.broadinstitute.org/haploview/haploview>) koristio se za utvrđivanje postoji li između istraživanih varijanti neravnoteža udruživanja (LD), za što ovaj program koristi standardizirani koeficijent D'. U slučaju kada se utvrdilo da se istraživani polimorfizmi naslijeđuju u bloku, ovim programom su utvrđeni najčešći haplotipovi i njihove frekvencije pojavljivanja u uzorku te se je utvrdilo postoji li značajna razlika u učestalosti pojavljivanja pojedinih haplotipova između bolesnika i zdrave kontrolne skupine.

Za sve analize postavljena je razina značajnosti P na 0,05.

4. REZULTATI

4.1. Demografski podaci

U istraživanje je uključeno ukupno 193 ispitanika, 126 muškaraca i 67 žena. Od toga su 102 ispitanika kontrolni (zdravi) ispitanici i to 96 muškaraca i 6 žena, a preostala 91 osoba su ispitanici s depresijom, od čega 30 muškaraca i 61 žena. Prosječna dob kontrolnih ispitanika je $52,75 \pm 12,01$, dok je prosječna dob oboljelih od depresije $51,00 \pm 14,32$ (srednja vrijednost \pm standardna devijacija). 61 (59,80%) kontrolni ispitanik je nepušač, dok preostalih 41 (40,20%) puši. U skupini ispitanika s depresijom 35 (38,46%) ispitanika su pušači, a 56 (61,54%) osoba ne puši. Demografski podaci ispitanika uključenih u istraživanje prikazani su u Tablici 1. Raspodjela osoba po spolu značajno se razlikovala između kontrolnih i depresivnih ispitanika ($P < 0,0001$; Fisher's exact test), odnosno u kontrolnoj skupini je značajno više muškaraca, dok u skupini depresivnih ispitanika prevladavaju žene. „D'Agostino & Pearson omnibus normality test“ je primjenjen kako bi se utvrdila normalnost raspodjele podataka o dobi. S obzirom da nisu pratili normalnu razdiobu, podaci o dobi između kontrolnih i depresivnih ispitanika uspoređeni su Mann-Whitney testom koji je utvrdio da se ove dvije skupine značajno ne razlikuju po dobi ($P = 0,7465$, Mann-Whitney test). Fisherov egzaktni test također nije utvrdio značajne razlike ($P = 0,8829$; Fisher's exact test) između ispitanika s depresijom i kontrolne skupine u raspodjeli prema pušačkom statusu na pušače i nepušače.

Tablica 1. Demografski podaci ispitanika

| | Kontrolni ispitanici | Ispitanici s depresijom | Statistika |
|---|-----------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| Ukupan broj N | 102 | 91 | / |
| Muškarci N (%) | 96 (94,12%) | 30 (32,97%) | $P < 0,0001$; Fisher's exact test |
| Žene N (%) | 6 (5,88%) | 61 (67,03%) | |
| Dob (godine) srednja vrijednost \pm standardna devijacija | $52,75 \pm 12,01$ | $51,00 \pm 14,32$ | $P = 0,7465$; Mann-Whitney test |
| Pušači N (%) | 41 (40,20%) | 35 (38,46%) | $P = 0,8829$; Fisher's exact test |
| Nepušači N (%) | 61 (59,80%) | 56 (61,54%) | |

4.2. Genotipovi varijanti rs4818 i rs4680 gena *COMT* u kontrolnoj skupini i skupini depresivnih ispitanika

U uzorcima DNA svih ispitanika genotipizirane su varijante rs4818 i rs4680 gena *COMT*. Učestalosti opaženih genotipova varijanti rs4818 (Tablica 2.) i rs4680 (Tablica 3.) u skladu su s Hardy-Weinbergovom ravnotežom u kontrolnoj skupini, ali ne i u skupini depresivnih ispitanika.

Tablica 2. Dobivene i očekivane vrijednosti za genotipove varijante rs4818

| Genotipovi rs4818 | | CC | CG | GG | Statistika |
|-------------------|-----------|------|------|------|-----------------------------|
| Kontrola | Dobiveno | 39 | 48 | 15 | P=0,9705; χ^2 -test |
| | Očekivano | 38,9 | 48,2 | 14,9 | |
| Depresija | Dobiveno | 29 | 56 | 6 | P=0,0027; χ^2 -test |
| | Očekivano | 35,7 | 42,6 | 12,7 | |

ukoliko je $P < 0,05$ rezultat nije u skladu s Hardy-Weinbergovom ravnotežom

Tablica 3. Dobivene i očekivane vrijednosti za genotipove varijante rs4680

| Genotipovi rs4680 | | AA | AG | GG | Statistika |
|-------------------|-----------|------|------|------|-----------------------------|
| Kontrola | Dobiveno | 31 | 45 | 26 | P=0,2433; χ^2 -test |
| | Očekivano | 28,1 | 50,9 | 23,1 | |
| Depresija | Dobiveno | 20 | 55 | 16 | P=0,0440; χ^2 -test |
| | Očekivano | 35,7 | 42,6 | 12,7 | |

ukoliko je $P < 0,05$ rezultat nije u skladu s Hardy-Weinbergovom ravnotežom

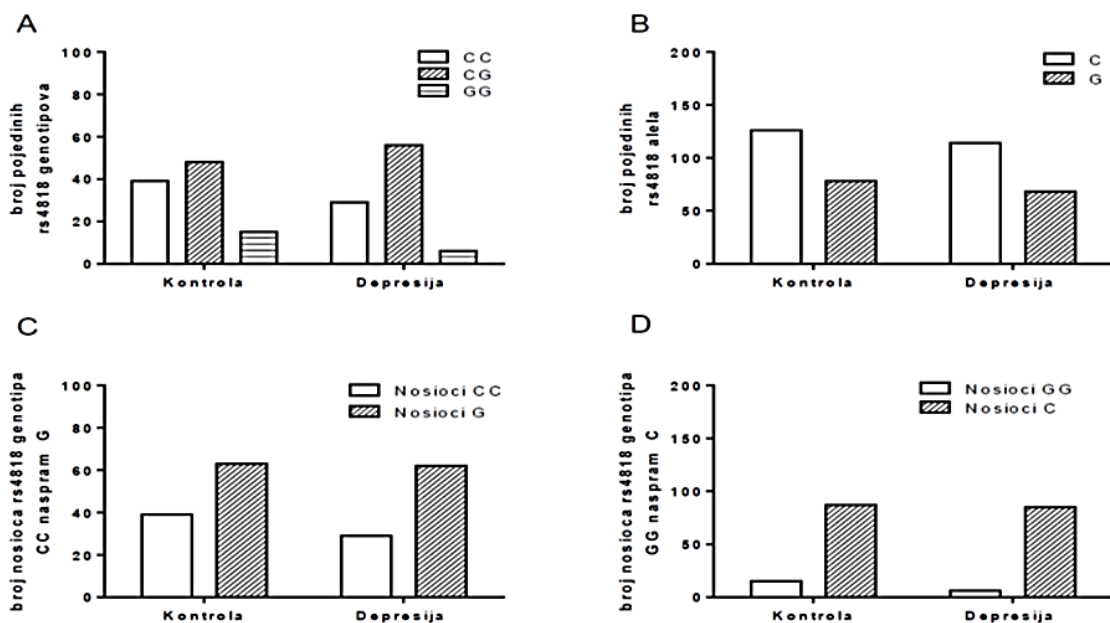
Učestalost (frekvencija) opaženih genotipova i alela varijante rs4818 u kontrolnoj skupini i skupini ispitanika s depresijom prikazana je u Tablici 4. i na Slici 16., dok je u Tablici 5. i na Slici 17. prikazana raspodjela genotipova i alela varijante rs4680 u obje navedene skupine ispitanika. Raspodjela genotipova varijanti rs4818 ($P=0,0695$; χ^2 -test) i rs4680 ($P=0,0764$; χ^2 -test) značajno se ne razlikuje između kontrolnih i depresivnih ispitanika. Isto tako, u raspodjeli pojedinih alela varijanti rs4818 ($P=0,9163$; Fisher's exact test) i rs4680 ($P=1,0000$; Fisher's exact test) također nisu utvrđene statistički značajne razlike između kontrolne skupine i skupine ispitanika s depresijom (Tablica 4. i Tablica 5.).

Tablica 4. Brojnost i frekvencija genotipova i alela varijante rs4818 u skupini kontrolnih ispitanika i ispitanika s depresijom

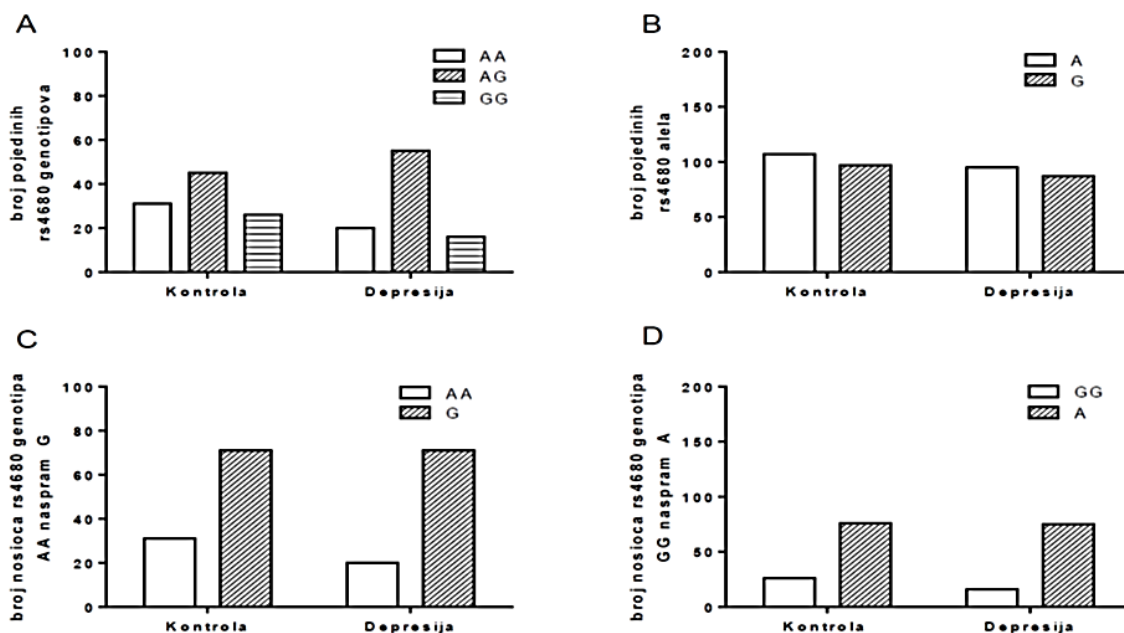
| N (%) | CC | CG | GG | C | G |
|-------------------|--------------------------|------------|------------|-------------------------------|------------|
| Kontrola | 39 (38,23) | 48 (47,06) | 15 (14,71) | 126 (61,76) | 78 (38,24) |
| Depresija | 29 (31,87) | 56 (61,54) | 6 (6,59) | 114 (62,64) | 68 (37,36) |
| Statistika | P=0,0695; χ^2 -test | | | P=0,9163; Fisher's exact test | |

Tablica 5. Brojnost i frekvencija genotipova i alela varijante rs4680 u skupini kontrolnih ispitanika i ispitanika s depresijom

| N (%) | AA | AG | GG | A | G |
|-------------------|--------------------------|------------|------------|-------------------------------|------------|
| Kontrola | 31 (30,39) | 45 (44,12) | 26 (25,49) | 107 (52,45) | 97 (47,55) |
| Depresija | 20 (21,99) | 55 (60,44) | 16 (17,58) | 95 (52,20) | 87 (47,80) |
| Statistika | P=0,0764; χ^2 -test | | | P=1,0000; Fisher's exact test | |



Slika 16. Raspodjela genotipova (A) i alela (B) te nosioca genotipa CC naspram alela G (C) i nosioca genotipa GG naspram alela C (D) za *COMT* varijantu rs4818 u skupini kontrolnih ispitanika i ispitanika s depresijom



Slika 17. Raspodjela genotipova (A) i alela (B) te nosioca genotipa AA naspram alela G (C) i nosioca genotipa GG naspram alela A (D) za *COMT* varijantu rs4680 u skupini kontrolnih ispitanika i ispitanika s depresijom

Kada su ispitanici podijeljeni na nosioce genotipa CC i nosioce alela G ($P=0,3695$; Fisher's exact test) ili na nosioce genotipa GG i nosioce alela C ($P=0,1037$; Fisher's exact test) varijante rs4818 nisu utvrđene značajne razlike između kontrolnih i depresivnih ispitanika (Tablica 6.). Kao što je prikazano na Tablici 7., u slučaju kada su ispitanici podijeljeni na nosioce genotipa AA i nosioce alela G ($P=0,1956$; Fisher's exact test) ili na nosioce genotipa GG i nosioce alela A ($P=0,2222$; Fisher's exact test) rs4680 varijante također nije bilo statistički značajnih razlika između kontrolne skupine i ispitanika s depresijom.

Tablica 6. Brojnost i frekvencije nosioca genotipa CC u odnosu na nosioce alela G i nosioca genotipa GG u odnosu na nosioce alela C za varijantu rs4818 u grupi kontrolnih ispitanika i ispitanika s depresijom

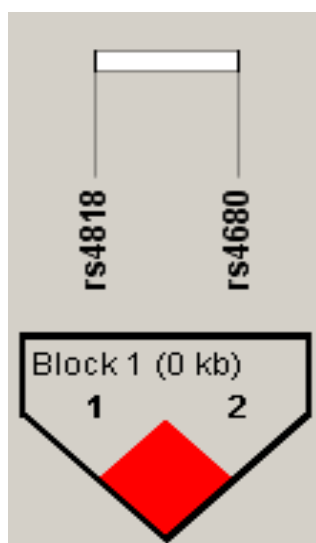
| N (%) | Nosioci CC | Nosioci G | Nosioci GG | Nosioci C |
|-------------------|----------------------------------|------------|----------------------------------|------------|
| Kontrola | 39 (38,23) | 63 (61,77) | 15 (14,71) | 87 (85,29) |
| Depresija | 29 (31,87) | 62 (68,13) | 6 (6,59) | 85 (93,41) |
| Statistika | $P=0,3695$; Fisher's exact test | | $P=0,1037$; Fisher's exact test | |

Tablica 7. Brojnost i frekvencije nosioca genotipa AA u odnosu na nosioce alela G i nosioca genotipa GG u odnosu na noisoce alela A za varijantu rs4680 u grupi kontrolnih ispitanika i ispitanika s depresijom

| N (%) | Nosioci AA | Nosioci G | Nosioci GG | Nosioci A |
|-------------------|-------------------------------|------------|-------------------------------|------------|
| Kontrola | 31 (30,39) | 71 (69,61) | 26 (25,49) | 76 (74,51) |
| Depresija | 20 (21,99) | 71 (78,01) | 16 (17,58) | 75 (82,42) |
| Statistika | P=0,1956; Fisher's exact test | | P=0,2222; Fisher's exact test | |

4.3. Haplotipovi varijanti rs4818 i rs4680 gena *COMT* u kontrolnoj skupini i skupini depresivnih ispitanika

Program „Haploview 4.2.“ korišten je za utvrđivanje haplotipskog bloka varijanti rs4818 i rs4680 gena *COMT* kod svih ispitanika. Za navedene varijante utvrđen je visoki stupanj neravnoteže udruživanja (LD-a) (Slika 18.). Vrijednost LD-a je iznad 80, što upućuje na to da se ove dvije varijante vrlo vjerojatno nasljeđuju zajedno u bloku.



Slika 18. Prikaz LD vrijednosti između varijanti rs4818 i rs4680 gena *COMT* dobiven pomoću programa „Haploview 4.2.“ (izvorna slika)

Haplotipskom analizom utvrđena su 3 najčešća haplotipa u ispitivanom uzorku (CA, GG i CG), međutim njihove učestalosti nisu značajno različite između kontrolne skupine i skupine ispitanika s depresijom (Tablica 8.).

Tablica 8. Učestalost haplotipova za varijante rs4818 i rs4680 gena *COMT* u skupini kontrolnih ispitanika i ispitanika s depresijom

| Haplotip | Kontrolni ispitanici | Ispitanici s depresijom | Statistika |
|----------|----------------------|-------------------------|---------------------------|
| CA | 0,525 | 0,521 | $\chi^2=0,005$; P=0,9453 |
| GG | 0,387 | 0,375 | $\chi^2=0,066$; P=0,7979 |
| CG | 0,088 | 0,104 | $\chi^2=0,29$; P=0,5901 |

Vrijednosti su prikazane kao učestalost pojavljivanja i uspoređene χ^2 -testom.

4.4. Povezanost varijanti rs4818 i rs4680 gena *COMT* s težinom simptoma kod ispitanika s depresijom

Ukupni prosječni broj bodova na HAMD ljestvici kod ispitanika s depresijom iznosio je $28,19 \pm 6,575$, dok je ukupni prosječni broj bodova na MADRS ljestvici bio $30,68 \pm 8,236$ (srednja vrijednost \pm standardna devijacija). Kad su ispitanici s depresijom podijeljeni prema genotipu rs4818 varijante (CC, CG i GG) nisu utvrđene značajne razlike u ukupnom broju bodova na HAMD ljestvici (Tablica 9.).

Tablica 9. Ukupni broj bodova na HAMD i MADRS ljestvicama kod ispitanika s depresijom podijeljenih prema genotipu rs4818 i rs4680 varijante

| rs4818 | CC | CG | GG | Statistika |
|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| Ukupni broj HAMD bodova | $26,93 \pm 6,183$ | $28,88 \pm 7,003$ | $29,67 \pm 6,351$ | P=0,6297; ANOVA |
| Ukupni broj MADRS bodova | $29,43 \pm 8,327$ | $31,64 \pm 8,272$ | $28,33 \pm 8,383$ | P=0,5429; ANOVA |
| rs4680 | AA | AG | GG | Statistika |
| Ukupni broj HAMD bodova | $29,10 \pm 5,425$ | $27,28 \pm 6,788$ | $30,00 \pm 6,957$ | P=0,4496; ANOVA |
| Ukupni broj MADRS bodova | $32,30 \pm 6,482$ | $29,97 \pm 8,279$ | $31,27 \pm 9,890$ | P=0,7187; ANOVA |

Vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija. Statistička obrada napravljena je ANOVA-om zbog normalne raspodjele podataka.

Za rs4680 varijantu nije bilo značajnih razlika u ukupnom broju bodova na HAMD ljestvici kod ispitanika s depresijom s AA, AG i GG genotipom. Kao što se može vidjeti na Tablici 9., nisu pronađene značajne razlike niti u ukupnom broju bodova na MADRS ljestvici kada su ispitanici s depresijom podijeljeni prema genotipovima rs4818 varijante (CC, CG i GG). Vezano za varijantu rs4680, nije bilo značajnih razlika u ukupnim bodovima na MADRS ljestvici između ispitanika s depresijom koji nose AA, AG i GG genotipove (Tablica 9.).

Tablica 10. Ukupni broj bodova na HAMD i MADRS ljestvicama kod ispitanika s depresijom podijeljenih na nosioce pojedinih genotipova i alela rs4818 i rs4680 varijante

| rs4818 | CC | G | Statistika |
|---------------------------------|---------------|---------------|--------------------------------|
| Ukupan broj HAMD bodova | 26,93 ± 6,183 | 28,64 ± 6,730 | P=0,4085; Student t-test |
| Ukupan broj MADRS bodova | 29,43 ± 8,327 | 31,13 ± 8,266 | P=0,5130; Student t-test |
| rs4680 | AA | G | Statistika |
| Ukupan broj HAMD bodova | 29,10 ± 5,425 | 27,98 ± 6,854 | P=0,7578; Mann-Whitney test |
| Ukupan broj MADRS bodova | 32,30 ± 6,482 | 30,30 ± 8,615 | P=0,4950; Student t-test |
| rs4818 | GG | C | Statistika |
| Ukupan broj HAMD bodova | 27,33 ± 5,279 | 28,30 ± 6,763 | P=0,8000; Mann-Whitney test |
| Ukupan broj MADRS bodova | 28,33 ± 8,383 | 30,98 ± 8,261 | P=0,4641; Student t-test |
| rs4680 | GG | A | Statistika |
| Ukupan broj HAMD bodova | 30,00 ± 6,957 | 27,71 ± 6,474 | P=0,3093; Student t-test |
| Ukupan broj MADRS bodova | 31,27 ± 9,890 | 30,52 ± 7,878 | P=0,7913; Student t-test |

Vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. Statistička obrada napravljena je Student t-testom ili Mann-Whitney testom, ovisno o normalnosti raspodjele podataka.

Tablica 11. Broj bodova na HAMD ljestvici (po pojedinim simptomima) kod ispitanika s depresijom podijeljenih prema genotipu rs4818 varijante

| HAMD bodovi | CC | CG | GG | Statistika |
|--|---------------|---------------|---------------|-------------------------------|
| Depresivno raspoloženje | 3,214 ± 0,893 | 3,061 ± 0,827 | 3,333 ± 0,577 | P=0,6166; Kruskal-Wallis test |
| Osjećaj krivnje | 1,571 ± 0,756 | 1,545 ± 0,869 | 1,167 ± 0,753 | P=0,5626; ANOVA |
| Samoubilački porivi (suicid) | 0,857 ± 1,231 | 0,848 ± 1,064 | 1,333 ± 1,528 | P=0,7889; Kruskal-Wallis test |
| Smetnje usnivanja (rana nesanica) | 1,429 ± 0,756 | 1,545 ± 0,666 | 1,500 ± 0,548 | P=0,8489; Kruskal-Wallis test |
| Smetnje snivanja (srednja nesanica) | 1,286 ± 0,726 | 1,485 ± 0,667 | 1,429 ± 0,534 | P=0,6492; ANOVA |
| Jutarnje smetnje spavanja (kasna nesanica) | 1,000 ± 0,679 | 1,333 ± 0,777 | 1,333 ± 0,516 | P=0,3497; ANOVA |
| Rad i aktivnosti | 2,857 ± 0,534 | 3,000 ± 0,829 | 2,833 ± 0,753 | P=0,7817; ANOVA |
| Psihomotorna inhibicija (retardacija) | 1,143 ± 0,770 | 1,424 ± 1,062 | 1,000 ± 0,632 | P=0,4721; ANOVA |
| Agitacija | 1,357 ± 1,008 | 1,333 ± 1,051 | 1,667 ± 0,577 | P=0,6194; Kruskal-Wallis test |
| Anksioznost (psihička) | 3,071 ± 0,475 | 2,879 ± 0,781 | 2,667 ± 1,528 | P=0,6135; ANOVA |
| Anksioznost (tjelesna) | 2,500 ± 0,855 | 2,606 ± 0,704 | 2,333 ± 0,816 | P=0,6956; ANOVA |
| Gastrointestinalni simptomi | 1,214 ± 0,802 | 1,242 ± 0,751 | 0,667 ± 0,577 | P=0,4578; ANOVA |
| Opći tjelesni simptomi | 1,500 ± 0,650 | 1,818 ± 0,392 | 1,500 ± 0,548 | P=0,0979; Kruskal-Wallis test |
| Genitalni simptomi | 1,357 ± 0,745 | 1,273 ± 0,839 | 1,667 ± 0,577 | P=0,7561; Kruskal-Wallis test |
| Hipohondrijski simptomi | 1,143 ± 0,770 | 1,758 ± 0,936 | 2,333 ± 1,155 | <u>P=0,0471</u> ; ANOVA |
| Gubitak tjelesne težine | 0,643 ± 0,842 | 0,879 ± 0,992 | 0,667 ± 1,155 | P=0,7227; ANOVA |
| Uvid u bolest | 0,786 ± 0,699 | 0,848 ± 0,667 | 0,833 ± 0,408 | P=0,9558, ANOVA |

Vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. Statistička obrada napravljena je ANOVA-om ili Kruskal-Wallis testom, ovisno o normalnosti raspodjele podataka.

Nije bilo značajnih razlika u ukupnom broju bodova na HAMD i MADRS ljestvicama kod depresivnih ispitanika podijeljenih na nosioce CC naspram G i GG naspram C varijante rs4818 te podijeljenih na nosioce AA naspram G i GG naspram A varijante rs4680 (Tablica 10).

Također nisu utvrđene značajne razlike u broju bodova za pojedine simptome na HAMD ljestvici između ispitanika s depresijom koji nose CC, CG i GG genotip rs4818 varijante (Tablica 11.).

Jedina razlika koja je prešla prag statističke značajnosti utvrđena je u broju bodova za hipohondrijske simptome ($P=0,0471$). Međutim, kada je nakon ANOVA-e napravljen Tukeyjev post-hoc test nisu utvrđene značajne razlike. Isto tako nisu utvrđene značajne razlike između ispitanika s depresijom koji nose CC, CG i GG genotipove rs4818 varijante kada su uspoređivani pojedinačni simptomi na MADRS ljestvici (Tablica 12.).

Tablica 12. Broj bodova na MADRS ljestvici (po pojedinim simptomima) kod ispitanika s depresijom podijeljenih prema genotipu rs4818 varijante

| MADRS bodovi | CC | CG | GG | Statistika |
|-----------------------------------|---------------|---------------|---------------|-------------------------------|
| Vidljiva tuga | 3,786 ± 0,802 | 3,848 ± 1,004 | 3,167 ± 0,753 | P=0,2637; ANOVA |
| Prijavljena tuga | 3,643 ± 1,082 | 4,152 ± 1,004 | 3,833 ± 1,169 | P=0,2984; ANOVA |
| Unutarnja napetost | 3,929 ± 0,730 | 3,697 ± 1,015 | 3,333 ± 0,816 | P=0,3328; Kruskal-Wallis test |
| Smanjeni san/spavanje | 2,857 ± 1,099 | 3,182 ± 1,380 | 3,167 ± 0,753 | P=0,7741; Kruskal-Wallis test |
| Smanjeni apetit | 1,714 ± 1,816 | 2,000 ± 1,639 | 2,000 ± 1,414 | P=0,8599; ANOVA |
| Poteškoće s koncentracijom | 3,571 ± 0,514 | 3,818 ± 0,983 | 3,333 ± 0,816 | P=0,3984; Kruskal-Wallis test |
| Umor | 3,286 ± 1,437 | 3,545 ± 1,394 | 3,667 ± 0,516 | P=0,7864; ANOVA |
| Nemogućnost osjećanja | 3,786 ± 1,051 | 3,697 ± 0,951 | 3,333 ± 1,033 | P=0,6366; ANOVA |
| Pesimistične misli | 1,929 ± 1,639 | 2,545 ± 1,481 | 1,333 ± 1,033 | P=0,1306; ANOVA |
| Suicidalne misli | 0,929 ± 1,542 | 1,152 ± 1,439 | 1,167 ± 1,941 | P=0,7008; Kruskal-Wallis test |

Vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. Statistička obrada napravljena je ANOVA-om ili Kruskal-Wallis testom, ovisno o normalnosti raspodjele podataka.

Tablica 13. Broj bodova na HAMD ljestvici (po pojedinačnim simptomima) kod ispitanika s depresijom podijeljenih prema genotipu rs4680 varijante

| HAMD bodovi | AA | AG | GG | Statistika |
|--|---------------|---------------|---------------|---|
| Depresivno raspoloženje | 3,500 ± 0,707 | 3,031 ± 0,740 | 3,000 ± 1,095 | P=0,2602; ANOVA |
| Osjećaj krivnje | 1,600 ± 0,843 | 1,500 ± 0,880 | 1,455 ± 0,688 | P=0,9196; ANOVA |
| Samoubilački porivi (suicid) | 1,200 ± 1,317 | 0,656 ± 1,004 | 1,000 ± 1,183 | P=0,2565; Kruskal-Wallis test |
| Smetnje usnivanja (rana nesаница) | 1,700 ± 0,483 | 1,500 ± 0,718 | 1,364 ± 0,674 | P=0,5004; Kruskal-Wallis test |
| Smetnje snivanja (srednja nesаница) | 1,400 ± 0,699 | 1,344 ± 0,653 | 1,727 ± 0,647 | P=0,1609; Kruskal-Wallis test |
| Jutarnje smetnje spavanja (kasna nesаница) | 1,200 ± 0,632 | 1,188 ± 0,780 | 1,455 ± 0,688 | P=0,5621; Kruskal-Wallis test |
| Rad i aktivnosti | 2,900 ± 0,568 | 2,969 ± 0,740 | 2,909 ± 0,944 | P=0,9556; ANOVA |
| Psihomotorna inhibicija (retardacija) | 1,200 ± 0,789 | 1,438 ± 1,045 | 1,000 ± 0,775 | P=0,4621; Kruskal-Wallis test |
| Agitacija | 1,500 ± 1,080 | 1,188 ± 0,965 | 1,636 ± 0,924 | P=0,2105; Kruskal-Wallis test |
| Anksioznost (psihička) | 3,100 ± 0,568 | 2,875 ± 0,751 | 2,727 ± 0,904 | P=0,5283; ANOVA |
| Anksioznost (tjelesna) | 2,600 ± 0,843 | 2,438 ± 0,669 | 2,818 ± 0,874 | P=0,3430; ANOVA |
| Gastrointestinalni simptomi | 1,500 ± 0,707 | 1,094 ± 0,777 | 1,364 ± 0,674 | P=0,2647; Kruskal-Wallis test |
| Opći tjelesni simptomi | 1,700 ± 0,483 | 1,656 ± 0,545 | 1,818 ± 0,404 | P=0,6887; Kruskal-Wallis test |
| Genitalni simptomi | 1,400 ± 0,699 | 1,219 ± 0,832 | 1,727 ± 0,647 | P=0,1529; Kruskal-Wallis test |
| Hipohondrijski simptomi | 1,200 ± 0,632 | 1,500 ± 0,916 | 2,273 ± 0,904 | P=0,0151*; ANOVA P=0,0183 AA vs GG; P= 0,0370 AG vs GG; Tukey's multiple comparisons test |
| Gubitak tjelesne težine | 0,800 ± 0,919 | 0,812 ± 0,965 | 0,818 ± 0,982 | P=0,9997; Kruskal-Wallis test |
| Uvid u bolest | 0,600 ± 0,516 | 0,875 ± 0,660 | 0,909 ± 0,701 | P=0,4804; Kruskal-Wallis test |

Vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. Statistička obrada napravljena je ANOVA-om ili Kruskal-Wallis testom, ovisno o normalnosti raspodjele podataka.

Nadalje, kad su ispitanici s depresijom podijeljeni prema genotipu rs4680 varijante jedina značajna razlika utvrđena je u broju bodova za hipohondrijske simptome na HAMD ljestvici (P=0,0151; ANOVA). Kao što prikazuje Tablica 13., Tukey post-hoc test je utvrdio da se u broju bodova za hipohondrijske simptome značajno razlikuju AA i GG nosioci (P=0,0183) te AG i GG nosioci (P= 0,0370) varijante rs4680. U ostalim pojedinačnim simptomima HAMD ljestvice nisu utvrđene značajne razlike u broju bodova između nosioca različitih genotipova rs4680 varijante (Tablica 13.).

Isto tako, nema značajnih razlika u bodovima za pojedinačne simptome na MADRS ljestvici, kad su depresivni ispitanici podijeljeni prema genotipovima rs4680 varijante (Tablica 14).

Tablica 14. Broj bodova na MADRS ljestvici (po pojedinačnim simptomima) kod ispitanika s depresijom podijeljenih prema genotipu rs4680 varijante

| MADRS bodovi | AA | AG | GG | Statistika |
|----------------------------|---------------|---------------|---------------|-------------------------------|
| Vidljiva tuga | 4,000 ± 0,667 | 3,813 ± 0,965 | 3,364 ± 1,027 | P=0,2618; ANOVA |
| Prijavljena tuga | 4,200 ± 0,789 | 3,906 ± 1,058 | 4,000 ± 1,265 | P=0,7465; ANOVA |
| Unutarnja napetost | 3,900 ± 0,738 | 3,625 ± 0,942 | 3,818 ± 1,079 | P=0,6523; Kruskal-Wallis test |
| Smanjeni san/spavanje | 3,200 ± 0,789 | 3,031 ± 1,257 | 3,182 ± 1,601 | P=0,9044; ANOVA |
| Smanjeni apetit | 2,100 ± 1,792 | 1,781 ± 1,641 | 2,182 ± 1,601 | P=0,7373; ANOVA |
| Poteškoće s koncentracijom | 3,800 ± 0,422 | 3,719 ± 0,924 | 3,545 ± 1,036 | P=0,7901; Kruskal-Wallis test |
| Umor | 3,900 ± 0,568 | 3,281 ± 1,442 | 3,727 ± 1,421 | P=0,3013; Kruskal-Wallis test |
| Nemogućnost osjećanja | 3,800 ± 1,135 | 3,594 ± 0,875 | 3,818 ± 1,168 | P=0,7404; ANOVA |
| Pesimistične misli | 2,100 ± 1,663 | 2,313 ± 1,554 | 2,182 ± 1,401 | P=0,9198; ANOVA |
| Suicidalne misli | 1,300 ± 1,703 | 0,906 ± 1,279 | 1,455 ± 1,916 | P=0,6891; Kruskal-Wallis test |

Vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. Statistička obrada napravljena je ANOVA-om ili Kruskal-Wallis testom, ovisno o normalnosti raspodjele podataka.

5. RASPRAVA

COMT inaktivira kateholamine adrenalin, noradrenalin i dopamin. Enzimsku aktivnost COMT-a djelomično je genetički predodređena. Funkcionalna varijanta rs4680 uzrokuje znatne promjene u enzimskoj aktivnosti (Lachman i sur., 1996; Lotta i sur., 1995). *COMT* met/met (genotip niže aktivnosti) uzrokuje manju enzimsku aktivnost u usporedbi s val/val genotipom, dok met/val genotip ispoljava srednje razine enzimске aktivnosti (Illi i sur., 2009). Iako COMT metabolički ne inaktivira serotonin, moguće je da bi gen *COMT* mogao imati ulogu u odgovoru na terapiju selektivnim inhibitorima ponovne pohrane serotonina (SSRI) kod velikog depresivnog poremećaja i iz tog razloga biti kandidat potencijalnog genskog utjecaja na antidepresivni odgovor na SSRI (Illi i sur., 2009).

Provedena su brojna istraživanja povezanosti gena *COMT* s depresijom i odgovorom na terapiju antidepresivima, međutim rezultati u literaturi su oprečni. U ovoj studiji istraživana je povezanost dviju varijanti gena *COMT*, rs4680 i rs4818, s depresivnim poremećajem i težinom depresivnih simptoma.

Utvrđeno je da među ispitanicima uključenim u istraživanje postoji statistički značajna razlika u raspodjeli spola između kontrolne skupine i skupine depresivnih ispitanika. Naime, u kontrolnoj skupini bilo je značajno više muškaraca, nego žena, dok je u skupini depresivnih ispitanika bilo više žena, nego muškaraca. Ova neusklađenost skupina po spolu nedostatak je istraživanja, međutim veći broj žena u skupini depresivnih ispitanika u skladu je s činjenicom da se depresija dvostruko češće pojavljuje kod žena, nego kod muškaraca. Smatra se da su uzrok tome hormonalne promjene koje se kod žena u reproduktivnoj dobi odvijaju tijekom mjeseca, a imaju utjecaj na metabolizam, ponajprije serotonina (Begić, Jukić i Medved, 2015). S druge strane, obje skupine ispitanika bile su dobro usklađene po dobi i pušačkom statusu.

χ^2 -test potvrdio je da je raspodjela genotipova za obje *COMT* varijante u skladu s Hardy-Weinbergovom ravnotežom u kontrolnoj skupini, međutim nije u skladu s Hardy-Weinbergovom ravnotežom u skupini depresivnih ispitanika. Hardy-Weinbergova jednadžba koristi se za izračunavanje genske varijacije u populaciji koja je u ravnoteži. Frekvencije genotipova i alela će ostati stalne i u ravnoteži ukoliko je križanje u populaciji nasumično i bez ometajućih okolnosti, odnosno u odsutnosti uznemirujućih čimbenika. Prema tome, primijećena poremećena Hardy-Weinbergova ravnoteža u ispitanika s depresijom može biti povezana sa samom patofiziologijom bolesti.

Istraživanje je pokazalo da u raspodjeli genotipova i alela za obje *COMT* varijante između kontrolne skupine i skupine depresivnih bolesnika ne postoji statistički značajna razlika. Kada su ispitanici podijeljeni na nosioce genotipa CC i alela G, odnosno nosioce genotipa GG i alela C varijante rs4818 te na nosioce genotipa AA i alela G, odnosno nosioce genotipa GG i alela A varijante rs4680, nisu utvrđene statistički značajne razlike između kontrolne skupine i skupine depresivnih ispitanika.

Dobiveni rezultati su u suprotnosti s nekim studijama koje upućuju da je *COMT* gen potencijalno povezan s afektivnim poremećajima te da može utjecati i na odgovor na terapiju poremećaja raspoloženja. Za razliku od ove studije, istraživanje na japanskoj populaciji utvrdilo je da je učestalost met alela *COMT*val108/158met varijante povećana kod depresivnih bolesnika u odnosu na kontrole (Ohara i sur., 1998; Mandelli et al., 2007). S druge strane povezanost val/val genotipa i val alela s ranim početnim oblikom depresije zabilježili su Massat i sur. (2005 i 2011). Åberg i sur. (2011) su pokazali da depresivni muškarci imaju veću učestalost Met/Met i Met/Val genotipova u usporedbi s kontrolom, što sugerira spolne razlike.

Međutim, kao što je to slučaj s dobivenim rezultatima, većina istraživanja (Kunugi i sur., 1997; Frisch i sur., 1999; Cusin i sur., 2002; Serretti i sur., 2006; Henderson i sur., 2000; Huuhka i sur., 2008; Wray i sur., 2008; Zalsman i sur., 2008) nije pronašla povezanost depresije s rs4680 alelom i/ili genotipom. Smatra se da se povezanost polimorfizma rs4680 s depresijom može razlikovati ovisno o različitim etničkim populacijama. Tako Val alel povećava rizik od razvoja depresivnog poremećaja kod pojedinaca europskog porijekla, dok je Met alel rizični alel za pojedince istočnoazijskog porijekla (Wang i sur., 2016).

U općoj populaciji su također utvrđeni konfliktni rezultati. Tako su Åberg i sur. (2011) utvrdili da depresivni muškarci imaju veću učestalost Met/Met i Met/Val genotipova u usporedbi s kontrolom. Međutim, u drugoj velikoj studiji Met/Met genotip bio je manje učestao u muškaraca s depresijom (Baekken i sur., 2008).

Sva navedena istraživanja provedena su na *COMT* varijanti rs4680, međutim nisu nađena istraživanja koja dovode u povezanost *COMT* varijantu rs4818 i depresivni poremećaj.

Računalnim programom „Haploview 4.2.“ utvrđen je visoki stupanj neravnoteže udruživanja (LD) *COMT* varijanti rs4818 i rs4680. Analizom haplotipova je otkriveno da su CA, GG i CG 3 najčešća haplotipa, ali je χ^2 -testom utvrđeno da u raspodjeli navedenih haplotipova ne postoji statistički značajna razlika između kontrolne skupine i skupine depresivnih ispitanika.

Za razliku od ovog istraživanja, studija Koike i sur. (2018) utvrdila je da u žena postoji značajna interakcija između *COMT* 4-SNP haplotipova (rs6269-rs4633-rs4818-rs4680) i emocionalnih problema u adolescenciji na afektivne simptome koji su vidljivi u dobi od 53 godine. Istraživanje Schosser-a i sur. (2011) pronašlo je značajnu povezanost *COMT* haplotipova (koji su uključivali varijante rs4818 i rs4680) s rizikom za suicid u depresivnih bolesnika koji nisu odgovarali na terapiju, ali ne i onih koji su odgovarali na liječenje. Također je pokazano da je C-C-A haplotip (rs4633, rs4818, rs4680) mnogo češće zastupljen u depresivnih pacijenata koji su odgovarali na terapiju u odnosu na bolesnike koji nisu odgovarali na terapiju i u odnosu na kontrolne ispitanike (Kocabas i sur., 2010). Haplotip G-T-G-G (rs6269, rs4633, rs4818, rs4680) pronađen je samo u skupini depresivnih pacijenata (Kocabas i sur., 2010). Chao i sur. (2019) su pokazali da rs4680 u haplotipu s drugim *COMT* polimorfizmom može biti povezan s ranjivošću za razvoj depresije. Naime haplotip TG (rs4633-rs4680) je možda u interakciji sa spolom i utječe na rizik od razvoja depresije jer su ženski nosioci haplotipa pokazivali 9,17 puta veći rizik od muških ispitanika (Chao i sur., 2019).

Težina simptoma bolesnika s depresijom utvrđena je HAMD i MADRS ljestvicama. Nije pronađena statistički značajna razlika u ukupnim bodovima na HAMD i MADRS ljestvicama između depresivnih ispitanika podijeljenih s obzirom na genotipove, alele i nosioce za varijante rs4818 i rs4680. Kada su istraživane razlike u broju bodova pojedinačnih simptoma na HAMD i MADRS ljestvicama između nosioca različitih genotipova rs4818 polimorfizma, jedina statistički značajna razlika (ANOVA) utvrđena je za hipohondrijske simptome HAMD ljestvice, ali je Tukeyjevim post-hoc testom utvrđeno da ta statistički značajna razlika ipak ne postoji. Međutim, za genotipove rs4680 polimorfizma je također utvrđena statistički značajna razlika u broju bodova za hipohondrijske simptome HAMD ljestvice. Tukey post-hoc test je potvrdio značajnu razliku za hipohondrijske simptome između AA i GG nosioca i AG i GG nosioca varijante rs4680.

Koliko je poznato, ovo je prvo istraživanje koje je pokazalo potencijalnu povezanost *COMT* rs4680 polimorfizma s hipohondrijskim simptomima. Hipohondrijski simptomi uključuju strahove od dobivanja ili imanja ozbiljnih bolesti, a mogu biti posljedica neravnoteže u aktivnosti između amigdale uključene u procesiranje straha i prefrontalnog korteksa zaduženog za inhibicijsku kontrolu, u kojem *COMT* ima glavnu ulogu u razgradnji dopamina. Stoga nije neočekivano da depresivni bolesnici koji su nosioci *COMT* GG genotipa ili G alela (Met nosioci) imaju veći broj bodova za hipohondrijske simptome od AA (Val) nosioca, s obzirom

da Met nosioci imaju manju aktivnost enzima COMT i veću koncentraciju dopamina u mozgu koja se povezuje s većom osjetljivošću na stres.

Glavnina dosadašnjih istraživanja upućuje da depresivne osobe pokazuju kognitivni obrazac procesiranja koji je u skladu s raspoloženjem, odnosno da postoji tendencija ka preferirajućim procesiranjem negativnih umjesto pozitivnih informacija i to u pamćenju, pažnji, percepciji i očekivanju (Price i Drevets, 2012). Nedavna meta-analiza pokazala je da depresivni ispitanici pokazuju hiperaktivaciju limbičkih područja u mozgu, poput amigdale i anteriornog cingulatnog korteksa kada procesiraju negativne podražaje i njihovu hipoaktivaciju kada procesiraju pozitivne podražaje (Groenewold i sur., 2012). Također, funkcionalni i strukturalni poremećaji primijećeni su u dorzalnim regijama prefrontalnog korteksa u depresivnih pacijenata, sugerirajući smanjenu emocionalnu regulaciju (Phillips i sur., 2003).

Hipohondrijski simptomi, kao jedan od simptoma depresije, možda bi mogli poslužiti kao potencijalni bihevioralni endofenotip depresije. Od bihevioralnih endofenotipova u depresiji do sada je uglavnom istraživana povezanost *COMT* rs4680 varijanti s bihevioralnom osjetljivošću (Montag i sur., 2008), prepoznavanjem negativnih emocija (Weiss i sur., 2007) i pamćenjem odbojnih informacija (Naudts i sur., 2012).

Naime, s obzirom da je depresija kao i mnogi drugi neuropsihijatrijski poremećaji vrlo kompleksna, smatra se da bi se istraživanja trebala usmjeriti ka pojedinim endofenotipovima depresije kao što su na primjer određeni kognitivni, neuropsihološki, neurofiziološki ili biokemijski parametri (Gottesman i Gould, 2003). Pretpostavlja se da bi se utjecaj određenih gena na endofenotipove mogao bolje utvrditi, nego učinci gena na kompleksne fenotipove poput depresije. Endofenotipovi bi mogli biti detektirani u nosiocima rizičnih alela i ako nosioci ne pokazuju sve kliničke dijagnostičke simptome (Meyer-Lindenberg i Weinberger, 2006) pa čak i u zdravih osoba.

U nedostatke ovog istraživanja mogao bi biti naveden mali uzorak ispitanika, različiti omjer muškaraca i žena između kontrolne skupine i bolesnika s depresijom te neprecizna samoprocjena psihičkog stanja ispitanika prilikom ispunjavanja HAMD i MADRS ljestvica. Stoga se rezultati ovog istraživanja moraju potvrditi u daljnim istraživanjima s većim brojem ispitanika, bolje usklađenim skupinama vezano uz spol te dodatnim kliničkim skalama koje se koriste za evaluaciju depresivnih simptoma.

6. ZAKLJUČAK

1. U kontrolnoj skupini bilo je značajno više muškaraca, nego žena, dok je u skupini depresivnih ispitanika bilo više žena, nego muškaraca. S druge strane, obje skupine ispitanika bile su dobro usklađene po dobi i pušačkom statusu.
2. Raspodjela genotipova za *COMT* rs4818 i rs4680 varijante bila je u skladu s Hardy-Weinbergovom ravnotežom u kontrolnoj skupini, ali ne i u depresivnoj skupini.
3. Raspodjela pojedinih genotipova i alela *COMT* varijanti rs4818 i rs4680 nije se značajno razlikovala između kontrolnih ispitanika i ispitanika s depresijom.
4. Nisu utvrđene statistički značajne razlike u raspodjeli između kontrolnih ispitanika i ispitanika s depresijom, kada su ispitanici podijeljeni na nosioce genotipa CC i alela G ili na nosioce genotipa GG i alela C varijante rs4818 te nosioce genotipa AA i alela G ili na nosioce genotipa GG i alela A varijante rs4680.
5. Haplotipska analiza je pokazala da su varijante rs4818 i rs4680 u visokom stupnju neravnoteže udruživanja (LD-a) te da se vjerojatno naslijeđuju zajedno u bloku.
6. Utvrđena su 3 haplotipa koji imaju najveću učestalost u ispitivanom uzorku: CA, GG i CG, ali u raspodjeli utvrđenih haplotipova nije pronađena statistički značajna razlika između kontrolne skupine i skupine depresivnih ispitanika.
7. Ukupni broj bodova na HAMD i MADRS ljestvicama nije se značajno razlikovao između ispitanika s depresijom podijeljenih na nosioce genotipova s obzirom na varijantu rs4818 (CC, CG i GG), kao ni na nosioce genotipova s obzirom na varijantu rs4680 (AA, AG i GG).
8. Nije bilo značajnih razlika u ukupnom broju bodova na HAMD i MADRS ljestvici kod depresivnih bolesnika podijeljenih na nosioce CC naspram G i GG naspram C varijante rs4818 te podijeljenih na nosioce AA naspram G i GG naspram A varijante rs4680.
9. Broj bodova za pojedine simptome na HAMD i MADRS ljestvicama nije se značajno razlikovao u ispitanika s depresijom koji nose CC, CG i GG genotip varijante rs4818.
10. ANOVA i Tukey post-hoc test utvrdili su da se u broju bodova za hipohondrijske simptome značajno razlikuju AA i GG nosioci te AG i GG nosioci varijante rs4680.
11. U broju bodova za ostale simptome na HAMD i MADRS ljestvicama nisu utvrđene statistički značajne razlike kod ispitanika s depresijom koji nose AA, AG i GG genotipove varijante rs4680.
12. Rezultati ovog istraživanja moraju se potvrditi u daljnim većim istraživanjima, s bolje usklađenim skupinama vezano uz spol te dodatnim kliničkim skalama za depresiju.

7. LITERATURA

- Åberg E., Fandino-Losada A., Sjöholm L.K., Forsell Y., Lavebratt C. (2011): The functional Val158Met polymorphism in catechol-O-methyltransferase (COMT) is associated with depression and motivation in men from a Swedish populationbased study. *J. Affect. Disord.* **129**:158–166.
- Amidfar M. (2018): The Role of Dopaminergic System in the Pathogenesis and Treatment of Depression. *Ec Psychology and Psychiatry* **7.3** (2018):132-136.
- Antypa N., Drago A., Serretti A. (2013): The role of COMT gene variants in depression: Bridging neuropsychological, behavioral and clinical phenotypes. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **37**(8):1597-1610.
- Åsberg M., Montgomery S.A., Perris C., Schalling D., Sedvall G. (1978): A comprehensive psychopathological rating scale. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* **271**:5-27.
- Axelrod J., Tomchick R. (1958): Enzymatic O-methylation of epinephrine and other catechols. *J. Biol. Chem.* **233**(3):702-705.
- Baekken P.M., Skorpen F., Stordal E., Zwart J.A., Hagen K. (2008): Depression and anxiety in relation to catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype in the general population: the Nord-Trøndelag Health Study (HUNT). *BMC Psychiatry* **8**:48.
- Bai H.W., Shim J.Y., Yu J., Zhu B.T. (2007): Biochemical and molecular modeling studies of the O-methylation of various endogenous and exogenous catechol substrates catalyzed by recombinant human soluble and membrane-bound catechol-O-methyltransferases. *Chem. Res. Toxicol.* **20**(10):1409–1425.
- Baune B., Hohoff C., Berger K., Neumann A., Mortensen S., Roehrs T., Deckert J., Arolt V., Domschke K. (2009): Association of the COMT Val158Met variant with antidepressant treatment response in major depression. *Neuropsychopharmacology* **33**(4):924-932.
- Begić D., Jukić V., Medved V. (2015): Psihijatrija; Medicinska naklada
- Benedetti F., Colombo C., Pirovano A., Marino E., Smeraldi E. (2009.): The catechol-O-methyltransferase Val(108/158)Met polymorphism affects antidepressant response to paroxetine in a naturalistic setting. *Psychopharmacology (Berl)*. **203**(1):155-160.
- Berger M., Gray J.A., Roth B.L. (2009): The expanded biology of serotonin. *Annu. Rev. Med.* **60**:355-366.
- Berk M., Berk L., Castle D. (2004): A collaborative approach to the treatment alliance in bipolar disorder. *Bipolar Disord.* **6**(6):504-518.

- Bernaras E., Jaureguizar J., Garaigordobil M. (2019): Child and Adolescent Depression: A Review of Theories, Evaluation Instruments, Prevention Programs, and Treatments. *Front Psychol.* **10**:543.
- Calati R., Porcelli S., Giegling I., Hartmann A.M., Möller H.J., De Ronchi D., Serretti A., Rujescu D. (2011): Catechol-o-methyltransferase gene modulation on suicidal behavior and personality traits: review, meta-analysis and association study. *J. Psychiatr. Res.* **45**(3):309-321.
- Chand S.P., Arif H. (2019): Depression. *StatPearls Publishing LLC*.
- Chao H.X., Fakhreddin R.I., Shimwrov H.K., Kedziora K.M., Kumar R.J., Perez J., Limas J.C., Grant G.D., Cook J.G., Gupta G.P., Purvis J.E. (2019): Evidence that the human cell cycle is a series of uncoupled, memoryless phases. *Mol. Syst. Biol.* **15**:e8604.
- 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. *Am. J. Hum. Genet.* **75**(5):807-821.
- Cusin C., Serretti A., Lattuada E., Lilli R., Lorenzi C., Smeraldi E. (2002): Association study of MAO-A, COMT, 5-HT2A, DRD2, and DRD4 polymorphisms with illness time course in mood disorders. *Am. J. Med. Genet.* **114**:380–390.
- Fijal B., Perlis R.H., Heinloth A.N., Houston J.P. (2010): The Association of Single Nucleotide Polymorphisms in the Catechol-O-Methyltransferase Gene and Pain Scores in Female Patients With Major Depressive Disorder. *J. Pain* **11**(9):910-915.
- Frisch A., Postilnick D., Rockah R., Michaelovsky E., Postilnick S., Birman E., Laor N., Rauschverger B., Kreinin A., Poyurovsky M., Schneidman M., Modai I., Weizman R. (1999): Association of unipolar major depressive disorder with genes of the serotonergic and dopaminergic pathways. *Mol. Psychiatry* **4**:389–392.
- Gautam S., Jain A., Gautam M., Vahia V.N., Grover S. (2017): Clinical Practice Guidelines for the management of Depression. *Indian J. Psychiatry* **59**(Suppl 1):S34-S50.
- Gogos J.A., Morgan M., Luine V., Santha M., Ogawa S., Pfaff D., Karayiorgou M. (1998): Catechol O-methyltransferase deficit mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **95**(17):991-9996.

- Gottesman I.I., Gould T.D. (2003): The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am. J. Psychiatry* **160**:636–645.
- Groenewold N.A., Opmeer E.M., de Jonge P., Aleman A., Costafreda S.G. (2012): Emotional valence modulates brain functional abnormalities in depression: evidence from a meta-analysis of fMRI studies. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **37**:152–163.
- 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**(4):822-825.
- Guldberg H.C., Marsden C.A. (1975): Catechol-O-methyltransferase: pharmacological aspects and physiological role. *Pharmacol. Rev.* **27**(2):135–206.
- Gupta M., Bhatnagar S., Grover S., Kaur H., Baghel R., Bhasin Y., Chauhan C., Verma B., Manduva V., Mukherjee O., Purushottam M., Sharma A., Jain S., Brahmachari S.K., Kukreti R. (2009.): Association studies of Catechol O-methyltransferase (COMT) gene with schizophrenia and response to antipsychotic treatment. *Pharmacogenomics*. **10**(3):385-397.
- Hamilton M. (1960): A rating scale for depression. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **23**:56-62.
- Harmer C.J., Duman R.S., Cowen P.J. (2017): How do antidepressants work? New perspectives for refining future treatment approaches. *Lancet Psychiatry* **4**(5):409-418.
- Henderson A.S., Korten A.E., Jorm A.F., Jacomb, P.A., Christensen H., Rodgers B., Tan X., Easteal S. (2000): COMT and DRD3 polymorphisms, environmental exposures, and personality traits related to common mental disorders. *Am. J. Med. Genet.* **96**:102–107.
- Henry M.S., Gendron L., Tremblay M.E., Drolet G. (2017): Enkephalins: Endogenous Analgesics with an Emerging Role in Stress Resilience. *Neural Plast.* **2017**:1546125.
- Huang Y.J., Lane H.Y., Lin C.H. (2017): New Treatment Strategies of Depression: Based on Mechanisms Related to Neuroplasticity. *Neural Plast.* **2017**:4605971.
- Huotari M., Gogos J.A., Karayiorgou M., Koponene O., Forsberg M., Raasmaja A. i sur. (2002): Brain catecholamine metabolism in Catechol O-methyltransferase deficit mice. *Eur. J. Neurosci.* **15**(2):246-256.
- Huuhka K., Anttila S., Huuhka M., Hietala J., Huhtala H., Mononen N., Lehtimäki T., Leinonen E. (2008): Dopamine 2 receptor C957 T and catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphisms are associated with treatment response in electroconvulsive therapy. *Neurosci. Lett.* **448**:79–83.

- Illi A., Setälä-Soikkeli E., Kampman O., Viikki M., Nuolivirta T., Poutanen O., Huhtala H., Mononen N., Lehtimäki T., Leinonen E. (2009): Catechol-O-methyltransferase val108/158met genotype, major depressive disorder and response to selective serotonin reuptake inhibitors in major depressive disorder. *Psychiatry Res.* **176**(1):85-87.
- Kessler R.C., Bromet E.J. (2013): The epidemiology of depression across cultures. *Annu. Rev. Public Health.* **34**:119-138.
- Kocabas N.A., Faghel C., Barreto M., Kasper S., Linotte S., Mendlewicz J., Noro M., Oswald P., Souery D., Zohar J., Massat I. (2010): The impact of catechol-O-methyltransferase SNPs and haplotypes on treatment response phenotypes in major depressive disorder: a case-control association study. *Int. Clin. Psychopharmacol.* **25**(4):218-227.
- Köhler S., Cierpinsky K., Kronenberg G., Adli M. (2016): The serotonergic system in the neurobiology of depression: Relevance for novel antidepressants. *J Psychopharmacol.* **30**(1):13-22.
- Koike N., Hatano Y., Ushimaru T. (2018): Heat shock transcriptional factor mediates mitochondrial unfolded protein response. *Curr. Genet.* **64**(4):907-917.
- Kovács G.L. (2004): The Endocrine Brain: Pathophysiological Role of Neuropeptide-Neurotransmitter Interactions. *EJIFCC.* **15**(3):107-112.
- Kraus C., Castrén E., Kasper S., Lanzenberger R. (2017): Serotonin and neuroplasticity – Links between molecular, functional and structural pathophysiology in depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **77**:317-326.
- Kunugi H., Vallada H.P., Hoda F., Kirov F., Aitchison K.J., Ball D., Arranz M.J., Murray R.M., Collier D.A. (1997): No evidence for an association of affective disorders with high-or low-activity allele of catechol-O-methyltransferase. *Biol. Psychiatry* **42**:282–285.
- Lachman H.M., Papolos D.F., Saito T., Yu Y.M., Szumlanski C.L., Weinshilboum R.M. (1996): Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* **6**:243-250.
- Laje G., McMahon F.J. (2007): The pharmacogenetics of major depression: past, present, and future. *Biol. Psychiatry.* **62**(11):1205-1207.

- Lehto K., Vaht M., Mäestu J., Veidebaum T., Harro J. (2015): Effect of tryptophan hydroxylase-2 gene polymorphism G-703 T on personality in a population representative sample. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **57**:31-35.
- 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**(13):4202–4210.
- Ma Z., Liu H., Wu B. (2014): Structure-based drug design of catechol-O-methyltransferase inhibitors for CNS disorders. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **77**(3):410-420.
- Maletic V., Eramo A., Gwin K., Offord S.J., Duffy R.A. (2017): The ROle of Norepinephrine and Its α -Adrenergic Receptors in the Pathophysiology and Treatment of Major Depressive Disorder and Schizophrenia: A Systematic Review. *Front Psychiatry* **8**:42.
- 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. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **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. *Pharmacol. Rev.* **51**(4):593-628.
- Marecos C., Ng J., Kurian M.A. (2014): What is new for monoamine neurotransmitter disorders? *J. Inherit. Metab. Dis.* **37**(4):619-626.
- Massat I., Kocabas N.A., Crisafulli C., Chiesa A., Calati R., Linotte S., Kasper S., Fink M., Antonijevic I., Forray C., Snyder L., Bollen J., Zohar J., De Ronchi D., Souery D., Serretti A., Mendlewicz J. (2011): COMT and age at onset in mood disorders: a replication and extension study. *Neurosci. Lett.* **498**: 218–221.
- Massat I., Souery D., Del-Favero J., Nothen M., Blackwood M., Muir W., Kaneva R., Serretti A., Lorenzi C., Rietschel M., Milanova V., Papadimitriou G.N., Dikeos D., 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. *Mol. Psychiatry* **10**:598–605.
- McGregor N.R. (2014): Catechol-O-Methyltransferase:a review of the Gene and Enzyme. *J. Dent. Cl. Res.* **1**, Issue 1:007.

- McMahon F.J., Buervenich S., Charney D., Lipsky R., Rush AJ, Wilson A.F., Sorant A.J.M., Papanicolaou G.J., Laje G., Fava M., Trivedi M.H., Wisniewski S.R., Manji H. (2006): Variation in the gene encoding the serotonin 2A receptor is associated with outcome of antidepressant treatment. *Am. J. Hum. Genet.* **78**(5):804-814.
- Meyer-Lindenberg A., Weinberger D.R. (2006): Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nat. Rev. Neurosci.* **7**:818–827.
- Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. (1988): A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* **16**(3):1215.
- Mishra A., Singh S., Shukla S. (2018): Physiological and Functional Basis of Dopamine Receptors and Their Role in Neurogenesis: Possible Implication for Parkinson's disease. *J. Exp. Neurosci.* **12**:1179069518779829.
- Montag C., Buckholtz J.W., Hartmann P., Merz M., Burk C., Hennig J., Reuter M. (2008): COMT genetic variation affects fear processing: psychophysiological evidence. *Behav. Neurosci.* **122**:901–909.
- Montgomery S.A., Åsberg M. (1979): A new depression scale designed to be sensitive to change. *Br J Psychiatry* **134**:382-389.
- Moret C., Briley M. (2011): The importance of norepinephrine in depression. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **7**(Suppl 1):9-13.
- Narbona J. (2014): Depressive phenomenology at the outset of neuropsychiatric diseases. *Rev. Neurol.* **58**(Suppl 1), S71-S75.
- Naudts K.H., Azevedo R.T., David A.S., van Heeringen C., Gibbs A.A. (2012): Influence of COMT val158met and ADRA2B deletion polymorphisms on recollection and familiarity components of human emotional memory. *J. Psychopharmacol.* **26**:819–829.
- Nique S., Fournis G., El-Hage W., Nabhan-Abou N., Garré J.-B., Gohier B. (2014): Transporteur de la sérotonine, troubles anxieux et dépression: revue de la littérature. *Eur. Psychiatry* **29**(8):544-545.
- Nissinen E., Männistö P.T. (2010): Biochemistry and pharmacology of catechol-O-methyltransferase inhibitors. *Int. Rev. Neurobiol.* **95**:73-118.
- Nutt D.J. (2008): Relationship of neurotransmitters to the symptoms of major depressive disorder. *J. Clin. Psychiatry* **69** Suppl E1:4-7.
- Ohara K., Nagai M., Suzuki Y., Ohara K. (1998): Low activity allele of catechol-O-methyltransferase gene and Japanese unipolar depression. *Neuroreport* **9**:1305–1308.

- Otte C., Gold S.M., Penninx B.W., Pariante C.M., Etkin A., Fava M., Mohr D.C., Schatzberg A.F. (2016): Major depressive disorder. *Nat. Rev. Dis. Primers.* **2**:16065.
- Phillips M.L., Drevets W.C., Rauch S.L., Lane R. (2003): Neurobiology of emotion perception II: Implications for major psychiatric disorders. *Biol. Psychiatry* **54**:515–528.
- Price J.L., Drevets W.C. (2012): Neural circuits underlying the pathophysiology of mood disorders. *Trends Cogn. Sci.* **16**:61–71.
- Robinson M. A. (1998), *Encyclopedia of Immunology (Second Edition)*; Editor-in-Chief: Peter J. Delves
- Roth J.A. (1992): Membrane-bound catechol-O-methyltransferase: a reevaluation of its role in the O-methylation of the catecholamine neurotransmitters. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **120**:1–29.
- Ruhé H.G., Mason N.S., Schene A.H. (2007): Mood is directly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. *Mol. Psychiatry.* **12**(4):331-359.
- Rush A.J., Fava M., Wisniewski S.R., Lavori P.W., Trivedi M.H., Sackeim H.A., Thase M.E., Nierenberg A.A., Quitkin F.M., Kashner T.M., Kupfer D.J., Rosenbaum J.F., Alpert J., Stewart J.W., McGrath P.J., Biggs M.M., Shores-Wilson K., Lebowitz B.D., Ritz L., Niederehe G.; STAR*D Investigators Group (2004): Sequenced treatment alternatives to relieve depression (STAR*D): rationale and design. *Control. Clin. Trials* **25**(1):119-142.
- Sagud M., Tudor L., Uzun S., Perkovic M.N., Zivkovic M., Konjevod M., Kozumplik O., Vuksan Cusa B., Svob Strac D., Rados I., Mimica N., Mihaljevic Peles A., Nedic Erjavec G., Pivac N. (2018): Haplotypic and Genotypic Association of Catechol-O-Methyltransferase rs4680 and rs4818 Polymorphisms and Treatment Resistance in Schizophrenia. *Front Pharmacol.* **9**:705.
- Schosser A., Calati R., Serretti A., Massat I., Kocabas N.A., Papageorgiou K., Linotte S., Mendlewicz J., Souery D., Zohar J., Juven-Wetzler A., Montgomery S., Kasper S. (2011): The impact of COMT gene polymorphisms on suicidality in treatment resistant major depressive disorder – A European Multicenter Study. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **22**(4):259-266.

- Serretti A., Rotondo A., Lorenzi C., Smeraldi E., Cassano G.B. (2006): Catechol-O-methyltransferase gene variants in mood disorder in the Italian population. *Psychiatr. Genet.* **16**:181–182.
- Shield A.J., Thomae B.A., Eckloff B.W., Wieben E.D., Weinshilboum R.M. (2004): Human catechol O-methyltransferase genetic variation: gene resequencing and functional characterization of variant allozymes. *Mol. Psychiatry* **9**(2):151-160.
- Simmons J.P., Wohl J.S. (2009): Vasoactive catecholamines. *Crit. Care Med.* **176**:756-758.
- Szegedi A., Rujescu D., Tadic A., Müller M.J., Kohlen R., Stassen H.H., Dahmen N. (2005): Catechol O-methyltransferase Val108/158Met polymorphism affects short-term treatment response to mirtazapine, but not to paroxetine in major depression. *Pharmacogenomics J.* **5**(1):49-53.
- Švob Štrac D., Pivac N., Mück-Šeler D. (2016): The serotonergic system and cognitive function. *Transl. Neurosci.* **7**(1):35-49.
- Tang M.H., Pinsky E.G. (2015): Mood and affect disorders. *Pediatr. Rev.* **36**(2):52-60.
- Tank A.W., Lee Wong D. (2015): Peripheral and central effects of circulating catecholamines. *Compr. Physiol.* **5**(1):1-15.
- Tenhunen J., Salminen M., Lundstrom K., Kiviluoto T., Savolainen M., Ulmanen I. (1994): Genomic organisation of the human Catechol O-methyltransferase (COMT) gene and its expression from two distinct promoters. *Eur. J. Biochem.* **223**(3):1049-1059.
- Tsai S.J., Gau Y.T., Hong C.J., Liou Y.J., Yu Y.W., Chen T.J. (2009): Sexually dimorphic effect of catechol O-methyltransferase (COMT) val158met polymorphism on clinical response to fluoxetine in major depressive patients. *J. Affect. Disord.* **113**(1-2):183-187.
- Tunbridge E.M. (2010): The catechol-O-methyltransferase gene: its regulation and polymorphisms. *Int. Rev. Neurobiol.* **95**:7-27.
- Vidgren J., Ovaska M. (1997): Structural aspects in the inhibitor design of catechol O-methyltransferase. In: *Structure-Based Drug Design* (P. Veerapandian, ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 343–363.
- Vidgren J., Svensson L. A., Liljas A. (1994): Crystal structure of catechol O-methyltransferase. *Nature* **368**(6469):354–358.

- Wang M., Ma Y., Yuan W., Su K., Li M.D. (2016): Meta-Analysis of the COMT Val158Met Polymorphism in Major Depressive Disorder: Effect of Ethnicity. *J Neuroimmune Pharmacol* **11**(3):434-445.
- Weiss E.M., Stadelmann E., Kohler C.G., Brensinger C.M., Nolan K.A., Oberacher H., Parson W., Pitterl F., Niederstatter H., Kemmler G., Hinterhuber H., Marksteiner J. (2007): Differential effect of catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype on emotional recognition abilities in healthy men and women. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* **13**: 881–887.
- Wray N.R., James M.R., Dumenil T., Handoko H.Y., Lind P.A., Montgomery G.W., Martin N.G. (2008): Association study of candidate variants of COMT with neuroticism, anxiety and depression. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* **147B**:1314–1318.
- Zalsman G., Huang Y.Y., Oquendo M.A., Brent D.A., Giner L., Haghghi F., Burke A.K., Ellis S.P., Currier D., Mann J.J. (2008): No association of COMT Val158Met polymorphism with suicidal behavior or CSF monoamine metabolites in mood disorders. *Arch. Suicide Res.* **12**:327–335.
- <http://what-when-how.com/neuroscience/neurotransmitters-the-neuron-part-3/>
- <http://www.biostathandbook.com/fishers.html>
- <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/COMT#location>
- <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/genomicresearch/snp>
- <https://microbenotes.com/real-time-pcr-principle-process-markers-advantages-applications/>
- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=dopamine>
- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5202>
- <https://www.broadinstitute.org/haploview/haploview>
- <https://www.graphpad.com/scientific-software/prism/>
- <https://www.mentalhelp.net/depression/biology-of-depression-neurotransmitters/>
- <https://www.optimoz.com.au/blogs/news/brain-soup-the-science-of-neurotransmitters-and-neuromodulators>
- https://www.pharmacorama.com/en/Sections/Catecholamines_3.php
- <https://www.psychiatry.org/psychiatrists/practice/dsm>
- https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structures-of-MDMA-Ecstasy-MDEA-MDA-serotonin-5-HT-norepinephrine-and_fig1_7183482

- https://www.researchgate.net/figure/Classification-of-neurotransmitters_fig1_6154059
- https://www.researchgate.net/figure/Crystal-structure-of-human-S-COMT-Structure-of-human-S-COMT-A-108V-and-B-108M-bound_fig3_259327808
- <https://www.rndsystems.com/pathways/synaptic-neurotransmission-pathways-glutamatergic-excitation>
- <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/linkage-disequilibrium>
- <https://www.semanticscholar.org/paper/Neuroleptic-malignant-syndrome.-Bhandari/96d99be027af21846f8811eee3592be9a10a8d50/figure/0>
- <https://www.who.int/health-topics/international-classification-of-diseases>

8. PRILOZI

Prilog 1 HAMD ljestvica

| | |
|--|---|
| <p>1. Depresivno raspoloženje (tuga, beznade, bespomoćnost, bezvrijednost)</p> <p>0 – odsutno 1 – ovi osjećaji su prisutni samo tijekom ispitivanja 2 – ovi osjećaji se spontano pojavljuju verbalnim putem 3 – izražava ove osjećaje neverbalno, odnosno kroz izraz lica, držanje tijela, glas i sklonost plaču 4 – pacijent iskazuje gotovo samo ta stanja u verbalnoj i neverbalnoj komunikaciji</p> | <p>2. Osjećaj krivnje</p> <p>0 – odsutan 1 – samoprigovaranje, osjećaj da je iznevjerio ljude 2 – ideje krivnje ili grižnje zbog prošlih pogrešaka ili grešnih djela 3 – sadašnja bolest je kazna; deluzije krivnje 4 – čuje optužujuće ili predbacivačke glasove i/ili doživljava prijeteće vizualne halucinacije</p> |
| <p>3. Samoubilački porivi (suicid)</p> <p>0 – odsutni 1 – osjećaj da nije vrijedno živjeti 2 – želje da bude mrtav ili bilo koje misli o svojoj potencijalnoj smrti 3 – ideje ili geste suicida 4 – pokušaji suicida (svaki ozbiljni pokušaj)</p> | <p>4. Smetnje usnivanja (rana nesanica)</p> <p>0 – bez poteškoća pri usnivanju 1 – žalbe na povremene poteškoće prilikom usnivanja, odnosno duže od pola sata 2 – žalbe na noćne poteškoće sna</p> |
| <p>5. Smetnje snivanja (srednja nesanica)</p> <p>0 – bez poteškoća 1 – pacijent se žali da je nemiran i uznemiren tijekom noći 2 – buđenje tijekom noći; svako ustajanje iz kreveta (osim u svrhu mokrenja)</p> | <p>6. Jutarnje smetnje spavanja (kasna nesanica)</p> <p>0 – bez poteškoća 1 – buđenje u rane jutarnje sate, ali povratak na spavanje 2 – nemogućnost ponovnog usnivanja nakon ustajanja</p> |
| <p>7. Rad i aktivnosti</p> <p>0 – bez poteškoća</p> | <p>8. Psihomotorna inhibicija; retardacija (usporenost misli i govora, oslabljena sposobnost koncentracije, smanjena motorička aktivnost)</p> <p>0 – normalan govor i misli 1 – blaga retardacija tijekom razgovora</p> |

| | |
|--|--|
| <p>1 – misli i osjećaji nesposobnosti, umor ili slabost vezana za aktivnosti, posao ili hobije</p> <p>2 – gubitak interesa za aktivnost, hobije ili posao; bilo da pacijent izravno prijavljuje ili neizravno kroz tromost, neodlučnost i kolebanje (osjećaj da se mora prisiliti na posao ili aktivnost)</p> <p>3 – smanjenje vremena provedenog u aktivnostima i smanjenje produktivnosti (ako pacijent ne provodi najmanje 3 sata po danu u aktivnostima, poslu ili hobijima, isključujući rutinske poslove)</p> <p>4 – prestanak rada zbog prisutne bolesti (ako se pacijent ne bavi nikakvim aktivnostima, osim rutinskih poslova ili ako pacijent ne izvršava rutinske poslove bez pomoći)</p> | <p>2 – očigledna retardacija tijekom razgovora</p> <p>3 – težak razgovor</p> <p>4 – potpuni stupor</p> |
| <p>9. Agitacija</p> <p>0 – nije prisutna</p> <p>1 – vrcavost</p> <p>2 – igranje s rukama, kosom, itd.</p> <p>3 – kretanje, nemogućnost mirnog sjedenja</p> <p>4 – trljanje ruku, grickanje noktiju, uvlačenje kose, grizenje usnica</p> | <p>10. Anksioznost (psihčka)</p> <p>0 – bez poteškoća</p> <p>1 – subjektivna napetost i razdražljivost</p> <p>2 – zabrinutost oko malih stvari</p> <p>3 – prestrašenost u licu ili govoru</p> <p>4 – strahovi izraženi i bez pitanja</p> |
| <p>11. Anksioznost (tjelesna); fiziološki pratitelji anksioznosti kao što su:</p> <p>gastrointestinalni – suha usta, vjetrovi, probavne smetnje, proljev, grčevi, podrigivanje; kardiovaskularni – palpitacije, glavobolje; respiratorni – hiperventilacija, uzdisanje; učestalost mokrenja; znojenje</p> <p>0 – odsutna</p> <p>1 – blaga</p> <p>2 – umjerena</p> <p>3 – teška</p> <p>4 – onesposobljavajuća</p> | <p>12. Gastrointestinalni simptomi</p> <p>0 – nisu prisutni</p> <p>1 – gubitak apetita, ali jedenje bez tuđeg ohrabrivanja; težina u abdomenu</p> <p>2 – nemogućnost hranjenja bez nagovaranja, upiti ili zahtjevi za laksative ili lijekove za gastrointestinalne simptome</p> |

| | | | |
|---|---|---|---|
| <p>13. Opći tjelesni simptomi</p> <p>0 – nisu prisutni 1 – težina u udovima, leđima ili glavi; bolovi u leđima, glavobolje, bolovi u mišićima, gubitak energije i umor 2 – bilo koji izraženi simptom</p> | <p>14. Genitalni simptomi (simptomi poput gubitka libida, poremećaja menstruacije)</p> <p>0 – nisu prisutni 1 – blagi 2 – teški</p> | | |
| <p>15. Hipohondrijski simptomi</p> <p>0 – nisu prisutni 1 – samoapsorpcija (tjelesna) 2 – preokupacija zdravljem 3 – česte pritužbe, molbe za pomoć, itd. 4 – hipohondrijske deluzije</p> | <p>16. Gubitak tjelesne težine (ili a ili b)</p> <table border="1" data-bbox="802 678 1394 1137"> <tr> <td data-bbox="802 678 1098 1137"> <p>a) prema pacijentu</p> <p>0 – nema gubitka težine 1 – mogućnost gubitka na težini povezanog s prisutnom bolesti 2 – gubitak težine 3 – nemoguće procijeniti</p> </td> <td data-bbox="1098 678 1394 1137"> <p>b) prema tjednim mjerenjima</p> <p>0 – manje od 1 kilograma tjedno 1 – više od 1 kilograma tjedno 2 – više od 2 kilograma tjedno 3 – nemoguće procijeniti</p> </td> </tr> </table> | <p>a) prema pacijentu</p> <p>0 – nema gubitka težine 1 – mogućnost gubitka na težini povezanog s prisutnom bolesti 2 – gubitak težine 3 – nemoguće procijeniti</p> | <p>b) prema tjednim mjerenjima</p> <p>0 – manje od 1 kilograma tjedno 1 – više od 1 kilograma tjedno 2 – više od 2 kilograma tjedno 3 – nemoguće procijeniti</p> |
| <p>a) prema pacijentu</p> <p>0 – nema gubitka težine 1 – mogućnost gubitka na težini povezanog s prisutnom bolesti 2 – gubitak težine 3 – nemoguće procijeniti</p> | <p>b) prema tjednim mjerenjima</p> <p>0 – manje od 1 kilograma tjedno 1 – više od 1 kilograma tjedno 2 – više od 2 kilograma tjedno 3 – nemoguće procijeniti</p> | | |
| <p>17. Uvid u bolest</p> <p>0 – priznaje da je depresivan i bolestan 1 – priznaje bolest, ali ju pripisuje lošoj hrani, vremenu, prekomjernom radu, virusi, potrebi za odmorom, itd. 2 – negira da je bolestan</p> | | | |
| | <p>Ukupni broj bodova:</p> | | |

Prilog 2 MADRS ljestvica

| | |
|---|--|
| <p>1. Vidljiva tuga</p> <p>Predstavlja omalovažavanje, crnilo i očaj (u većoj mjeri od uobičajenog, prolaznog lošeg raspoloženja) koji se očituju u govoru, izrazu lica i držanju tijela.</p> <p>Ocijeniti prema dubini tuge i nemogućnosti vraćanja dobrog raspoloženja.</p> <p>0 tuga nije prisutna 1 2 izgleda smušeno, ali se razveseli bez poteškoća 3 4 izgleda tužno i nesretno većinu vremena 5 6 izgleda jadno cijelo vrijeme; izuzetno očajno</p> | <p>2. Prijavljena tuga</p> <p>Predstavlja izvještaje o depresivnom raspoloženju, bez obzira ogledava li se u izgledu ili ne. Uključuje lošu volju, omalovažavanje ili osjećaj beznada.</p> <p>Ocijeniti prema intenzitetu, trajanju i u kojoj mjeri je raspoloženje pod utjecajem događaja.</p> <p>0 povremena tuga u skladu s okolnostima 1 2 tuga ili potištenost, ali razveseljavanje bez poteškoća 3 4 prožimajući osjećaj tuge ili crnila; na raspoloženje još uvijek utječu vanjske okolnosti 5 6 neprekidna ili nepromjenjiva tuga, jad ili očaj</p> |
| <p>3. Unutarnja napetost</p> <p>Predstavlja osjećaj nelagode, osjećaj „na rubu“, unutarnji nemir do panike, straha ili tjeskobe.</p> <p>Ocijeniti prema intenzitetu, učestalosti, trajanju i obujmu traženja olakšanja.</p> <p>0 miran, odražava samo unutarnju napetost 1 2 povremeni osjećaj da je „na rubu“ i nelagoda 3 4 stalni osjećaji unutarnje napetosti ili povremene panike koje pacijent može prevladati samo s nekim poteškoćama 5 6 neumoljiva bojazan ili tjeskoba, prevladavajuća panika i nemir</p> | <p>4. Smanjeni san/spavanje</p> <p>Predstavlja iskustvo smanjenog trajanja ili dubine sna u usporedbi s inače prisutnim obrascem.</p> <p>0 spava kao obično 1 2 blage poteškoće prilikom tonjenja u san ili blago smanjenje laganog ili prikladnog sna 3 4 smanjeno spavanje ili skraćenje sna za najmanje 2 sata 5 6 maje od 2 ili 3 sata sna</p> |

| | |
|--|--|
| <p>5. Smanjeni apetit</p> <p>Predstavlja osjećaj gubitka apetita u odnosu na apetit kad je dobro.</p> <p>Ocijeniti prema gubitku želje za hranom ili potrebe za prisiljavanjem na jelo.</p> <p>0 normalni ili povećani apetit</p> <p>1</p> <p>2 blago smanjeni apetit</p> <p>3</p> <p>4 nedostatak apetita, hrana je bezukusna</p> <p>5</p> <p>6 potrebno je nagovaranje na jelo</p> | <p>6. Poteškoće s koncentracijom</p> <p>Predstavlja poteškoće u prikupljanju misli do nesposobnosti koncentracije.</p> <p>Ocijeniti prema intenzitetu, učestalosti i razini nesposobnosti.</p> <p>0 nema poteškoća u koncentraciji</p> <p>1</p> <p>2 povremene poteškoće u prikupljanju misli</p> <p>3</p> <p>4 poteškoće u koncentraciji i održavanju misli koji smanjuju sposobnost čitanja ili razgovora</p> <p>5</p> <p>6 nemogućnost čitanja ili razgovora bez velike inicijative</p> |
| <p>7. Umor</p> <p>Predstavlja poteškoće u pokretanju ili usporenost kretanja i obavljanja svakodnevnih aktivnosti.</p> <p>0 nema poteškoća u pokretanju, nema sporosti</p> <p>1</p> <p>2 poteškoće u počinjanju aktivnosti</p> <p>3</p> <p>4 poteškoće prilikom počinjanja jednostavnih rutinskih aktivnosti koje se izvode s naporom</p> <p>5</p> <p>6 potpuni umor; nije moguće učiniti išta bez pomoći</p> | <p>8. Nemogućnost osjećanja</p> <p>Predstavlja subjektivno iskustvo smanjenog interesa za okruženje ili aktivnosti koje su prije pružale zadovoljstvo. Sposobnost reagiranja s prikladnom emocijom na okolnosti ili ljude je smanjena.</p> <p>0 normalni interes za okolinu i druge ljude</p> <p>1</p> <p>2 smanjena sposobnost uživanja u uobičajenim interesima</p> <p>3</p> <p>4 gubitak interesa za okolinu, gubitak osjećaja za prijatelje i poznanike</p> <p>5</p> <p>6 doživljaj emocionalne paralize, nemogućnost osjećanja ljutnje, tuge ili zadovoljstva i potpuna ili čak bolna nemogućnost ispoljavanja osjećaja za blisku rodbinu i prijatelje</p> |
| <p>9. Pesimistične misli</p> | <p>10. Suicidalne misli</p> <p>Predstavlja osjećaj da život nije vrijedno živjeti, priželjkivanje smrti,</p> |

| | |
|--|--|
| <p>Predstavlja misli krivnje. Inferiornost, samokontrolu, grešnost, kajanje i propast.</p> <p>0 bez pesimističnih misli 1 2 fluktuirajuće misli o neuspjehu, samokontroli ili samoanalizi 3 4 perzistirajuće samooptužbe ili određene, ali još uvijek racionalne ideje krivnje ili grijeha; sve veći pesimistični pogled prema budućnosti 5 6 deluzije o propasti, kajanje ili neoprostivi grijeh; samooptužbe koje su apsurdne i nepokolebljive</p> | <p>samoubilačke misli i priprema za samoubojstvo. Pokušaji samoubojstva sami po sebi ne bi trebali utjecati na ocjenu.</p> <p>0 uživa u životu ili ga prihvaća takvim kakav je 1 2 iscrpljen životom; samo prolazne samoubilačke misli 3 4 vjerojanto je bolje biti mrtav; misli o samoubojstvu su česte i samoubojstvo se smatra mogućim rješenjem, ali bez određenih planova ili namjera 5 6 eksplicitni planovi samoubojstva kada za to postoji prilika, aktivne pripreme za suicid</p> |
|--|--|

Ukupni broj bodova:

ŽIVOTOPIS

OBRAZOVANJE

| | |
|--------------|---|
| 2017 - danas | Diplomski studij eksperimentalne biologije (modul Fiziologija i imunobiologija) Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu |
| 2014 - 2017 | Preddiplomski studij biologije, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu |
| 2010 - 2014 | Klasična gimnazija, Zagreb |

STRUČNA PRAKSA I TEČAJ

| | |
|------|--|
| 2019 | Zavod za animalnu fiziologiju |
| 2019 | Tečaj za osposobljavanje osoba koje rade s pokusnim životinjama A kategorija |

OSOBNJE VJEŠTINE I KOMPETENCIJE

| | |
|-----------------|--|
| Jezici | Hrvatski (materinski jezik) Engleski (strani jezik) |
| Rad na računalu | Korištenje alata Microsoft Office-a |

DODATNE INFORMACIJE

PRIZNANJA I NAGRADE

| | |
|------|---|
| 2019 | Pohvalnica za izuzetan uspjeh u studiju (prigodom Dana fakulteta) |
| 2018 | Sveučilišna prvostupnica biologije Magna cum laude |

SUDJELOVANJA

| | |
|-------------|---|
| 2018, 2019 | 4. i 5. Simpozij studenata bioloških usmjerenja |
| 2014 - 2019 | Noć biologije (Dan i noć na PMF-u) |