

# BIOLOŠKI MARKERI U SHIZOFRENIJI

---

**Radman, Ena**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:865387>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-26**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U RIJECI**  
**MEDICINSKI FAKULTET**  
**INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**  
**SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE**

**Ena Radman**

**BIOLOŠKI MARKERI U SHIZOFRENIJI**

**Diplomski rad**

**Rijeka, 2019.**

SVEUČILIŠTE U RIJECI  
MEDICINSKI FAKULTET  
INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI  
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Ena Radman

BIOLOŠKI MARKERI U SHIZOFRENIJI

Diplomski rad

Rijeka, 2019.

**Mentor rada: prof. dr. sc. Gordana Rubeša, dr. med**

Diplomski rad ocjenjen je dana \_\_\_28.6.2019.\_\_\_\_\_ u/na \_Medicinskom fakultetu u

Rijeci\_\_\_, pred povjerenstvom u sastavu:

1. doc.dr.sc. Marina Letica Crepulja\_\_\_\_\_

2. doc. dr.sc. Marija Vučić Peitl\_\_\_\_\_

3. prof.dr.sc. Ivana Marić\_\_\_\_\_

Rad sadrži 30 stranica, 0 slika, 0 tablica, 77 literaturnih  
navoda

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. SVRHA RADA.....	2
3. BIOMARKERI.....	3
4. BIOMARKERI SHIZOFRENIJE UZ POMOĆ SLIKOVNE DIJAGNOSTIKE MOZGA .....	4
5. BIOLOŠKI MARKERI SHIZOFRENIJE U CEREBROSPINALNOM LIKVORU .....	6
6. BIOLOŠKI MARKERI SHIZOFRENIJE U KRVI I PLAZMI.....	8
6.1. MIKRORNA KAO BIOMARKER U SHIZOFRENIJI .....	9
7. NIACINSKI TEST KAO BIOMARKER SHIZOFRENIJE .....	11
8. RASPRAVA .....	13
9. ZAKLJUČAK.....	17
10. SAŽETAK.....	18
11. SUMMARY.....	19
12. LITERATURA .....	20
13. ŽIVOTOPIS .....	30

## Popis skraćenica i akronima

ARA- arahidonska kiselina

BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*)- moždani neutrotropni faktor

CSL- cerebrospinalni likvor

DNMT1- DNA metiltransferaza 1

DSM-V (*Diagnostic and Statistic al Manula of Mental Disorder*) –Dijagnostički i statistički priručnik duševnih oboljenja

FDA- (*Food and drugs administration*)- Agencija za hranu i lijekove (SAD)

FMR- funkcionalna magnetska rezonanca

GCR- (*glucocorticoid receptor*) - glukokortikoidni receptor

GWA studija (*wide association study*) - izučavanje genomskih asocijacija

ROI (*region of interest*) –regija od interesa

MHC (*major histocompatibility complex*)- kompleks gena tkivne podudarnosti

miRNA- mikro-ribonukleinska kiselina

PBMC (*peripheral blood mononuclear cell*)–mononuklearna stanica periferne krvi

HCA2- hidroksil-karboksilni kiselinski receptor 2

## ***Zahvala i posveta***

*Veliko hvala mojoj mentorici, prof. dr. sc. Gordani Rubeši, na strpljivosti, savjetima i pomoći.*

*Zahvaljujem se svim prijateljima i dragim ljudima koji su bili uz mene tijekom studiranja.*

*Hvala Ivanu, koji je bio tu i kad nije mogao.*

*Ovaj rad posvećujem mami, tati i bratu, koji su mi svojom ljubavlju i odricanjima omogućili uspješno studiranje.*

## 1. Uvod

Sa cijeloživotnom prevalencijom od 0,3-0,7% (1), shizofrenija je jedna od najtežih mentalnih bolesti mladih odraslih ljudi. To je nemendelski nasljedni, neurorazvojni poremećaj, u kojemu epigenetička disregulacija genoma mozga ima temeljnu ulogu u posredovanju kliničkih manifestacija i tijeka same bolesti. (2).

Shizofrenija je karakterizirana raznolikom psihopatologijom; glavna obilježja su pozitivni simptomi (deluzije i halucinacije, odnosno psihotični simptomi gubitka kontakta s realitetom, te dezorganizirani govor i ponašanje), negativni simptomi (zaravnjen afekt, nedostatak motivacije, reduciran spontani govor, socijalno povlačenje), te kognitivno pogoršanje (opisano je da pacijenti imaju slabije rezultate nego kontrolna skupina u širokom spektru kognitivnih funkcija, iako se javlja mnogo individualnih varijacija) (3). Rano prepoznavanje i rana intervencija daju nadu znanstvenicima i liječnicama za dostignuće prevencije i odgodu nastupa psihoze, reducirajući težinu bolesti ili makar ublažavajući osobne i socijalne posljedice koje proizlaze iz ovog poremećaja (4).

Shizofrenija je ekstenzivno proučavana i opisan je veliki broj bioloških abnormalnosti povezanih sa poremećajem. Mnoge od tih abnormalnosti su predložene kao biomarkeri, od kojih neke mogu predstavljati endofenotipove korisne za razumijevanje etiologije ili patofiziologije shizofrenije. Iako nijedan od ovih biomarkera se ne koristi aktualno u kliničkoj praksi, to nije isključeno u budućnosti. Također, mogu pomoći u identifikaciji podgrupa shizofrenije ili predstavljati dimenzije bolesti koje mogu biti predmet budućih istraživanja, kao i korisni alati u procjeni učinka terapije.



## **2. Svrha rada**

S obzirom na nerazjašnjenost etiologije shizofrenije i težinu same bolesti, istraživači godinama pokušavaju pronaći kvalitetne biološke markere kojima bi se olakšala dijagnostika, praćenje i liječenje oboljelih. Zasada su liječnici ograničani na psihijatrijski intervju i pažljivo proučavanje ponašanja bolesnika. Postoje brojni potencijalni biomarkeri za koje se još tek treba utvrditi primjenjivost u kliničkoj praksi.

### 3. Biomarkeri

Biomarker je “karakteristika koja se može objektivno izmjeriti i evaluirati kao indikator normalnog biološkog procesa, patogenog procesa ili farmakološkog odgovora na intervenciju” (5).

Potentni biološki markeri koji bi olakšali rano prepoznavanje bolesti ključ su personaliziranoj terapiji i temelj su novom i boljem terapijskom pristupu psihijatrijskim poremećajima. Otkrivanje biomarkera koji se mogu koristiti kao dijagnostički alati ili prediktori odgovora na terapiju bio bi važan je korak u pravom smjeru (6).

Biološki markeri se mogu podijeliti u 3 kategorije

1. Dijagnostički ( za određivanje postojanja bolesti kod pacijenta)
2. Prognostički (za predviđanje tko će oboljeti)
3. Teranostički (za predviđanje individualnog odgovora na određenu terapiju)(7).

FDA u svojim smjernicama iz 2014.g (The Drug Development Tools guideline 2014) navodi 2 odvojena procesa potrebna za razvijanje novih bioloških markera u razvijanju lijekova. Prva intervencija je analitička validacija, u kojoj se karakteristike i performanse (uključujući preciznost, točnost, ponovljivost, linearnost, specifičnost i osjetljivost) kvantitativno opisuju. Druga intervencija definira kako bi se biomarker trebao koristiti u kontekstu kliničkog prosuđivanja ili razvijanja lijekova, te definira namjenu biomarkera, njegova ograničenja, uvjete njegove kvalificirane upotrebe, te njegovu interpretaciju (8).

#### 4. Biomarkeri shizofrenije uz pomoć slikovne dijagnostike mozga

Posljednjih godina je u fokusu istraživanja gustoća bijele tvari mozga kod pacijenata oboljelih od shizofrenije, odnosno istražuje se teorija nepovezanosti (eng. *Disconnection hypothesis*) (9) koja je prisutna više od 20 godina, ali s razvojem moderne tehnologije dobiva novi značaj. Morfološke studije mozga potkrepljuju neurodegenerativnu teoriju razvoja shizofrenije. Jedan od najznačajnijih nalaza je redukcija temporalnog režnja koja se nalazi u čak 74% studija koje su se služile funkcionalnom magnetskom rezonancom (fMR). Osim temporalnog režnja, brojne studije promatrale su volumen frontalnog režnja pri čemu je opaženo da je u 59% slučajeva volumen čeonog režnja smanjen u pacijenata sa shizofrenijom u odnosu na kontrolu. Ostale studije upućuju na smanjeni volumen hipokampusa u pacijenata sa shizofrenijom u odnosu na zdrave pojedince iste dobi. Longitudinalne studije pokazale su da se volumen talamusa smanjuje 7% godišnje u adolescenata sa shizofrenijom što govori u prilog progresivnog procesa. Gubitak sive tvari mozga zajedno s povećanim volumenom ventrikula spada u najkonzistentnije nalaze kod pacijenata sa shizofrenijom (10). Istraživanja su pokazala da je kod pacijenata sa shizofrenijom ukupna gustoća bijele tvari niža nego u zdravih pojedinaca, posebno u prefrontalnom i temporalnom režnju, kao i u snopovima koji ih povezuju (*corpus callosum, fasciculus uncinatus, capsula interna*). Pokazano je da je poremećeno više neuronskih krugova, kao i povezanost među funkcionalnim regijama mozga (11). Nedostatan uvid u bolest kod pacijenata sa shizofrenijom objašnjen je smanjenim integritetom stražnjeg trakta *corpura callosuma* (12).

Već je spomenuto da su morfometrijske analize jedan od glavnih dokaza neurodegenerativne teorije shizofrenije. Morfometrija mozga bavi se mjerenjem

određenih moždanih struktura putem slika obično dobivenih metodom magnetske rezonance (MR). Morfometrijska analiza može se provesti označavanjem regija od interesa (ROI) te usporedbom sa standardom ili putem voxela (13). Voxel morfometrija mozga noviji je pristup slikovnoj evaluaciji moždanih struktura čija je prednost u mogućnosti analize veoma malih područja mozga kao i u eliminaciji anatomskih varijacija moždanog tkiva među pojedincima kroz standardizaciju s predloškom. Proces je kompjuteriziran te je moguća analiza koncentracije moždanog tkiva u gotovo svakoj točki mozga za razliku od ROI metode koju vodi ekspert iz područja radiologije te se regija od interesa za analizu označava ručno, a analizirano područje mnogo je veće. Uz to, nema eliminacija postojećih anatomskih varijacija među ljudima. Zbog toga je ROI metoda manje precizna i dugotrajnija (14). Dodatna vrijednost voxel analize u psihijatriji je u mogućnosti diferencijacije promjena mozga pri različitim psihijatrijskim poremećajima (npr. shizofrenija vs. bipolarni poremećaj) (15). Na Pennsylvanijskom sveučilištu provedena je morfometrijska analiza koja je usporedila promjene mozga u shizofrenih bolesnika sa zdravom populacijom. U istraživanju je sudjelovalo 148 osoba od kojih je 69 bilo oboljelih od shizofrenije, a 79 zdravih kontrola. Napravljene su ROI i Voxel analiza koje su dale komplementarne rezultete. Dokazano je difuzna redukcija volumena sive tvari s povećanim volumenom cerebrospinalnog likvora u populaciji oboljelih od shizofrenije dok razlika volumena bijele tvari među pacijentima i kontrolim nije bila statistički značajna. Također je dokazano smanjenje frontalnog, entorinalnog, temporolimbickog i talamičkog volumena u oboljelih, dok je u iste populacije volumen bazalnih ganglija bio povećan u odnosu na kontrolu. Zapažene su i razlike u volumenu mozga po spolu. U žena sa shizofrenijom dokazan je povećan volumen amigdala i smanjeni orbitofrontalni volumen u odnosu na zdravu populaciju, dok su muškarci sa shizofrenijom imali smanjen volumen amigdala i normalan orbitofrontalni volumen u

odnosu na zdrave muškarce (13). Novije *vaxel based* studije (Voxel based morphology – VBM) bave se i poremećajim integriteta bijele tvari u shizofreniji, ali su rezultati inkonzistentni i nereproducibilni, a upućuju na difuzno smanjenje integriteta bijele tvari u mozgu osobe sa shizofrenijom (14).

Danas se sve više upotrebljava multimodalni pristup u istraživanju anatomskih i fizioloških promjena u mozgu bolesnika sa shizofrenijom. U jednom takvom istraživanju uspoređuju se rezultati pacijenata i kontrolne skupine, a podaci su prikupljeni funkcionalnom MR, difuzijskom MR, magnetoencefalografijom te MR spektroskopskim *imagingom*. Ovakav integrativni pristup nudi puno preciznije podatke o povezanosti anatomskih abnormalnosti i kognitivnih ispada (16).

## **5. Biološki markeri shizofrenije u cerebrospinalnom likvoru**

Iako se ne istražuje često kod shizofrenije, cerebrospinalni likvor (CSL) je bio izvor brojnih informacija i biomarkera u nekim drugim bolestima, kao što su Alzheimerova demencija i neki neuropsihijatrijski poremećaji (17). S obzirom da CSL prolazi kroz međustanične pukotine i popunjava “prazan” prostor, sadrži stanične izlučevine i fragmente staničnih membrane (18).

CSL se stvara brzinom od 0,35 ml/min ili oko 500 ml dnevno putem korioidnih pleksusa u cerebralnim ventrikulima. Također, neke krvne komponente se mogu naći u niskim koncentracijama kao rezultat pasivne difuzije, olakšanog transporta i aktivnog transporta. Funkcionirajući kao bubreg, korioidni pleksus održava homeostazu moždane ekstracelularne tekućine donoseći mikronutrijente, vitamine, peptide,

nukleozide i faktore rasta moždanim stanicama (18). Starenje i bolest, uključujući oksidativni stres, mogu kompromitirati ovu funkciju (18).

Animalni modeli pokazuju da CSL omogućava točku ulaza i prometa cirkulirajućim perifernim imunološkim stanicama u odgovoru na upalu (19). CSL biomarkeri zato mogu biti korisni u identifikaciji imunoloških stanica, upalnih citokina i patogena, kao i promjena u korioidnom pleksusu i difuziji iz krvi, pogotovo ako je krvno-moždana barijera kompromitirana. Jedan od mogućih pristupa u identifikaciji genetičkih i molekularnih markera neuroupale u shizofreniji jest procjena biomarkera izlučenih u neuron-mikroglija interakciji. Shizofrenija je nasljedna, ekstremno poligeneska bolest, oblikovana genetskim varijacijama na barem 100 lokusa, a čini se da najveći genetski utjecaj dolazi iz gena uključenih u imunost i infekcije koji se nalaze u sklopu MHC lokusa na 6. kromosomu, točnije, gen za C4 komponentu komplementa, koja je uključna u obrezivanje sinapsi (od eng. pruning of synapses). Studija pokazuje da ovaj gen ima mnoge strukturarno različite alelne forme koje rezultiraju različitim razinama ekspresije C4A i C4B komponenti komplementa, a shizofrenija je povezana s određenim varijantama koje rezultiraju povišenim vrijednostima C4A. Pokazalo se da mikroglija guta sinapse koje na sebi imaju C4A komponentu. S obzirom da je poznato da ključne kortikalne regije prolaze sazrijevanje i obrezivanje tijekom adolescencije i rane odrasle dobi, kad se ujedno i shizofrenija tipično prezentira, moguće je da se bolest javi ili pogorša kada senavedeni procesi uključe u patofiziologiju bolesti (20).

Transtiretin, transportni protein za tireoidni hormon (T4), u CSL je snižen prilikom nastupa prve psihotične epizode, a pokazalo se da je snižen i do 40% kod pacijenata sa shizofrenijom (uzorak uzet post-mortem iz prefrontalnog korteksa) (21).

## 6. Biološki markeri shizofrenije u krvi i plazmi

Studije na blizancima pokazuju podudarnost od 40-70% za ovu bolest, što pokazuje da uz genetske, postoje i brojni epigenetički faktori vezani za pojavnost patofiziologije shizofrenije (22). Neke od tih epigenetičkih abnormalnosti su poremećaj DNA metilacije te remodeliranje kromatina, no uglavnom su uzorci uzeti postmortem (23). S obzirom na tijek bolesti, gdje pacijent prolazi prodromalnu fazu, u mlađoj odrasloj dobi se javlja prva psihoza te u kasnijem životu kognitivno propadanje, očito je da se za istraživanje ovako kompleksne bolesti moraju koristiti lako dostupni in vivo uzorci. Kako bi se savladale ove poteškoće u istraživanju, fokus se prebacio na stanice periferne krvi te epigenetske mutacije u istima koje koreliraju sa promjenama u mozgu (24,25).

Postoje brojne studije koje ukazuju na ključnu ulogu alterirane DNA metilacije u ekspresiji nekoliko gena kandidata u shizofreniji, posebice promotora BDNF i glukokortikoidnih receptora (GCR), koji se povezuju sa patogenezom shizofrenije i drugih psihijatrijskih poremećaja povezanih sa stresom (23). Razine BDNF, neurotrofnog faktora bitnog za rast, razvoj, preživljavanje i plasticitet neurona, snižene su i u mozgu i u krvnim stanicama pacijenata, te su povezane s hipermetilacijom specifičnog promotora (26). Slično tome, snižena ekspresija glukokortikoidnih receptora povezana je s povećanom ekspresijom DNA metiltransferaze 1 (DNMT1), koja dokazano ima ulogu u GABA-ergičnoj neuropatologiji u korteksu i hipokampusu oboljelih od shizofrenije (27). Na DNA promjene također mogu utjecati i antipsihotici. Postoji studija koja pokazuje da haloperidol može reducirati globalnu DNA hipometilaciju detektiranu u leukocitima pacijenata sa shizofrenijom (25).

Profiliranje genske ekspresije pomoću microarray tehnologije (DNA čip) ukazuje da

periferne krvne stanice mogu zamijeniti postmortem uzorke moždanog tkiva u studijama o shizofreniji. Razvoj dostupnijih perifernih biomarkera bi u značajnoj mjeri olakšao dijagnosticiranje ove bolesti. Uz današnje napretke u kompjuterskim znanostima u polju umjetne inteligencije, moguće je analizirati gensku ekspresiju u perifernoj krvi, te identificirati uzorke koji su podudarni sa probama pacijenata sa shizofrenijom (28).

### **6.1. mikroRNA kao biomarker u shizofreniji**

MikroRNA (miRNA) je klasa malih, endogenih, nekodirajućih jednolančanih RNA, dužine 22-25 nukleotida, koje sudjeluju u posttranskripcijskoj regulaciji genske ekspresije. Procjenjuje se da miRNA regulira translaciju do 60% protein-kodirajućih gena (29). S obzirom na različite načine ciljnog vezanja, jedna molekula miRNA može utjecati na do 200 gena (30). Utvrđeno je da je miRNA naširoko prisutna kod različitih eukariotskih organizama, te je uključena u gotovo sve životne procese, uključujući razvoj, diferencijaciju, regulaciju rasta i apoptozu (31).

Potvrđeno je da je 70% ljudske miRNA eksprimirano u živčanom sustavu, te da je na različite načine uključena u regulaciju neuralnih struktura i funkcija (32). Na primjer, igra ulogu u formaciji dendrita i dendritičkih nastavaka, u rastu aksona, kao i u neuralnom razvoju i procesu sazrijevanja (33).

U biološkim putevima miRNA, varijabilnost ciljnih gena može igrati ulogu u pojavnosti shizofrenije. Beveridge i sur. (34) razmatraju da miRNA utječe na pojavnost shizofrenije preko razvoja središnjeg živčanog sustava, regulacije genske ekspresije i drugih mehanizama. S obzirom da je miRNA ekstenzivno regulirana transkripcijom i osjetljiva na promjene u biološkim putevima, miRNA abnormalnosti ili mutacije u stanicima mogu dovesti do neuroloških poremećaja, uključujući patofiziološke promjene u shizofreniji.



(34). Guo i sur. (2010) su potvrdili da je miR-195 uključena u kompleksnu regulacijsku mrežu preko koje utječe na signalne puteve pojavnosti shizofrenije (35). Gen koji kodira miR-346 se nalazi na intronu gena za ionotropne glutamatne receptore  $\delta 1$  (*GRID1*), a *GRID1* je gen osjetljivosti za shizofreniju (36). MiR-30a-5p i miR-195 možda reguliraju gensku ekspresiju BDNF faktora, pa je predloženo da je miR-195 uključena u patogenezu shizofrenije regulirajući BDNF (37). GWAS studije su povrdile da je rs1625579 lociran unutar miR-137 gena (1p21.3) značajno povezan sa shizofrenijom. ( $P = 1.6 \times 10^{-11}$ ) (38). Regulacijski ciljni geni miR-137 su CUB i Sushi multiple domene 1 gen (*CSMD1*), gen nalik WW domeni binding proteina 1 (*C10orf26*), gen za alfa1C podjedinicu kalcijuskog voltažnog kanala (*CACNA1C*), gen za transkripcijski faktor 4 (*TCF4*) i cink prstoliki protein 804A (*ZNF804A*), ovi geni su potvrđeni kao genetički rizik za shizofreniju (39-42). Pomoću bioinformatike i metoda funkcionalnih testova, Valles i sur. (2014) su ponovno potvrdili da 5 ciljnih gena koje miR-137 regulira, uključujući *CACNA1C*, *TCF4* and *ZNF804A*, pripadaju glukokortikoidni receptor-ovisnoj signalnoj transdukcijskoj mreži (43). Posebice se izdvaja *CACNA1C* gen koji je opetovano potvrđen kao gen osjetljivosti za shizofreniju u različitim populacijama (38,39,44,45).

Mnoge miRNA su specifično izražene u stanicama ili tkivima, a razine njihove ekspresije odražavaju patološke ili fiziološke procese u odgovarajućim tkivima (34). Abnormalno izražene miRNA su nedavno izolirane iz moždanog tkiva (46-48), pune krvi (49, 50), seruma (51), plazme (52,53) i mononuklearnih stanica periferne krvi (PBMC)(54), te su prepoznate kao potencijalni biomarkeri u dijagnostici shizofrenije. Poteškoće u provođenju biopsije mozga otežavaju prikupljanje abnormalne miRNA u svrhu predviđanja i dijagnostike neurodegenerativnih poremećaja (55). S obzirom da se ekspresijski profili miRNA koje su prisutne u perifernoj krvi mijenjaju s obzirom na fiziološke i patološke procese u tijelu (56), imaju važnu ulogu u kliničkoj primjeni.

Posebice se primjenjuju nove molekularne metode detekcije s visokom osjetljivošću i specifičnošću u potrazi za serumskim markerima ili genetičkim markerima u perifernoj krvi (49-54, 57-59).

## **7. Niacinski test kao biomarker shizofrenije**

1980. Horrobin (60) je objavio rad koji je pokazao da pacijentima sa shizofrenijom treba puno veća doza niacina kako bi se ostvario efekt crvenila kože pri niacinskom testu nego kod zdrave populacije. S obzirom da postoji velika potreba za jednostavnim biomarkerima shizofrenije, ovo je istraživanje otvorilo nove mogućnosti.

Crvenilo kože izazvano niacinom je posredovano G- protein združenim receptorom koji se zove hidrosil-karboksilni kiselinski receptor 2 (HCA2), a široko je rasprostranjen na keratinocitima i epidermalnim imunološkim stanicama, kao što su Langerhansove stanice. Kada se niacin veže za HCA2 receptor, aktivira se fosfolipaza A2 koja hidrolizira membranske fosfolipide, što vodi do oslobađanja arahidonske kiseline (ARA). Slobodna arahidonska kiselina se potom transformira u prostaglandin D2 i prostaglandin E2 pomoću enzima ciklooksigenaze te se posljedično opušta glatka muskulatura u žilama, inducirajući vazodilataciju i crvenilo kože (61).

Originalno istraživanje je višestruko uspješno replicirano, ali zbog varijacija u načinu primjene, dozi niacina i zbunjujućim faktorima, rezultati se kreću od 24-90% atenuiranih odgovora kod pacijenata sa shizofrenijom (62). Neka istraživanja su uključivala peroralnu primjenu niacina (22, 63), a Ward 1998 uvodi topičku primjenu vodene otopine metil nikotinata (64). Uz to, u tih pacijenata bila je snižena

koncentracija ARA u eritrocitima (62,65). Poremećen odgovor na niacin mogao bi značiti da je došlo do poremećaja u navedenoj kaskadi događaja tj. u metabolizmu membranskih fosfolipida koji rezultira manjkom ARA i posljedičnim manjkom sinteze prostaglandina. No, to ne mora biti nužno tako, postoji mogućnost da je poremećaj zapravo na razini prostaglandinskih ili niacinskih receptora (66). Sun i sur. 2017. su objavili istraživanje gdje su usporedili odgovore na niacin pacijenata sa shizofrenijom u jednoj skupini, pacijente sa manijom, depresivnim ili bipolarnim poremećajem u drugoj skupini, te zdravih pojedinaca u trećoj skupini. Pronašli su da je odgođena i atenuirana reakcija visoko specifična za shizofreniju, dok su kod drugih poremećaja reakcije odgođene, ali ne i atenuirane, što je posebno značajno za bipolarni poremećaj koji je često krivo dijagnosticiran kao shizofrenija. Oko trećine pacijenata sa shizofrenijom (30,67%) imalo je oslabljenu reakciju na niacin, sa specifičnošću testa preko 80%, što ponovno potvrđuje da postoji podgrupa pacijenata sa shizofrenijom sa specifičnim abnormalnostima metabolizma membranskih fosfolipida (61).

## 8. Rasprava

Iako mnogi tvrde da ne postoji validni dijagnostički biomarker za shizofreniju, 2010. godine je kompanija PsyNova, pod vodstvom prof. Sabine Bahn, u suradnji sa Rules-Based Medicine, proizvela krvni test za biomarkere shizofrenije (67,68), koji je mjerio 51 anolit (mali proteini i molekule), te je imao 83% osjetljivosti i specifičnosti. Test nije zaživio u kliničkoj primjeni iz nekoliko razloga: 1) bio je preskup (2,500 US\$), 2) psihijatri su bili skeptični te je većina smatrala da su dovoljno dobri u dijagnosticiranju shizofrenije na temelju kliničkog intervjua (69). Također je argumentirano da osjetljivost i specifičnost nisu potvrđene nezavisnim istraživanjima(70).

Jedan od faktora koje je također bitno naglasiti je i velika biološka heterogenost pacijenata sa shizofrenijom na staničnoj i molekularnoj razini (uz kognitivnu i kliničku) sa mnogim pojedincima koji su u rangu normalnih vrijednosti (71-73). Također, čini se da je molekularna neuropatologija shizofrenije slična onoj kod bipolarnog poremećaja i depresije (74-76). Ako postoje definirane podgrupe ljudi s određenim neuropatološkim profilima čak i unutar DSM-V određenih dijagnoza (71), iz toga proizlazi da je malo vjerovatno da će postojati jedan krvni biomarkerski test koji će obuhvatiti čitavu kompleksnost bolesti, uz odgovarajuću osjetljivost i specifičnost od najmanje 80%.

U istraživanju shizofrenije, često se koristi slikovna dijagnostika mozga u svrhu morfoloških studija, kojima se pronalaze specifičnosti vezane za bolest, kao što su redukcija temporalnog režnja koja se nalazi u čak 74% studija koje su se služile funkcionalnom magnetskom rezonancom (fMRI), a čeonog režnja u 59% slučajeva(10). Iako su ovo značajni rezultati, nisu dovoljno specifični za shizofreniju, te se ne može tvrditi za svakoga tko ima ovakvu morfologiju, da boluje od shizofrenije.

U studiji koja je provela morfometrijsku analizu na 148 osoba (69 oboljelih od shizofrenije, 79 kontrola), koristile su se i ROI i voxel metoda koje su dale

komplementarne rezultate, gdje je dokazana difuzna redukcija volumena sive tvari s povećanim volumenom cerebrospinalnog likvora u populaciji oboljelih od shizofrenije, dok razlika volumena bijele tvari među pacijentima i kontrolim nije bila statistički značajna. Ventrikularni volumen likvora kod žena je gotovo dvostruko viši nego kod muškaraca (oboljeli od shizofrenije)(13). Rezultati dobiveni u ovoj studiji vezani uz volumen bijele tvari kose se sa drugim studijama, potencijalno zbog toga što meta-analize nužno uključuju studije sa različitim protokolima, ali potencijalno i zbog *screeninga* oboljelih i kontrole u ovoj studiji, pa postoje diskrepancije u nalazima s drugim studijama. Postoji studija koja opovrgava povećanje ventrikulskog likvora kod žena (77), pa je na tom području potrebna novo, nezavisno istraživanje. Limitacija ovakve studije je mali broj ispitanika, pa zbog toga, iako uspješno dokazana razlika između ispitanika i kontrole, nedovoljno su snažni rezultati u razlikama između npr. spolova unutar grupe oboljelih.

Iako se u cerebrospinalnom likvoru osobe oboljele od shizofrenije mogu pronaći brojni citokini (IL-6, interferon  $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) koji idu u prilog upalnoj teoriji, studije koje se time bave su uglavnom male, a zbunjujući faktori često nedovoljno izolirani ili uzeti u obzir. Također, CSL nije najprikladniji za kliničku primjenu zbog invazivne metode te nesuradljivosti pacijenata. Trenutno je na ovom području zanimljiva studija koja proučava povišene razine C4A komponente komplementa, čiji je gen jedan od gena uključenih u imunost i infekcije koji se nalaze u sklopu MHC lokusa na 6. kromosomu, a ide u prilog teoriji o pretjeranoj stimulaciji mikroglije i eliminaciji sinapsi (20).

Općenito, veliki je izazov raditi istraživanje u likvoru pacijenata, pogotovo onih s prvom psihotičnom epizodom, jer pacijent mora dati informirani pristanak, a samo je u Njemačkoj i nekim skandinavskim zemljama uzimanje likvora rutinska pretraga kod prve psihoze. Kao primjer takvih limitacija se navodi studija Huanga i sur. iz 2006. koji

iz navedenih razloga nisu mogli usporediti rezultate oboljelih od shizofrenije s drugim poremećajima, kao što je bipolarni poremećaj, što bi svakako omogućilo validaciju specifičnosti njihovih rezultata (21). Također, brojne studije cerebrospinalnog likvora uključuju post-mortem dobivene uzorke, što je korisno za inicijalna istraživanja teorija o potencijalnim biomarkerima, ali za velike studije i kliničku primjenu to nikako nije prikladno.

Shizofrenija je bolest koja pacijenta uglavnom prati od mlađe odrasle dobi pa do smrti, a tijekom godina bolest prolazi svoje faze, te su relapsi česti. Upravo zbog toga je potrebno da novi biomarkeri budu analizirani u lako dostupnim materijalima, kao što je periferna krv, što je posebice pogodno za longitudinalna istraživanja. U stanicama periferne krvi su pronađene epigenetske mutacije koje koreliraju s promjenama u mozgu. Te mutacije se uglavnom odnose na alteriranu metilaciju specifičnih promotora, npr. promotora BDNF i glukokortikoidnih receptora (23-27). Također je utvrđeno da i neki lijekovi utječu na epigenetiku, pa tako haloperidol reducira globalnu hipometilaciju u perifernim leukocitima (25). Saznanja o alteriranoj metilaciji i posljedicama iste, zasigurno će inspirirati buduća istraživanja u čijem fokusu bi trebala biti terapija lijekovima koji reguliraju efekte metilacije, npr. u kontekstu kortikalnog i hipokampalnog GABAergičkog deficita.

Posljednjih godina, kao potencijalni periferni biomarker pojavljuje se miRNA, koja se uklapa u teoriju o epigenetičkoj (dis)regulaciji, a utvrđeno je da ekspresija miRNA s periferije korelira sa procesima u mozgu. Lai i sur. su u nastavku na svoja prethodna istraživanja na ovom području utvrdili da ekspresija miRNA na periferiji nije pod utjecajem hospitalizacije, što ide u prilog budućoj upotrebi miRNA kao stabilnog biomarkera (57). Pronađena je i povezanost između ekspresije nekih tipova miRNA i starenja. Iako su ovi nalazi obećavajući, a u istraživanje su uključeni oboljeli od

shizofrenije tijekom i nakon relapsa, zdrava kontrola te post-mortem uzorci, potrebno je veće istraživanje u kojem će biti više ispitanika u svim kategorijama, te se u budućim istraživanjima u obzir treba uzeti i utjecaj antipsihotika kao potencijalnog zbunjujućeg faktora. Također treba istražiti i utjecaj etniciteta i spola, što u ovoj studiji nije razjašnjeno.

Horrobin je 1980. opisao utjecaj niacina na pacijente oboljele od shizofrenije (60), te je od tada niacinski test prošao nekoliko modifikacija, od oralne do topičke primjene, kao i promjene u primijenjenim koncentracijama. Sun i sur. su u svom istraživanju utvrdili podgrupu pacijenata sa shizofrenijom (30,67%) sa oslabljenom reakcijom na niacin koju je moguće raspoznati od drugih psihijatrijskih poremećaja i zdravih pojedinaca, sa specifičnošću testa preko 80% za žene i muškarce (61). Glavna prepreka širokoj upotrebi ovog testa je što, unatoč brojnim istraživanjima, doziranje niacina i validiranje rezultata nisu ujednačeni, te su potrebna istraživanja koja bi postavila strože kriterije i kontrolu varijabli (dob, spol, prehrambene navike, terapija, ovisnosti, genetika) (62).

## 9. Zaključak

Shizofrenija, kao jedan od najtežih psihijatrijskih poremećaja, u fokusu je brojnih istraživanja koja pokušavaju definirati sve faktore etiopatogeneze, kliničke manifestacije, prevencije i terapije. U taj proces je uključena psihijatrija, genetika, epigenetika, proteomika, radiologija, biokemija i brojne druge medicinske i znanstvene discipline. Iako još nijedan biološki marker za shizofreniju nije u kliničkoj upotrebi, pa se dijagnoza temelji isključivo na kliničkoj manifestaciji, smjernicama i iskustvu liječnika, znanstvena zajednica traga za novim dokazima o sigurnim i lako reproducibilnim markerima koji bi olakšali liječnicima prepoznavanje rizičnih skupina, postavljanje točne dijagnoze, ali i praćenje učinkovitosti terapije. Također je bitno za naglasiti da su brojne studije na ovom području napravljene sa *post mortem* uzorcima, što nikako nije dovoljno, te ne može korelirati sa živim pacijentima i njihovom dinamikom bolesti. Stoga je potrebno pronaći kvalitetne biomarkere koji se mogu dokazati u perifernoj krvi i slikovnom dijagnostikom, što bi omogućilo veću dostupnost, usklađenost i širu primjenu.



## 10. Sažetak

Sa cijeloživotnom prevalencijom od 0,3-0,7%, shizofrenija je jedna od najtežih mentalnih bolesti mladih odraslih ljudi. Shizofrenija je ekstenzivno proučavana, te je opisan veliki broj bioloških abnormalnosti povezanih sa poremećajem. Mnoge od tih abnormalnosti su predložene kao biomarkeri, od kojih neke mogu predstavljati endofenotipove korisne za razumijevanje etiologije ili patofiziologije shizofrenije. Biomarker je "karakteristika koja se može objektivno izmjeriti i evaluirati kao indikator normalnog biološkog procesa, patogenog procesa ili farmakološkog odgovora na intervenciju". U morfometrijskim analizama u traganju za biološkim markerima shizofrenije, koriste se ROI i voxel analize. Dokazana je difuzna redukcija volumena sive tvari s povećanim volumenom cerebrospinalnog likvora u populaciji oboljelih od shizofrenije, kao i smanjenje frontalnog, entorinalnog, temporolimbickog i talamičkog volumena. Cerebrospinalni likvor se ne koristi često u istraživanjima zbog nepraktičnosti, ali pruža uvid u povišene upalne parametre, poput citokina i komplementa. Biološki markeri shizofrenije u krvi su najistraživaniji, a među brojnim se izdvajaju epigenetička istraživanja alterirane metilacije specifičnih promotora, te ekspresija miRNA. Niacinski test koji ima oslabljenu reakciju u bolesnika oboljelih od shizofrenije se izdvaja kao brz, jeftin i lako dostupan, iako su potrebna dodatna istraživanja, kao i za druge potencijalne biomarkere.

Ključne riječi: shizofrenija; biomarkeri; morfometrijska analiza; cerebrospinalni likvor; metilacija; miRNA; niacinski test

## 11. Summary

With the lifelong prevalence of 0,3-0,7%, schizophrenia is one of the most difficult mental diseases of young adult people. Schizophrenia has been extensively studied, and there has been a large number of abnormalities connected to the disorder. Many of these abnormalities had been suggested as biomarkers, of which some can represent endophenotypes useful in understanding etiology or pathophysiology of schizophrenia. Biomarker is “a characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal biological processes, pathogenic processes, or pharmacologic responses to a therapeutic intervention”. In morphometric studies, in search for biomarkers of schizophrenia, ROI and Voxel analysis are used. There are proofs of diffuse reduction of grey matter volume, with increased CSF volume in schizophrenia population, as well as reduction in frontal, entorinal, temporolimbic and thalamic volume. CSF is not often used in research due to impracticality, but it provides insight in increased inflammation parameters, such as cytokins and complement. Blood biological biomarkers are the most researched ones, and among many, epigenetic research of altered methylation and miRNA expression are distinguished. Niacin test that has a weakened response in schizophrenic patients is listed as quick, cheap and easily available, although further research is needed, as it is for the other potential biomarkers also.

Key words: schizophrenia; biomarkers; morphometric analysis; cerebrospinal fluid; methylation; miRNA; niacin test

## 12. Literatura

1. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition, Edited by American Psychiatric Association, 2013
2. Heston, Leonard L.: The genetics of schizophrenic and schizoid disease. *Science*, Vol 17(3916), Jan 1970, 249-256. <http://psycnet.apa.org/psycinfo/1971-10373001>
3. Joyce EM, Roiser JP. Cognitive heterogeneity in schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*. 2007;20(3):268–272. doi:10.1097/YCO.0b013e3280ba4975
4. Häfner H, Maurer K. Early detection of schizophrenia: current evidence and future perspectives. *World Psychiatry*. 2006;5(3):130–138.
5. Atkinson et al., 2001; Biomarkers Definitions Working Group, 2001 Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework *Clin. Pharmacol. Ther.*, 69 (2001), pp. 89-95
6. Lai, C.-Y., Scarr, E., Udawela, M., Everall, I., Chen, W.J., Dean, B., 2016. Biomarkers in schizophrenia: a focus on blood based diagnostics and theranostics. *World J. psychiatry* 6, 102e117. <http://dx.doi.org/10.5498/wjp.v6.i1.102>.
7. Weickert, C.S., Weickert, T.W., Pillai, A., Buckley, P.F., 2013. Biomarkers in schizophrenia: a brief conceptual consideration. *Dis. Markers* 35, 3e9. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/510402>
8. Goff, Donald C; Romero, Klaus; Paul, Jeffrey; Mercedes Perez-Rodriguez, M; Crandall, David; Potkin, Steven G Biomarkers for drug development in early psychosis: Current issues and promising directions. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, ISSN: 1873-7862, Vol: 26, Issue: 6, Page: 923-37 2016

9. Friston K, Brown HR, Siemerkus J, Stephan KE. The dysconnection hypothesis (2016). *Schizophr Res.* 2016;176(2-3):83–94. doi:10.1016/j.schres.2016.07.014.
10. Pino, O et al, Neurodevelopment or neurodegeneration: Review of theories of schizophrenia, *Actas Esp Psiquiatr* 2014
11. Wheeler AL, Voineskos AN. A review of structural neuroimaging in schizophrenia: from connectivity to connectomics. *Front Hum Neurosci.* 2014;8:653. Published 2014 Aug 25. doi:10.3389/fnhum.2014.00653.
12. Gerretsen P, Rajji TK, Shah P, et al. Impaired illness awareness in schizophrenia and posterior corpus callosal white matter tract integrity. *NPJ Schizophr.* 2019;5(1):8. Published 2019 Apr 29. doi:10.1038/s41537-019-0076-x
13. Davatzikos C et al, Whole-Brain Morphometric Study of Schizophrenia Revealing a Spatially Complex Set of Focal Abnormalities, *Arch Gen Psychiatry*, 2005
14. Melonakos E et al. Voxel-based morphometry (VBM) studies in schizophrenia—can white matter changes be reliably detected with VBM?, *Psychiatry Res.* 2011
15. Brown G et al. Voxel-based morphometry of patients with schizophrenia or bipolar I disorder: A matched control study, *Psychiatry Res* 2011
16. Aine CJ, Bockholt HJ, Bustillo JR, et al. Multimodal Neuroimaging in Schizophrenia: Description and Dissemination. *Neuroinformatics.* 2017;15(4):343–364. doi:10.1007/s12021-017-9338-9
17. C.D. Aluise, R.A. Sowell, D.A. Butterfield Peptides and proteins in plasma and cerebrospinal fluid as biomarkers for the prediction, diagnosis, and monitoring of therapeutic efficacy of Alzheimer's disease *Biochim. Biophys. Acta*, 1782 (2008), pp. 549-558
18. Johanson CE, Duncan JA 3rd, Klinge PM, Brinker T, Stopa EG, Silverberg GD. Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and

- disease. *Cerebrospinal Fluid Res.* 2008;5:10. Published 2008 May 14.  
doi:10.1186/1743-8454-5-10
19. C. Schmitt, N. Strazielle, J.F. Ghersi-Egea Brain leukocyte infiltration initiated by peripheral inflammation or experimental autoimmune encephalomyelitis occurs through pathways connected to the CSF-filled compartments of the forebrain and midbrain *J. Neuroinflam.*, 9 (2012), p. 187
  20. Sekar A, Bialas AR, de Rivera H, et al. Schizophrenia risk from complex variation of complement component 4. *Nature.* 2016;530(7589):177–183.  
doi:10.1038/nature16549
  21. Huang JT, Leweke FM, Oxley D, et al. Disease biomarkers in cerebrospinal fluid of patients with first-onset psychosis. *PLoS Med.* 2006;3(11):e428.  
doi:10.1371/journal.pmed.0030428
  22. Dempster EL, Pidsley R, Schalkwyk LC, Owens S, Georgiades A, Kane F, Kalidindi S, Picchioni M, Kravariti E, Touloupoulou T, Murray RM, Mill J  
*Hum Mol Genet.* 2011 Dec 15; 20(24):4786-96.
  23. Grayson DR, Guidotti A :The dynamics of DNA methylation in schizophrenia and related psychiatric disorders. *Neuropsychopharmacology.* 2013 Jan; 38(1):138-66
  24. Nishioka M, Bundo M, Koike S, Takizawa R, Kakiuchi C, Araki T, Kasai K, Iwamoto K Comprehensive DNA methylation analysis of peripheral blood cells derived from patients with first-episode schizophrenia. *J Hum Genet.* 2013 Feb; 58(2):91-7.
  25. Melas PA, Rogdaki M, Ösby U, Schalling M, Lavebratt C, Ekström TJ Epigenetic aberrations in leukocytes of patients with schizophrenia: association of global

- DNA methylation with antipsychotic drug treatment and disease onset. *FASEB J.* 2012 Jun; 26(6):2712-8.
26. Wong J, Hyde TM, Cassano HL, Deep-Soboslay A, Kleinman JE, Weickert Promoter specific alterations of brain-derived neurotrophic factor mRNA in schizophrenia. *Neuroscience.* 2010 Sep 1; 169(3):1071-84.
27. Zhang TY, Labonté B, Wen XL, Turecki G, Meaney MJ :Epigenetic mechanisms for the early environmental regulation of hippocampal glucocorticoid receptor gene expression in rodents and humans. *Neuropsychopharmacology.* 2013 Jan; 38(1):111-23
28. Makoto T, Hiroshi H Yuichiro W :Diagnostic classification of schizophrenia by neural network analysis of blood-based gene expression signatures *Schizophrenia Research* Volume 119, Issues 1–3, June 2010, Pages 210-218
29. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell.* 2005;120(1):15–20. doi: 10.1016/j.cell.2004.12.035
30. Krek A, Grun D, Poy MN, Wolf R, Rosenberg L, Epstein EJ, et al. Combinatorial microRNA target predictions. *Nat Genet.* 2005;37(5):495–500. doi: 10.1038/ng1536
31. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* 2004;116(2):281. doi: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5
32. Nowak JS, Michlewski G. miRNAs in development and pathogenesis of the nervous system. *Biochem Soc Trans.* 2013;41(4):815–820. doi: 10.1042/BST20130044
33. Wang J, Wang Y, Yang J, Huang Y. microRNAs as novel biomarkers of schizophrenia (review) *Experimental and Therapeutic*

- Medicine. 2014;8(6):1671–1676. doi: 10.3892/etm.2014.2014.
34. Beveridge NJ, Cairns MJ. MicroRNA dysregulation in schizophrenia. *Neurobiol Dis.* 2012;46(2):263–271. doi: 10.1016/j.nbd.2011.12.029
  35. Guo A, Sun J, Jia P, Zhao Z. A novel microRNA and transcription factor mediated regulatory network in schizophrenia. *BMC Syst Biol.* 2010;4(1):10. doi: 10.1186/1752-0509-4-10
  36. Zhu Y, Kalbfleisch T, Brennan MD, Li Y. A MicroRNA gene is hosted in an intron of a schizophrenia-susceptibility gene. *Schizophr Res.* 2009;109(1–3):86–89. doi: 10.1016/j.schres.2009.01.022.
  37. Mellios N, Huang HS, Baker SP, Galdzicka M, Ginns E, Akbarian S. Molecular determinants of dysregulated GABAergic gene expression in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2009;65(12):1006–1014. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.11.019
  38. Ripke S, Sanders AR, Kendler KS, Levinson DF, Sklar P, Holmans PA, et al. Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nat Genet.* 2011;43(10):969–976. doi: 10.1038/ng.940.
  39. Hamshere ML, Walters JTR, Smith R, Richards AL, Green E, Grozeva D, et al. Genome-wide significant associations in schizophrenia to ITIH3/4, CACNA1C and SDCCAG8, and extensive replication of associations reported by the schizophrenia PGC. *Mol Psychiatry.* 2012;18(6):708–712. doi: 10.1038/mp.2012.67
  40. Navarrete K, Pedroso I, De Jong S, Stefansson H, Steinberg S, Stefansson K, et al. TCF4 (e2-2; ITF2): a schizophrenia-associated gene with pleiotropic effects on human disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2013;162B(1):1–16. doi: 10.1002/ajmg.b.32109

41. Kwon E, Wang W, Tsai LH. Validation of schizophrenia-associated genes CSMD1, C10orf26, CACNA1C and TCF4 as miR-137 targets. *Mol Psychiatry*. 2013;18(1):11–12. doi: 10.1038/mp.2011.170.
42. Kim AH, Parker EK, Williamson V, McMichael GO, Fanous AH, Vladimirov VI. Experimental validation of candidate schizophrenia gene ZNF804A as target for hsa-miR-137. *Schizophr Res*. 2012;141(1):60–64. doi: 10.1016/j.schres.2012.06.038
43. Valles A, Martens GJ, De Weerd P, Poelmans G, Aschrafi A. MicroRNA-137 regulates a glucocorticoid receptor-dependent signalling network: implications for the etiology of schizophrenia. *J Psychiatry Neurosci*. 2014;39(5):312–320. doi: 10.1503/jpn.130269
44. He K, An Z, Wang Q, Li T, Li Z, Chen J, et al. CACNA1C, schizophrenia and major depressive disorder in the Han Chinese population. *Br J Psychiatry*. 2014;204(1):36–39. doi: 10.1192/bjp.bp.113.126979
45. Guan F, Zhang B, Yan T, Li L, Liu F, Li T, et al. MIR137 gene and target gene CACNA1C of miR-137 contribute to schizophrenia susceptibility in Han Chinese. *Schizophr Res*. 2014;152(1):97–104. doi: 10.1016/j.schres.2013.11.004
46. Santarelli DM, Beveridge NJ, Tooney PA, Cairns MJ. Upregulation of dicer and MicroRNA expression in the dorsolateral prefrontal cortex Brodmann area 46 in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2011;69(2):180–187. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.09.030
47. Moreau MP, Bruse SE, David-Rus R, Buyske S, Brzustowicz LM. Altered MicroRNA expression profiles in postmortem brain samples from individuals with schizophrenia and bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2011;69(2):188–193. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.09.039



48. Mor E, Kano S, Colantuoni C, Sawa A, Navon R, Shomron N. MicroRNA-382 expression is elevated in the olfactory neuroepithelium of schizophrenia patients. *Neurobiol Dis.* 2013;55:1–10. doi: 10.1016/j.nbd.2013.03.011
49. de la Morena MT, Eitson JL, Dozmorov IM, Belkaya S, Hoover AR, Anguiano E, et al. Signature MicroRNA expression patterns identified in humans with 22q11.2 deletion/DiGeorge syndrome. *Clin Immunol.* 2013;147(1):11–22. doi: 10.1016/j.clim.2013.01.011
50. Lai CY, Lee SY, Scarr E, Yu YH, Lin YT, Liu CM, et al. Aberrant expression of microRNAs as biomarker for schizophrenia: from acute state to partial remission, and from peripheral blood to cortical tissue. *Transl Psychiatry.* 2016;6:e717. doi: 10.1038/tp.2015.213
51. Shi W, Du J, Qi Y, Liang G, Wang T, Li S, et al. Aberrant expression of serum miRNAs in schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2012;46(2):198–204. doi: 10.1016/j.jpsychires.2011.09.010
52. Sun X Y, Lu J, Zhang L, Song H T, Zhao L, Fan H M, et al. Aberrant microRNA expression in peripheral plasma and mononuclear cells as specific blood-based biomarkers in schizophrenia patients. *J Clin Neurosci.* 2015;22(3):570–4
53. Sun XY, Zhang J, Niu W, Guo W, Song HT, Li HY, et al. A preliminary analysis of microRNA as potential clinical biomarker for schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2015;168B(3):170–178. doi: 10.1002/ajmg.b.32292
54. Gardiner E, Beveridge NJ, Wu JQ, Carr V, Scott RJ, Tooney PA, et al. Imprinted DLK1-DIO3 region of 14q32 defines a schizophrenia-associated miRNA signature in peripheral blood mononuclear cells. *Mol Psychiatry.* 2011;17(8):827–840. doi: 10.1038/mp.2011.78
55. Nuzzo D, Picone P, Caruana L, Vasto S, Barera A, Caruso C, et al. Inflammatory

- mediators as biomarkers in brain disorders. *Inflammation*. 2014;37(3):639–648
56. Alevizos I, Illei GG. MicroRNAs as biomarkers in rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2010;6(7):391–398. doi: 10.1038/nrrheum.2010.81
57. Lai C, Yu S, Hsieh MH, Chen C, Chen H, Wen C, et al. MicroRNA expression aberration as potential peripheral blood biomarkers for schizophrenia. *PLoS One*. 2011;6(6):e21635. doi: 10.1371/journal.pone.0021635
58. Wei H, Yuan Y, Liu S, Wang C, Yang F, Lu Z, et al. Detection of circulating miRNA levels in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2015;172(11):1141–1147. doi: 10.1176/appi.ajp.2015.14030273
59. Liu S, Zhang F, Shugart YY, Yang L, Li X, Liu Z, et al. The early growth response protein 1-miR-30a-5p-neurogenic differentiation factor 1 axis as a novel biomarker for schizophrenia diagnosis and treatment monitoring. *Transl Psychiatry*. 2017;7(1):e998. doi: 10.1038/tp.2016.268
60. Horrobin DF. Schizophrenia: a biochemical disorder. *Biomedicine* . 1980;32:54–55
61. Sun L, Yang X, Jiang J, Hu X, Qing Y, Wang D, Yang T, Yang C, Zhang J, Yang P, Wang P, Cai C, Wang J, He L, Wan C. Identification of the Niacin-Blunted Subgroup of Schizophrenia Patients from Mood Disorders and Healthy Individuals in Chinese Population, *Schizophrenia Bulletin*, Volume 44, Issue 4, July 2018, Pages 896–907, <https://doi.org/10.1093/schbul/sbx150>
62. Nadalin S, Buretić-Tomljanović A, Rubeša G, Tomljanović D, Gudelj L. NIACIN SKIN FLUSH TEST: A RESEARCH TOOL FOR STUDYING SCHIZOPHRENIA. *Psychiatria Danubina* [Internet]. 2010 [pristupljeno 17.06.2019.];22(1):14-27. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/48604>
63. Rybakowski J, Weterle R. Niacin test in schizophrenia and affective illness. *Biol*

Psychiatry . 1991;29:834–836

64. Fiedler P, Wolkin A & Rotrosen J: Niacin-induced flush as a measure of prostaglandin activity in alcoholics and schizophrenics. *Biol Psychiatry* 1986; 21:1347
65. Ward PE, Sutherland J, Glen EM, Glen AI. Niacin skin flush in schizophrenia: a preliminary report. *Schizophr Res.* 1998 Feb 9; 29(3):269-74.
66. Berger G et al. Bioactive lipids in schizophrenia. *International Review of Psychiatry.* 2006; 18(2): 85–98
67. D. Martins-de-Souza, “Translational strategies to schizophrenia from a proteomic perspective,” *Translational Neuroscience*, vol. 3, pp. 300–302, 2012
68. E. Schwarz, R. Izmailov, M. Spain et al., “Validation of a blood-based laboratory test to aid in the confirmation of a diagnosis of schizophrenia,” *Biomarker Insights*, vol. 2010, no. 5, pp. 39–47, 2010
69. S. Bahn, R. Noll, A. Barnes, E. Schwarz, and P. C. Guest, “Challenges of introducing new biomarker products for neuropsychiatric disorders into the market,” *International Review of Neurobiology*, vol. 101, pp. 299–327, 2011
70. E. Schwarz, P. C. Guest, H. Rahmoune et al., “Identification of a biological signature for schizophrenia in serum,” *Molecular Psychiatry*, vol. 17, no. 5, pp. 494–502, 2012
71. S. G. Fillman, N. Cloonan, V. S. Catts et al., “Increased inflammatory markers identified in the dorsolateral prefrontal cortex of individuals with schizophrenia,” *Molecular Psychiatry*, vol. 18, pp. 206–214, 2013
72. V. S. Catts and C. Weickert, “Gene expression analysis implicates a death receptor pathway in schizophrenia pathology,” *PLoS ONE*, vol. 7, no. 4, Article ID e35511, 2012.

73. T. W. Weickert, T. E. Goldberg, J. M. Gold, L. B. Bigelow, M. F. Egan, and D. R. Weinberger, "Cognitive impairments in patients with schizophrenia displaying preserved and compromised intellect," *Archives of General Psychiatry*, vol. 57, no. 9, pp. 907–913, 2000
74. M. T. Ray, C. S. Weickert, E. Wyatt, and M. J. Webster, "Decreased BDNF, trkB-TK+ and GAD67 mRNA expression in the hippocampus of individuals with schizophrenia and mood disorders," *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, vol. 36, no. 3, pp. 195–203, 2011
75. M. J. Webster, M. B. Knable, J. O'Grady, J. Orthmann, and C. S. Weickert, "Regional specificity of brain glucocorticoid receptor mRNA alterations in subjects with schizophrenia and mood disorders," *Molecular Psychiatry*, vol. 7, no. 9, pp. 985–994, 2002
76. W. R. Perlman, M. J. Webster, J. E. Kleinman, and C. S. Weickert, "Reduced glucocorticoid and estrogen receptor alpha messenger ribonucleic acid levels in the amygdala of patients with major mental illness," *Biological Psychiatry*, vol. 56, no. 11, pp. 844–852, 2004
77. Nopoulos P, Flaum M, Andreasen NC. Sex differences in brain morphology in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1997;154:1648-1654

### **13. Životopis**

Ena Radman rođena je 31. siječnja 1994. godine u Šibeniku. Pohađala je osnovnu školu Tin Ujević u Šibeniku, a zatim smjer farmaceutski tehničar u Medicinskoj i kemijskoj školi Šibenik. Nakon položene državne mature 2012. godine, upisuje studij Medicine na Medicinskom fakultetu u Rijeci. 2015. godine je bila u organizacijskom odboru Kongresa hitne medicine. Od 2016. aktivni je član pjevačkog zbora Medicinskog fakulteta u Rijeci "Axis". Aktivno govori engleski jezik.