

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Sandra Domitrović Spudić

**POVEZANOST MOŽDANOG NEUROTROFNOG ČIMBENIKA I KOGNICIJE U  
VETERANA S POSTTRAUMATSKIM STRESNIM POREMEĆAJEM**

Doktorska disertacija

Osijek, 2022.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Sandra Domitrović Spudić

**POVEZANOST MOŽDANOG NEUROTROFNOG ČIMBENIKA I KOGNICIJE U  
VETERANA S POSTTRAUMATSKIM STRESNIM POREMEĆAJEM**

Doktorska disertacija

Osijek, 2022.

- Mentor rada: izv. prof. prim. dr. sc. Suzana Uzun, dr. med., specijalist psihijatrije
- Komentor rada: prof. dr. sc. Nela Pivac, znanstvena savjetnica u trajnom zvanju

Rad ima 183 lista/stranica.

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Suzani Uzun i mentorici prof. dr. sc. Neli Pivac na znanstvenom i stručnom usmjeravanju, korisnim savjetima te nesebičnoj pomoći i razumijevanju tijekom izrade ovoga doktorskog rada.

Zahvaljujem članovima Laboratorija za molekularnu neuropsihijatriju iz Zavoda za molekularnu medicinu Instituta Ruđer Bošković, posebno dr. sc Matei Nikolac Perković na pomoći u procesiranju uzoraka i određivanju koncentracije BDNF-a u plazmi i genotipizaciji polimorfizama gena *BDNF*.

Zahvaljujem svojoj obitelji, suprugu i kćeri, mom bratu i roditeljima na iskrenoj podršci!

# SADRŽAJ

|              |   |           |
|--------------|---|-----------|
| <b>1.</b>    | <b>UVOD</b>   | <b>1</b>  |
| <b>1.1.</b>  | <b>Posttraumatski stresni poremećaj (PTSP)</b>  | <b>1</b>  |
| 1.1.1.       | Kriteriji za dijagnozu PTSP-a   | 3         |
| 1.1.2.       | Fiziologija PTSP-a  | 5         |
| <b>1.2.</b>  | <b>Neurobiologija PTSP-a</b>  | <b>6</b>  |
| 1.2.1.       | Odgovor na stres  | 6         |
| 1.2.2.       | Sinaptički model patologije kroničnoga stresa   | 8         |
| 1.2.3.       | Dvostruki model patologije: Aminokiselinski prema monoaminskim poremećajima                             | 9         |
| 1.2.4.       | Model trostruke mreže   | 10        |
| <b>1.3.</b>  | <b>Kognicija</b>  | <b>12</b> |
| <b>1.4.</b>  | <b>PTSP i kognicija</b>   | <b>13</b> |
| 1.4.1.       | Amigdala  | 15        |
| 1.4.2.       | Ventromedijalni prefrontalni korteks  | 15        |
| 1.4.3.       | Prednji cingularni korteks  | 16        |
| 1.4.4.       | Hipokampus  | 16        |
| 1.4.5.       | Funkcionalna povezanost sklopa amigdala – ventromedijalni PFC – prednji cingularni korteks – hipokampus | 17        |
| <b>1.5.</b>  | <b>Kognitivni deficiti u PTSP-u</b>   | <b>18</b> |
| 1.5.1.       | Pažnja i brzina procesuiranja informacija   | 19        |
| 1.5.2.       | Izvršne funkcije  | 20        |
| 1.5.3.       | Pamćenje  | 22        |
| <b>1.6.</b>  | <b>Moždani neurotrofni čimbenik (BDNF)</b>  | <b>23</b> |
| 1.6.1.       | Sinteza, otpuštanje i signalni putevi moždanoga neurotrofnog čimbenika                                  | 24        |
| 1.6.2.       | Gen <i>BDNF</i>   | 27        |
| 1.6.3.       | BDNF Val66Met polimorfizam (rs6265)   | 27        |
| 1.6.4.       | BDNF C270T (rs56164415)   | 29        |
| <b>1.7.</b>  | <b>Uloga BDNF-a u kogniciji</b>   | <b>29</b> |
| 1.7.1.       | BDNF Val66Met polimorfizam i kognicija  | 32        |
| 1.7.2.       | BDNF C270T polimorfizam i kognicija   | 34        |
| <b>1.8.</b>  | <b>BDNF Val66Met i PTSP</b>   | <b>34</b> |
| <b>1.9.</b>  | <b>BDNF C270T polimorfizam i PTSP</b>   | <b>36</b> |
| <b>1.10.</b> | <b>BDNF i stres</b>   | <b>36</b> |
| 1.10.1.      | PTSP, stres i BDNF  | 38        |
| 1.10.2.      | Procesuiranje traume u hipokampusu  | 39        |
| <b>2.</b>    | <b>HIPOTEZA</b>   | <b>41</b> |
| <b>3.</b>    | <b>CILJEVI</b>  | <b>42</b> |

|  |            |
|--|------------|
| <b>4. MATERIJALI I METODE</b>  | <b>43</b>  |
| <b>4.1. Ispitanici</b>   | <b>43</b>  |
| 4.1.1. Uključni kriteriji  | 43         |
| 4.1.2. Isključni kriteriji   | 43         |
| 4.1.3. Etički aspekt   | 43         |
| 4.1.4. Klinička obrada ispitanika  | 44         |
| <b>4.2. Psihometrijski testovi</b>   | <b>45</b>  |
| 4.2.1. Klinička ljestvica za posttraumatski stresni poremećaj  | 45         |
| 4.2.2. Pozitivna i negativna sindromska skala ili PANSS  | 46         |
| 4.2.3. Mini test procjene mentalnoga stanja  | 47         |
| 4.2.4. MoCA ili Montrealska procjena kognitivnoga stanja   | 52         |
| <b>4.3. Biokemijske i genetičke analize</b>  | <b>55</b>  |
| 4.3.1. Uzimanje krvi   | 55         |
| 4.3.2. Izolacija DNA   | 56         |
| 4.3.3. Genotipizacija BDNF Val66Met (rs6265) i BDNF C270T (rs56164415)                                       | 57         |
| 4.3.4. Određivanje koncentracije BDNF-a u plazmi   | 62         |
| <b>4.4. Statistička obrada podataka</b>  | <b>65</b>  |
| <b>5. REZULTATI</b>  | <b>67</b>  |
| <b>5.1. Posttraumatski stresni poremećaj i koncentracija moždanoga neurotrofnog čimbenika u plazmi</b>       | <b>67</b>  |
| 5.1.1. Demografski podatci ispitanika  | 67         |
| 5.1.2. Demografske varijable i koncentracija moždanoga neurotrofnog čimbenika u plazmi                       | 69         |
| 5.1.3. Koncentracija moždanoga neurotrofnog čimbenika u plazmi kod ispitanika s PTSP-om i zdravih ispitanika | 71         |
| <b>5.2. Povezanost polimorfizama gena za BDNF i PTSP-a</b>   | <b>72</b>  |
| 5.2.1. Demografski podaci ispitanika   | 72         |
| 5.2.2. Povezanost polimorfizma gena za BDNF i PTSP-a   | 74         |
| <b>5.3. Polimorfizmi gena za BDNF i koncentracija moždanoga neurotrofnog čimbenika u plazmi</b>              | <b>80</b>  |
| <b>5.4. Kognitivni simptomi u PTSP-u</b>   | <b>81</b>  |
| 5.4.1. Izraženost kognitivnih simptoma kod zdravih ispitanika i ispitanika s PTSP-om                         | 81         |
| 5.4.2. Koncentracija BDNF-a u plazmi i kognitivni simptomi u PTSP-u  | 83         |
| 5.4.3. Polimorfizmi gena za BDNF i kognitivni simptomi u PTSP-u  | 95         |
| <b>6. RASPRAVA</b>   | <b>107</b> |
| <b>6.1. Demografski podatci</b>  | <b>108</b> |
| <b>6.2. Biomarkeri PTSP-a</b>  | <b>110</b> |
| <b>4.3. Koncentracija BDNF-a u plazmi i PTSP</b>   | <b>110</b> |
| <b>4.4. Kognitivni simptomi u PTSP-u</b>   | <b>117</b> |
| <b>4.5. PTSP i polimorfizmi gena za BDNF</b>   | <b>122</b> |
| <b>4.6. Kognitivni simptomi i koncentracija BDNF- a u PTSP-u</b>   | <b>124</b> |

|      |  |     |
|------|--|-----|
| 4.7. | Polimorfizmi gena za BDNF i kognicija u PTSP-u | 131 |
| 4.8. | Prednost i nedostaci studije                   | 138 |
| 7.   | ZAKLJUČAK                                      | 140 |
| 8.   | SAŽETAK  | 141 |
| 9.   | SUMMARY  | 143 |
| 10.  | LITERATURA                                     | 145 |
| 11.  | ŽIVOTOPIS                                      | 182 |

## POPIS KRATICA

ACTH – adrenokortikotropni hormon

ALT – alanin-aminotransferaza

Akt – protein-kinaza B

ANOVA – analiza varijance

Ami – amigdala

AMPA – Receptor za  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazlopropionsku kiselinu

AST – aspartat-aminotransferaza

BDNF – moždani neurotrofni čimbenik

proBDNF – nezreli oblik BDNF-a

CAPS – klinička ljestvica za posttraumatski stresni poremećaj

CRH – kortikotropin-oslobađajući hormon

CTQ – upitnik za traumu u djetinjstvu

dACC – dorzalni dio prednjeg cingularnog korteksa

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

DSM-4 – dijagnostički i statistički priručnik mentalnih poremećaja, 4. izdanje

DSM-5 – dijagnostički i statistički priručnik za duševne bolesti, 5. izdanje

ELISA – enzimski povezana imunoapsorpcijska analiza

ERK – izvanstaničnim signalom regulirana kinaza

HHN – os hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda

GABA – gama-aminomaslačna kiselina



HDL – lipoprotein s visokom gustoćom

Hipo – hipokampus

HWE – Hardy-Weinbergova ravnoteža

IL – interleukin

ITM – indeks tjelesne mase

LD – neravnoteža udruživanja alela

LDL – lipoprotein s niskom gustoćom

LTP – proces dugoročnoga potenciranja

MAPK – mitogenom aktivirana protein kinaza

MCI – blagi kognitivni (spoznajni) poremećaj

Met – metionin

MMSE2 – mini test procjene mentalnoga stanja

MKB-10 – međunarodna klasifikacija bolesti i srodnih zdravstvenih problema, deseta revizija

MoCA – montrealska ljestvica kognitivne procjene

$\beta$ -NGF – čimbenik rasta živaca

NMDAR – receptor za N-metil-D-aspartat

NP – nije primjenjivo

NT – neurotrofin

PANSS – pozitivna i negativna sindromska skala

PCR – lančana reakcija polimeraze

PFC – prefrontalni korteks

vmPFC – ventromedijalni prefrontalni korteks

PI3K – fosfatidilinozitol 3-kinaza

PLC $\gamma$  – fosfolipaze C gama

p75NTR – pan neurotrofinski receptor

PTSP – posttraumatski stresni poremećaj

mRNA – glasnička RNA

RNA – ribonukleinska kiselina

ROCF – Rey-Osterrieth Complex Figure test

SCID – strukturirani klinički intervju

SNP – polimorfizam jednoga nukleotida

Trk – tropomiozin-receptor-kinaza

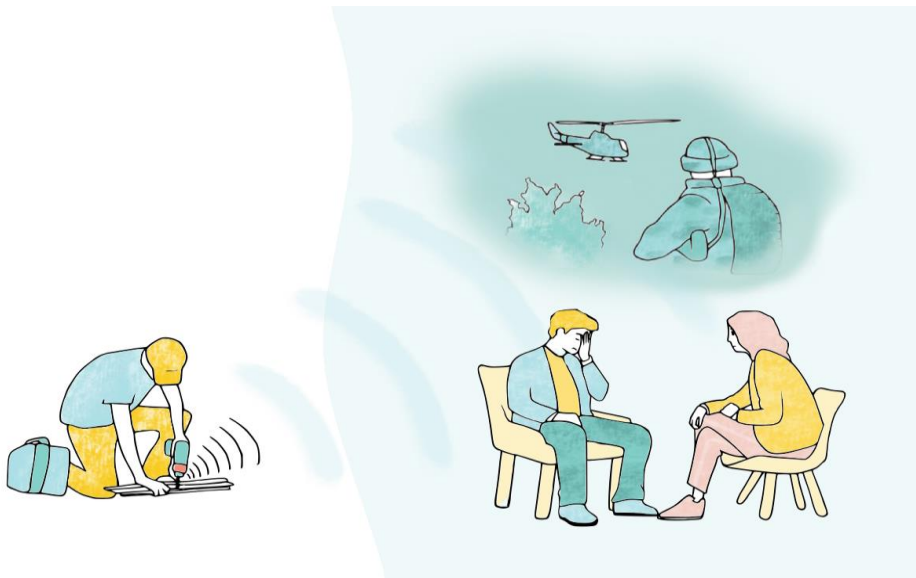
Val – valin

## 1. UVOD

### 1.1. Posttraumatski stresni poremećaj (PTSP)

Posttraumatski stresni poremećaj (PTSP) sindrom je emocionalnih i ponašajnih poremećaja koji nastaju nakon izlaganja traumatskom stresu ili skupu traumatskih stresnih iskustava koja su izvan raspona normalnoga, svakodnevnoga iskustva neke osobe (1). Posljedica toga je nastanak karakterističnih skupova simptoma: tjeskoba, razdražljivost, izbjegavanje i nijekanje, nametanje, ponavljajuće noćne more, ponovno proživljavanje stresnoga događaja, poteškoće s koncentracijom i pamćenjem, seksualna zakočenost, povlačenje i osamljivanje, impulzivnost i nestabilnost itd. Poremećaji uzrokovani stresom predstavljaju značajnu kategoriju u okviru psihičkih poremećaja. Prema pojedinim autorima PTSP je peta najčešća psihijatrijska dijagnoza u SAD-u, u općoj populaciji, nakon depresije, poremećaja pažnje s hiperaktivnosti (ADHD), specifičnih fobija i socijalnih fobija (2, 3). Prema provedenim studijama prevalencija PTSP-a u Republici Hrvatskoj kod veterana Domovinskog rata kreće se od 16 do 24 %, ovisno o uzorku i vremenu kada je istraživanje provedeno (4, 5). Odgovor na traumatski događaj može se razlikovati među pojedinim osobama, no smatra se da je normalno postojanje vremenski ograničenoga posttraumatskog stresnog odgovora koje ne perzistira i ne narušava funkcioniranje. Takvi su odgovori često neophodni za preživljavanje, međutim kada stres nadvlada adaptivne mehanizme suočavanja, može se razviti PTSP (6, 7). PTSP je na sličan način prisutan u različitim kulturama, narodima i zemljopisnim područjima, što govori o sličnim biološkim i psihološkim zbivanjima, neovisno o razlikama u populaciji (8). Do danas nije potpuno jasno zašto pojedine osobe razvijaju psihičke poremećaje, a posebno PTSP, uzrokovane traumom i stresom, a druge ih ne razvijaju, i to je važno pitanje u etiologiji ovih stanja (9). Zbog svoje kompleksnosti dijagnosticiranje, PTSP-a je složen postupak što se očituje u područjima kliničkoga rada i istraživanja. Kako u kliničkom, tako i u istraživačkom radu, bitna je dosljedna primjena dijagnostičkih kriterija koja uključuje procjenu izloženosti traumatskom događaju i širinu definicije traumatskoga događaja jer dijagnostičke razlike mogu nastati i kao posljedica korištenja različitih klasifikacija i mjernih instrumenata (4). Problemi u okviru kliničkoga rada, među ostalim, uključuju moguće različite kliničke simptome, ovisno o vremenu koje je prošlo od traumatskoga događaja, mogućnost da se kliničke prezentacije simptoma mogu razlikovati među sudionicima različitih trauma, kao i preklapanje sa simptomima drugih, komorbidnih mentalnih poremećaja (4). Jedna je od najznačajnijih karakteristika PTSP-a stalno ponovno

doživljavanje, tj. proživljavanje traumatskoga događaja. Bolesniku se bez poticaja iz okoline nameću mučna i neželjena sjećanja na traumatski događaj. Intruzivna sjećanja praćena su odgovarajućom mučnom emocionalnom reakcijom. Kod velikoga broja bolesnika javljaju se noćne more, iluzije, halucinacije i disocijativne (tzv. „flashback“) epizode (10). Događaji koji simboliziraju ili podsjećaju na traumatski događaj mogu kod bolesnika izazvati intenzivnu psihološku patnju. Bolesnici nastoje izbjegavati misli ili emocije vezane uz traumu ili aktivnosti i situacije koje pobuđuju sjećanja na traumu. Također se može javiti nemogućnost sjećanja nekoga važnog aspekta traume (psihogena amnezija) ili izrazito smanjenje zanimanja za značajne aktivnosti. Ograničen spektar afekata (nesposobnost za osjećaj ljubavi) ili osjećaj uskraćene budućnosti (ne očekuje da bi mogao izgraditi karijeru, sklopiti brak, osnovati obitelj, imati sretan život...) također je jedna od značajaka poremećaja. Učestali su simptomi PTSP-a anksioznost s tremorom i nemirom, agresivne reakcije različitoga intenziteta, iracionalni osjećaj krivnje i stida, a kod PTSP-a izazvanoga borbenim iskustvom – ponovno proživljavanje scena iz borbe, perzistirajuća prisutnost „slika“ poginulih suboraca, masakara, neprijatelja koji ih želi ubiti, zvukova bombi, raketa... (Slika1.).



Slika 1.1. Simptomi PTSP-a

Preuzeto s: <https://www.kakosi.hr/2020/08/21/sto-ako-imam-ptsp/>

### 1.1.1. Kriteriji za dijagnozu PTSP-a

Danas se za postavljanje dijagnoze PTSP-a koriste kriteriji navedeni u DSM-5:

Kriterij (A) odnosi se na izloženost stvarnoj smrti, ozbiljnoj ozljedi ili seksualnom nasilju, ili prijetnji od navedenoga na jedan (ili više) od sljedećih načina: 1. neposrednim doživljavanjem traumatskoga / traumatskih događaja, 2. osobnim svjedočenjem takvim događajima kod drugih, 3. saznanjem da se traumatski događaj dogodio članu bliže obitelji ili bliskom prijatelju. U slučajevima stvarne smrti ili prijetnje smrću članu obitelji ili prijatelju, događaj mora biti nasilan ili slučajan, 4. doživljavanjem ponavljanja ili ekstremnim izlaganjem averzivnim detaljima traumatskoga događaja (npr. osobe koje prve skupljaju ljudske ostatke, policajci konstantno izloženi detaljima zlostavljanja djece). Ovaj kriterij ne odnosi se na izloženost putem elektroničkih medija, televizije, filmova ili slika, osim u slučaju kad je izloženost povezana s poslom.

Kriterij (B) odnosi se na prisutnost jednoga (ili više) intruzivnih simptoma povezanih s traumatskim događajem nakon što se odvio takav događaj, i to putem: 1. ponavljajućih, nevoljnih i intruzivnih sjećanja na traumatski događaj. Kod djece starije od šest godina može se pojaviti repetitivna igra u kojoj su izražene tema ili aspekti traumatskoga događaja; 2. ponavljajućih uznemirujućih snova u kojima su sadržaj i/ili afekti sna povezani s traumatskim događajem. Kod djece ti snovi mogu biti bez povezanoga sadržaja; 3. disocijativnih reakcija (npr. slika iz prošlosti) prilikom kojih pojedinac osjeća ili se ponaša kao da se ponovno odvija traumatski događaj. Takve reakcije odvijaju se na kontinuumu na čijem se najekstremnijem kraju nalazi potpuni gubitak svijesti o sadašnjem okruženju. Kod djece se ovo može javiti tijekom igre; 4. intenzivnoga ili dugotrajnoga psihološkog distresa prilikom izlaganja internaliziranim ili eksternaliziranim znakovima koji simboliziraju aspekt traumatskoga događaja ili slične traumatskom događaju, 5. tijekom upadljivih psiholoških reakcija na internalne ili eksternalne znakove koji simboliziraju aspekt traumatskoga događaja ili slične traumatskom događaju.

Kriterij (C) odnosi se na dosljedno izbjegavanje podražaja koji su povezani s traumatskim događajem koje počinje nakon pojave traumatskoga događaja, putem jednoga ili oba: 1. izbjegavanja ili truda za izbjegavanjem potresnih sjećanja, misli ili osjećaja o traumatskom događaju ili sjećanja, misli i osjećaja blisko povezanih s traumatskim događajem; 2. putem izbjegavanja ili truda za izbjegavanjem vanjskih podsjetnika (osoba, mjesta, razgovora,

aktivnosti, objekata, situacija) koji izazivaju uznemirujuća sjećanja, misli ili osjećaje o traumatskom događaju ili eksternaliziranih podsjetnika koji su blisko povezani s traumatskim poremećajem.

Kriterij (D) odnosi se na negativne promjene u mislima i raspoloženju koje su povezane s traumatskim događajem, a koje počinju ili se pogoršavaju nakon traumatskoga događaja te su evidentirane s dva ili više od sljedećih simptoma: 1. nemogućnosti zapamćivanja važnih aspekata traumatskoga događaja (tipično zbog disocijativne amnezije, a ne zbog drugih faktora poput ozljede glave, alkohola ili droga), 2. postojanim i preuveličanim negativnim vjerovanjima o samom sebi, drugima i svijetu (npr. „Ja sam loš“, „Nikome ne mogu vjerovati“, „Svijet je u potpunosti opasan“), 3. postojanim, iskrivljenim mislima o uzroku i posljedicama traumatskoga događaja koje dovode do toga da osoba krivi samu sebe ili druge zbog traumatskoga događaja, 4. stalnim negativnim emocionalnim stanjem (npr. strah, užas, krivnja, ljutnja), 5. primjetno smanjenim interesom ili uključenosti u značajne aktivnosti, 6. osjećajem otuđenosti i odvojenosti od drugih, 7. postojanom nesposobnosti doživljavanja pozitivnih emocija (nemogućnost doživljavanja sreće, zadovoljstva, ljubavi).

Kriterij (E) odnosi se na primjetne promjene u pobuđenosti i reaktivnosti koje su povezane s traumatskim događajem, a koje počinju ili se pogoršavaju nakon traumatskoga događaja te su evidentirane s dva ili više sljedećih simptoma: 1. razdražljivim ponašanjem i ispadima bijesa (uz malu ili nikakvu provokaciju) koji su izraženi kao verbalna i fizička agresija prema ljudima ili objektima, 2. nesmotrenošću i autodestruktivnim ponašanjem, 3. pretjeranom pobuđenosti (hiperpobuđenost), 4. preuveličanom odgovoru na iznenadna zbivanja (npr. nagli trzaj na zvuk kućnoga zvona), 5. problemima s koncentracijom, 6. smetnjama sna (poteškoće pri usnivanju i spavanju, nemiran san).

Kriterij (F) odnosi se na to da je duljina trajanja smetnje (kriteriji B, C, D i E ) duža od mjesec dana.

Kriterij (G) odnosi se na to da navedene smetnje osobi uzrokuju klinički značajnu patnju ili poteškoće u socijalnom, radnom ili drugom važnom području funkcioniranja.

Kriterij (H) odnosi se na to da se smetnje ne mogu pripisati fiziološkim učincima različitih supstanci (lijekova, alkohola) ili drugim medicinskim stanjima (11).

Kratak pregled simptoma navedenih u kriterijima DSM-5 prikazan je u Slici 1.2.

## Posttraumatski stresni poremećaj (PTSP)



Slika 1.2. Simptomi PTSP-a

Prilagođeno prema: <https://www.alamy.com/post-traumatic-stress-disorder-ptsd-signs-and-symptoms-illustrations-depict-man-with-post-traumatic-stress-disorder-facing-difficulty-in-life-and-men-image240732267.html>

### 1.1.2. Fiziologija PTSP-a

Posttraumatski stresni poremećaj (PTSP) poremećaj je povezan s traumom i stresorom koji se razvija nakon izlaganja traumatičnom događaju, ali samo 10 – 20 % traumatiziranih osoba razvit će PTSP nakon traumatičnoga iskustva (12). Stoga otpornost ili ranjivost na razvoj PTSP-a nakon traume, kao i odgovor na liječenje, ovise o spolu ispitanika, neurobiološkoj, genetskoj i epigenetskoj podlozi koja je pod utjecajem bioloških, genetskih, metaboličkih, glikomskih, ali i psihosocijalnih čimbenika, prisutnosti ili odsutnosti socijalne podrške te sposobnosti suočavanja i izloženosti ranim životnim iskustvima (12).

Pretpostavlja se da su promjene u aktivnosti i funkcioniranju različitih neurotransmitorskih i neuroendokrinih sustava povezane s neurobiološkom osnovom PTSP-a. Neurobiološka podloga PTSP-a nije do kraja razjašnjena i povezuje se s promjenama u živčanom prijenosu posredovanom neurotransmitorima, gama-aminomaslačnom kiselinom (GABA-om), glutamatom, noradrenalinom, dopaminom, serotoninom, acetilkolinom, opioidima te s promjenama aktivnosti osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežne žlijezde (os HHN) i

hipotalamus-hipofiza-štitna žlijezda (13). Upravo su te promjene odgovorne za pojavu raznovrsnih simptoma karakterističnih za PTSP.

Fiziologija PTSP-a obuhvaća poremećenu regulaciju neurokemijskih sustava uz oslobađanje hormona povezanih sa stresom kao što su adrenalin, kortizol, vazopresin, noradrenalin i endogeni opiodi (13). Kod zdravoga čovjeka razine kateholamina i kortizola, koje se oslobađaju tijekom stresa, proporcionalne su razini stresa. Negativnom povratnom spregom kortizol inhibira aktiviranu os HHN i funkciju hipofize, hipotalamusa, hipokampusa i amigdala. Za razliku od normalne akutne stresne reakcije, gdje povišena razina kortikotropin-oslobađajućega hormona (CRH) dovodi do pojačanoga oslobađanja adrenokortikotropnoga hormona ili ACTH-a, a ACTH potiče lučenje kortizola, kod oboljelih od PTSP-a razine kortizola u krvi trajno su snižene. Ovaj se paradoks objašnjava pojačanom negativnom spregom u osi HHN-a, do čega dolazi tijekom razvoja PTSP-a. Os HHN-a postaje pojačano osjetljiva na kortizol te se isključuje prije no što kortizol uspije adekvatno ograničiti reakciju simpatičkoga živčanog sustava. Ovakva disfunkcionalna regulacija fiziološkoga odgovora na stres dovodi do protrahirane pojačane reaktivnosti simpatičkoga živčanog sustava te se manifestira produženom reakcijom straha i kronične povećane pobuđenosti kod oboljelih od PTSP-a (14). Hipersenzitivnost receptora u hipofizi, koja dovodi do snižene razine kortizola, pokazana je deksametazonskim supresijskim testom koji je ponavljano pokazivao pojačanu supresiju kortizola kod pacijenata s PTSP-om (15). Smatra se da postoji nedovoljna razina kortizola u vrijeme same traume, pri čemu druge biološke reakcije nisu inhibirane, tako da se događa prolongirana aktivacija nekih odgovora na stres.

## **1.2. Neurobiologija PTSP-a**

### **1.2.1. Odgovor na stres**

Kod bolesnika s PTSP-om utvrđeno je postojanje povezanosti s deficitom smanjenja intenziteta straha, povećanim generiranjem straha, osjećajem prijetnje od neutralnih podražaja i osjećaja opasnosti u sigurnom okruženju. Vjeruje se da ti poremećaji kondicioniranja strahom leže u osnovi mnogih simptoma PTSP-a i da koreliraju s nekim biološkim abnormalnostima utvrđenim u bolesnika s PTSP-om (16). Točan mehanizam kojim trauma uzrokuje poremećaj regulacije straha još uvijek nije potpuno jasan. Bez obzira na to je li stresor bio akutan ili kroničan, životno ugrožavajući događaji, koji su u podlozi



psihopatologije PTSP-a, obično uzrokuju produljen odgovor na stres. Privremeni stresni odgovori (koji traju u minutama ili satima) mogu poboljšati plastičnost mozga i kogniciju (17). Traumatski stresori često su povezani s kroničnim (danima do tjednima) stresnim odgovorima koji štete neuronima u mozgu i često su popraćeni poremećajima u ponašanju (18). Većina ljudi koja je izložena životno ugrožavajućoj traumi barem će prolazno imati simptome PTSP-a.

Kako će pojedinac odreagirati na strah i način na koji će se manifestirati trajne reakcije na stres, složen je proces koji uključuje genske i okolinske čimbenike, životni stadij, značajke traumatičnoga stresa i posttraumatskoga socijalnog konteksta (19). Rizik od psihopatologije proporcionalan je jačini traume. Dakle, nekontrolirani, nepredvidivi, ponavljani i ozbiljni stresori povećavaju vjerojatnost aktiviranja modela trajne prijetnje koja dovodi do kroničnih reakcija na stres s naknadnim biološkim i bihevioralnim abnormalnostima (18, 20).

Biopsihosocijalni čimbenici rizika ranjivosti (npr. ženski spol, povijest stresa u djetinjstvu ili predispozicija za razvoj psihičkih bolesti) predstavljaju povećan rizik za razvoj poremećaja povezanih sa strahom, a ujedno su povezani s modelom trajne prijetnje i dugotrajnih odgovora na stres nakon teških traumatičnih događaja (21, 22).

Različiti rizični čimbenici mogu objasniti zašto postoje tolike varijabilnosti prijavljenih stopa PTSP-a. U prosjeku manje od 10 % osoba izloženih ekstremnom stresu razvije PTSP. No, stopa PTSP-a iznosi 20 % nakon nasilja i do 50 % kod žrtava silovanja (23). Među izbjeglicama stope PTSP-a kreću se od 4 do 86 %, a veće stope povezane su s težinom traume (24). Među preživjelima žrtvama holokausta iz Auschwitza 80 % ih je kao vodeći simptom manifestiralo intruzivna sjećanja ponovnoga proživljavanja, 90 % ih je imalo ponavljane noćne more i 100 % je manifestiralo poremećaje spavanja (25). Podatci zajedno upućuju da bi, unatoč stupnju otpornosti pojedinca, povećanje količine traumatičnoga opterećenja na kraju moglo ubrzati psihopatologiju (26). Dakle, varijabilnost posttraumatskih ishoda mogla bi biti posljedica individualiziranoga praga na kojem osoba razvija produljeni odgovor na stres i naknadnu psihopatologiju. U tom kontekstu može se i objasniti individualna različitost razvoja i simptoma PTSP-a, trajanje simptoma, utjecaj simptoma PTSP-a na ukupnu kvalitetu života od stupnja invalidnosti, socijalnoga funkcioniranja i razvoja ovisnosti.

### 1.2.2. Sinaptički model patologije kroničnoga stresa

Razvoj novih radioloških metoda neuroprikaza posljednjih desetljeća doprinio je brojnim novim spoznajama o strukturi, neurokemiji i funkciji amigdala, medijalnoga prefrontalnog korteksa (PFC-a) i hipokampusu kod pacijenata oboljelih od PTSP-a, uz detekciju neuroanatomskih abnormalnosti. Ekstremni ponavljajući stresori dovode do promjena u neuronima i sinapsama u smislu smanjenja broja neurona te povećanja sinaptičke gustoće. Na životinjskim modelima kroničan stres dovodi do smanjene sinaptičke povezanosti u PFC-u i hipokampusu, dok je porast sinaptičke povezanosti najočitiiji u nukleus akumbensu i bazolateralnoj amigdali (18, 27).

U PFC-u i hipokampusu produljeni odgovori na stres povezani su s poremećajem signalizacije glukokortikoida, upalnim reakcijama, smanjenom koncentracijom moždanoga neurotrofnog čimbenika (BDNF-a), deficitom astrocita, smanjenjem ponovne pohrane glutamata oslobođenoga u sinapsama, što pak dovodi do povećane koncentracije izvanstaničnoga glutamata i ekscitotoksičnosti (28). Nadalje, produljeni odgovor na stres održava paradoksalni porast izvanstaničnoga glutamata unatoč značajnom smanjenju glutamatne neurotransmisije i receptora za N-metil-D-aspartat (NMDAR) i receptora za  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazlopropionsku kiselinu (AMPA) (29). Ove molekularne promjene dovode do atrofije neurona, smanjenja dendrita i arborizacije, smanjenja sinaptičke gustoće i smanjene snage neurotransmisije. U pretkliničkim studijama taj je gubitak sinapsi i njihove povezanosti izravno povezan s poremećajima u ponašanju, uključujući poremećaj raspoloženja i anksioznosti (30).

Ovaj model upućuju na nižu aktivaciju medijalnih prefrontalnih regija te hiperaktivnost amigdala tijekom simptomatskih stanja i tijekom procesiranja afektivnih informacija povezanih s negativnim emocijama, odnosno traumom. Odgovor amigdala pozitivno je povezan s ozbiljnošću simptoma PTSP-a (31). U amigdali je kronični stres povezan s funkcionalnim i strukturnim promjenama u smislu smanjene sinaptičke aktivnosti u medijalnoj amigdali, a pojačane sinaptičke aktivnosti i porastom BDNF-a u bazolateralnoj amigdali (32). Značajno je da je jedan stresor dovoljan za povećanje BDNF-a u bazolateralnoj amigdali, što je vidljivo jedan dan nakon stresa i taj učinak traje najmanje deset dana (32).

Pojedinačni stresor također postupno povećava sinaptogenezu bazolateralne amigdale tijekom desetodnevnoga razdoblja, što je paralelni proces s postupnim porastom anksioznoga ponašanja (33). Slično tome, jednokratna visoka doza kortikosterona inducira ponašanje nalik na anksioznost i pojačava hipertrofiju bazolateralne amigdale i traje više od deset dana (34). Nakon odmaka od stresora sinaptički gubitak u hipokampusu i PFC-u, smanjenje regulacije BDNF-a i slični poremećaji u ponašanju oporavljaju se u roku od dva do četiri tjedna, dok povećana sinaptogeneza bazolateralne amigdale, povišena regulacija BDNF-a i s tim povezano ponašanje poput anksioznosti – nisu reverzibilni u istom vremenskom razdoblju (35, 36). U nukleus akumbensu izloženost kroničnom stresu također je povezana s neuronskom hipertrofijom, uključujući povećanje BDNF-a te sinaptičke gustoće i snage (37). Dorzalni anteriori korteks girusa cinguli i insula pokazuju sklonost hiperreaktivnosti kod PTSP-a, što se može naći i kod drugih anksioznih poremećaja (14). Suprotno tome, medijalni prefrontalni korteks volumetrijski je manji i hiporeaktivan tijekom simptomatskih stanja i obavljanja emocionalnih kognitivnih zadataka, a reaktivnost je inverzno povezana s ozbiljnošću simptoma PTSP-a (38). Intruzivni simptomi mogu biti povezani s nesposobnošću viših struktura (hipokampus, medijalni frontalni korteks) da ublaže pobudljivost i distres koji se procesuiraju kroz amigdale u odgovoru na prisjećanje traumatskoga događaja (39).

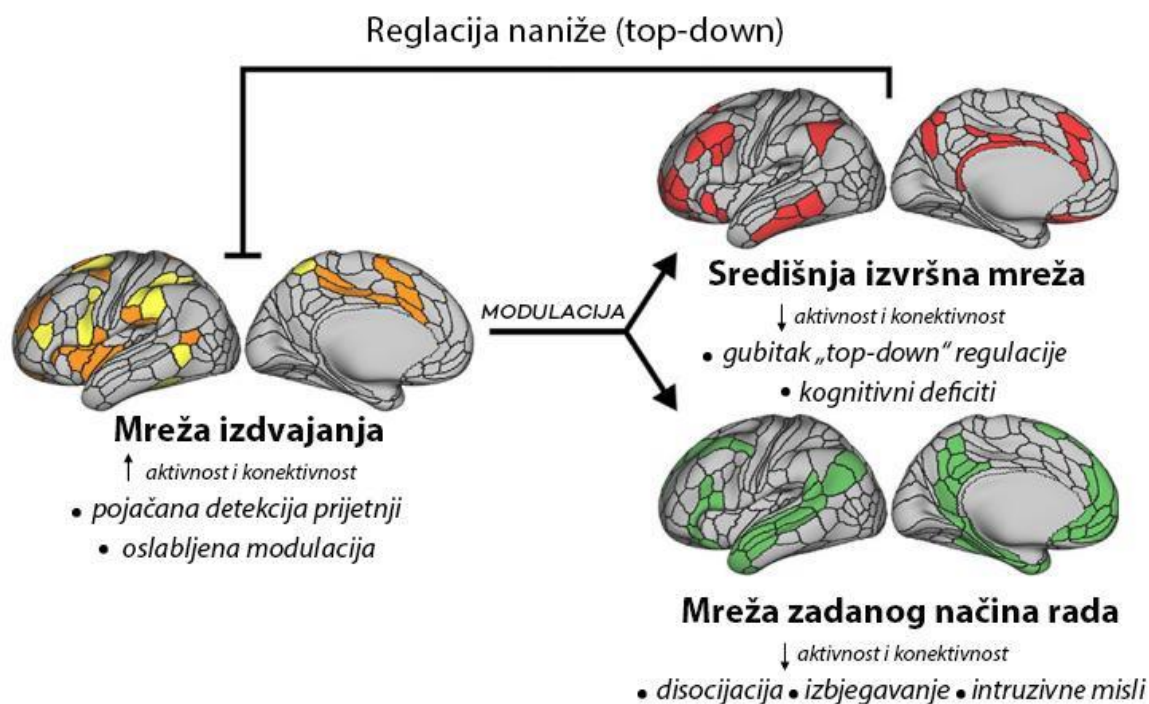
### **1.2.3. Dvostruki model patologije: Aminokiselinski prema monoaminskim poremećajima**

Dvostruki model patologije upućuje da je patologija traume i stresa neovisno povezana s patologijom na bazi aminokiselinskih neurotransmitora i s patologijom temeljenom na poremećajima monoaminskih neurotransmitora (40). U aminokiselinskom modelu poremećaji su usko povezani s istaknutom disregulacijom glutamata i sinaptičkim gubicima, što je vidljivo rezistencijom na liječenje monoaminergičkim lijekovima, promjenama glutamata i GABA markera i signalizacijom, te ukupnim strukturnim korelatima sinaptičkog gubitka na neuroradiološkim prikazima magnetske rezonancije (MRI) (40). Suprotno tome, monoaminski model usko je povezan s poremećajem regulacije monoaminskih neurotransmitora i sinaptičkim dobitcima, što je vidljivo pojačanim odgovorom na monoaminergičke lijekove, znakovima autonomne disregulacije i hipertrofijom sive tvari (41).

Stoga karakteristike traume, zajedno s individualnom predispozicijom, mogu diktirati uzorak biološkoga poremećaja (tj. aminokiselinskoga ili monoaminskoga) i povezane abnormalnosti u ponašanju (npr. PTSP ili depresija) (26). Na primjer, određeni stresori, poput pojedinačnoga produljenog stresa, vjerojatnije će izazvati ključne simptome PTSP-a (42). Model dualne patologije u početku je predložen za veliki depresivni poremećaj (41). Međutim, različiti nalazi također podržavaju primjenjivost ovoga modela na PTSP. Prvo, traumatski stres može pokrenuti PTSP i/ili depresiju, kao i povećati rizik od nekoliko drugih poremećaja povezanih sa stresom (43). Drugo, teorija o patologiji kroničnoga stresa jasno uključuje patologiju i aminokiselinskih i monoaminskih neurotransmitora u PTSP-u. Treće, uz opsežne dokaze koji se odnose na sinaptički gubitak u okviru patologije, na bazi aminokiselinskih neurotransmitora u PTSP-u (44), postoje i snažni dokazi o disregulaciji kateholamina kod bolesnika s PTSP-om (45).

#### **1.2.4. Model trostruke mreže**

Pretpostavlja se da smanjena sinaptička povezanost u području hipokampusa i povećana sinaptička povezanost u amigdalama mogu biti predisponirajući čimbenik koji se pogoršava indeksom traumatskoga događaja, a koji uzrokuje poremećaje u funkciji pamćenja i ekstinkcije straha (46). Nedavno je predložen sveobuhvatniji model – poznat kao model trostruke mreže (47). Model trostruke mreže nije specifičan za PTSP, već za širok raspon psihopatoloških prezentacija (48). Ovaj mrežni model temelji se na trima velikim unutarnjim mrežama povezivanja u kojima su zadani način rada mreže, središnja izvršna mreža i izdvojena mreža, prikazani u Slici 1.3.



Slika 1.3. Mrežni model PTSP-a

Preuzeto i prilagođeno prema Abdallah CG, Sanacora G, Duman RS, Krystal JH. The neurobiology of depression, ketamine and rapid-acting antidepressants: Is it glutamate inhibition or activation? *Pharmacol Ther.* 2018;190:148–158.

Slika 1.3. prikazuje kortikalne prikaze mreže izdvajanja (SN; narančasta i žuta), središnje izvršne mreže (CEN; crvena) i mreže zadanoga načina rada (DMN; zelena). PTSP je povezan s hiperaktivnom mrežom izdvajanja što dovodi do pojačane detekcije prijetnji i oslabljene modulacije, središnje izvršne mreže i mreže zadanoga načina rada. S druge strane, deficiti središnje izvršne mreže i mreže zadanoga načina rada povezani su s poremećajima u najvišoj kontroli, kao i s drugim simptomima karakterističnim za PTSP, poput izbjegavanja i intruzivnih misli.

Mreža zadanoga načina prostorno obuhvaća važna područja u stražnjem cingularnom korteksu, medijalnom PFC-u i medijalnom sljepoočnom režnju, uključujući hipokampus (49). Poznato je da se uključuje u autoreferencijalne, introspektivne procese i autobiografsko pamćenje. U skladu sa svojom funkcijom, najaktivniji je u mirovanju, a hipoaktivan tijekom zadataka usmjerenih k cilju. Kod osoba s PTSP-om poznato je da je „zadani način“ hipoaktivan i slabo povezan (50), a čime se mogu objasniti simptomi disocijacije,

izbjegavanja i nametanja (47). Poznato je da središnja izvršna mreža, koja je usidrena prvenstveno u dorzolateralnom PFC-u, sudjeluje u usmjerenom ponašanju i regulaciji osjećaja. Smatra se da nalazi o nepovezanosti u PTSP-u odražavaju gubitak modulacije nad krugovima za otkrivanje straha/prijetnje i nedostatke u kognitivnoj i izvršnoj funkciji (26). Mreža izdvajanja ima važne čvorove u inzuli, dorzolateralnom cingulastom korteksu i moguće amigdali. Mreža istaknutosti implicirana je u odgovoru na subjektivnu istaknutost i u skladu s tim arbitrira između središnje izvršne mreže (pozitivno na zadatak) i zadane mreže (negativno na zadatak) (51). Smatra se da poremećaj u konektivnosti u istaknutoj mreži narušava ovu arbitražnu funkciju, što rezultira niskim pragom izdvojenosti i hipervigilantnim stanjem (52). Ukratko, proširivanjem modela sklopa fronto-limbičnog straha, model trostruke mreže možda će bolje objasniti različite endofenotipove kod PTSP-a, kao i simptomologiju uobičajenih popratnih bolesti (47). Uz to, pruža konstrukt za bolje razumijevanje međusobne povezanosti uzorka mikrostrukturnih sinaptičkih poremećaja i složenosti kliničkih psihopatoloških prikaza.

### **1.3. Kognicija**

Jedna od najjednostavnijih definicija kognicije jest da je kognicija ili spoznaja sve što je povezano sa znanjem. Najčešća je definicija kognicije sposobnost obrade podataka putem percepcije (stimulus koji dobijamo putem različitih čula), znanje koje se dobije kroz iskustvo i subjektivne karakteristike koje omogućavaju da se spoje sve ove informacije u svrhu shvaćanja i tumačenja svijeta koji nas okružuje (53). Dakle, kognicija je sposobnost koju osoba ima i prima i obrađuje podatke dobivene iz različitih izvora (percepcija, iskustvo, uvjerenja...) kako bi ih pretvorila u znanje. Kognicija je dio ljudskoga intelektualnog razvoja i iskustva, a uključuje različite kognitivne procese, kao što je učenje, pažnja, memorija, jezik, rasuđivanje, donošenje odluka itd. Dakle, sve ono što se koristi za stjecanje novih znanja i za donošenje odluka na temelju onoga što je već poznato, naziva se kognitivnim procesima.

Kognitivne sposobnosti ljudi vjerojatno su najnaprednije u čitavom životinjskom carstvu, a razlog tome je najvjerojatnije u proširenom moždanom korteksu i visoko razvijenoj prefrontalnoj kori (54). Postoji mnogo različitih domena kliničkoga konstrukta kognicije, a uključuje pažnju, pamćenje (radno i dugoročno), percepciju, jezik, rješavanje problema, razumijevanje, zaključivanje, računanje, čitanje i govor. Kognicija se mijenja tijekom života

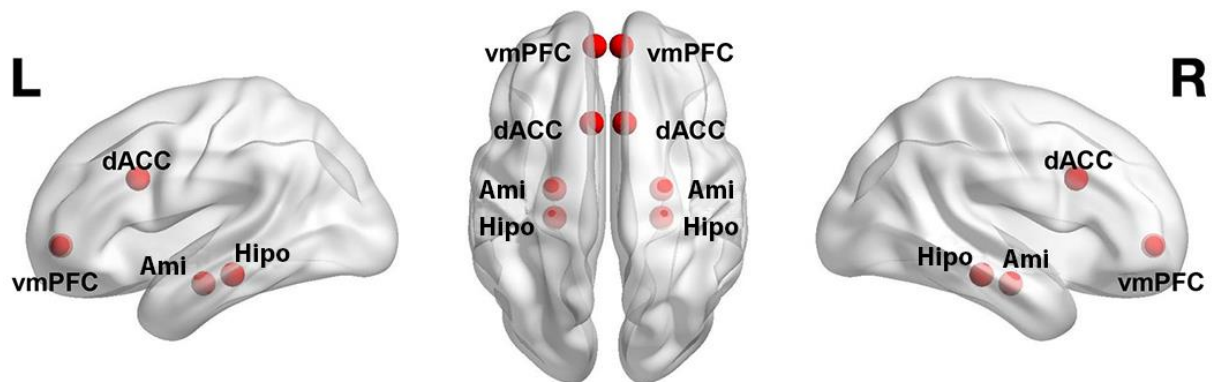
usklađujući razvoj, sazrijevanje i starenje mozga (54). Emocionalna su iskustva sveprisutna i važna, a možda čak i kritična u akademskim okvirima jer emocije moduliraju gotovo svaki aspekt kognicije (55). Čak i sama tema sadržaja utječe na emocije koje utječu na sposobnost učenja i pamćenja (55). Brojna su istraživanja potvrdila utjecaj emocija na kognitivne procese, uključujući utjecaj na pažnju (56), učenje i pamćenje (57), zaključivanje (58) i rješavanje problema (59). Pretpostavlja se da i emocionalni podražaji traže više „izvora“ pažnje od neemocionalnih podražaja (60). Stoga se čini da se osoba sjeća živo i točno emocionalnih iskustva / podražaja, čak i nakon dužega protoka vremena (55).

Istraživanja pokazuju da se bolje pamte informacije „nabijene“ emocijom od neutralnih informacija (61), što je pokazano i kod PTSP-a (62). Kognitivni deficit može se tumačiti kao simptomi kada su oštećene domene „hladne kognicije“ (pažnja, pamćenje, radna memorija itd.), a mogu se tumačiti i kao interakcija s emocionalnim ili motivacijskim čimbenicima u slučajevima oštećenja „vruće kognicije“ (donošenje odluka, impulzivnost, društvena spoznaja itd.) (63). Anatomske i funkcionalne promjene u limbičkim strukturama, poput prednjega cingularnog korteksa, amigdale, hipokampusu i orbitofrontalnom korteksu, osim uloge u obradi emocija, također su uključeni u kognitivnu kontrolu, učenje i pamćenje (64). Navedeno se posebno odnosi na hipokampus (65) i amigdalnu (66) koji su izravno povezani s kodiranjem memorije. Druge regije, kao na primjer orbitofrontalni korteks i prednji cingularni korteks, posreduju u učenju (67) i također kontinuirano posreduju ažuriranje predviđanja budućih kognitivnih zahtjeva dohvaćanjem postojećega memorijskog sadržaja (68). Osim toga, dorzolateralni prefrontalni korteks i ventrolateralni prefrontalni korteks, koji su povezani s pretraživanjem memorije i kognitivnom kontrolom, također posreduju u regulaciji subkortikalnih limbičkih struktura (69). Izloženost stresu i traumatskim događajima ometa funkcioniranje PFC-a i dovodi do nesmotrenoga ponašanja, gubitka kontrole i sposobnosti održavanja pažnje, odnosno do svih karakterističnih simptoma PTSP-a (70).

#### **1.4. PTSP i kognicija**

PTSP je iscrpljujuća psihopatološka posljedica izloženosti traumatskom događaju i povezan je s visokom stopom morbiditeta i mortaliteta (71). Poremećaj karakteriziraju intruzivne misli, izbjegavanje, trajne negativne promjene kognicije i raspoloženja, uz pojačanu pobuđenost i reaktivnost (11). Bolesnici koji boluju od PTSP-a pokazuju uporne i intenzivne reakcije straha

kada su izloženi situacijama koje su povezane s prethodnim traumatskim događajem ili kada su situacije kontekstualno neprikladne te ih tumače kao prijetnju unatoč sigurnom kontekstu (72). Ključna je značajka PTSP-a oštećenje neurokognitivnih funkcija koje se uglavnom očituje deficitima pažnje i brzine obrade, izvršnih funkcija i verbalnoga učenja i pamćenja (73). Smatra se da je stupanj kognitivnoga oštećenja pozitivno povezan s težinom simptoma PTSP-a (74). Značajno je da neki od ovih kognitivnih deficita mogu utjecati na učenje, ali i na ponašanje koje blokira strahom izazvana sjećanja, tj. na ekstinciju straha (75). Neuroslikovne studije kod ljudi upućuju na ključnu ulogu „mreže straha“ u PTSP-u. Naime, regije koje čine „mrežu straha“ jesu amigdala, ventromedijalni prefrontalni korteks (vmPFC), prednji cingularni korteks i hipokampus (Slika 1.4.) i ključna su područja koja su temeljne regije povezane s etiologijom, progresijom i perzistiranjem PTSP-a (16).



Slika 1.4. Mreža straha kod ljudi

Kratice: vmPFC = ventromedijalni prefrontalni korteks; dACC = dorzalni dio prednjega cingularnog korteksa; Ami = amigdala; Hipo = hipokampus.

Preuzeto i prilagođeno prema Quinones MM, Gallegos AM, Lin FV, Heffner K. Dysregulation of inflammation, neurobiology, and cognitive function in PTSD: an integrative review. *Cogn Affect Behav Neurosci.* 2020;20(3):455–480.

Slika 1.4. prikazuje: Amigdala i dorzalni dio prednjega cingularnog korteksa pokazuju snažnu aktivaciju tijekom stjecanja i izražavanja straha. Ekstincija strahom izazvanih sjećanja i prisjećanje na tu ekstinciju snažno je povezana sa smanjenom aktivnošću ventromedijalnoga prefrontalnog korteksa i hipokampusa.

Važno je istaknuti da strukturna i funkcionalna povezanost unutar ovih regija mozga podržava preuzimanje strahom izazvanih sjećanja i njihovu ekstinciju (76). Upalni procesi također se



dovede u vezu s etiologijom PTSP-a, no rezultati studija koje su se bavile tom problematikom nisu konzistentni (77). Na temelju visokoga komorbiditeta PTSP-a i depresije, i na temelju studija koje povezuju depresiju s upalnim procesima (78), može se pretpostaviti da postoji veza između PTSP-a i upalnih procesa. Nalazi iz literature također pokazuju izrazit upalni profil kod bolesnika s PTSP-om koji u komorbiditetu imaju i depresivni poremećaj, za razliku od onih koji imaju samo PTSP, bez dijagnoze depresivnoga poremećaja (79).

#### **1.4.1. Amigdala**

Amigdala ili amigdaloidni kompleks heterogena je skupina jezgara i kortikalnih regija smještenih u medijalnom temporalnom režnju, rostralno od hipokampusa i repa *nucleus caudatus*. Smatra se jednim od bazalnih ganglija, a dio je limbičkoga sustava. Važan je centar za regulaciju različitih emocija i kognitivnih funkcija, a ima ključnu ulogu u kodiranju emocionalnih sjećanja te u percepciji i obradi straha. Povećana aktivnost u amigdali uključena je u stjecanje, konsolidaciju i ekspresiju straha (80). U studijama koje su koristile paradigmu kondicioniranja i ekstinkcije straha bolesnici s PTSP-om, u odnosu na osobe koje su izložene traumi, ali nisu razvile PTSP, pokazuju veću aktivaciju amigdale tijekom izloženosti averzivnom podražaju (faza uvjetovanja straha) (81). Na ograničenom broju studija na ljudima evidentirane su različite promjene unutar subnukleusa amigdale povezane s PTSP-om, smanjeni volumen lateralne, paralaminarne i superficijalne jezgre amigdale, a povećan volumen centralne, medijalne i kortikalne jezgre u bolesnika s PTSP-om u odnosu na osobe izložene traumi, ali bez dijagnoze PTSP-a (82). Jedna studija povezala je težinu simptoma PTSP-a s „uvlačenjem“ centromedijalne amigdale u uzorku veterana s PTSP-om koji su bili izloženi borbi (83).

#### **1.4.2. Ventromedijalni prefrontalni korteks**

PFC je zadužen za svjesni doživljaj emocija i širok raspon emocionalnih reakcija, odnosno afektivno procesiranje. Razlikuju se dorzolateralni, ventromedijalni i orbitofrontalni PFC (84). Podatci o oštećenju dorzolateralnoga PFC-a upućuju na povećanu vjerojatnost razvijanja depresivnih simptoma, što upućuje na utjecaj ovih kortikalnih dijelova na pozitivne afekte koji, kad su poremećeni, povećavaju vjerojatnost javljanja depresivne simptomatologije. Bechara i suradnici pronašli su podatak da bolesnici s bilateralnim lezijama

ventromedijalnoga PFC-a ne mogu anticipirati buduće pozitivne i negativne posljedice svojih ponašanja, iako neposredne posljedice nagrađivanja i kažnjavanja utječu na njihovo ponašanje (85). Dakle, ventromedijalno područje PFC-a vjerojatno je najizravnije uključeno u nastajanje osnovnih pozitivnih i negativnih stanja u odsutnosti neposredno prisutnih poticaja, dok dorzolateralni PFC vjerojatno sadrži ciljeve osobe (84). Upravo je smanjeni volumen i aktivnost ventromedijalnoga PFC-a jedan od biomarkera za PTSP (86). Studije pokazuju izravnu korelaciju između ventromedijalnoga PFC-a u ljudi i procesa ekstinkcije straha (87). Smanjena regulatorna aktivnost ventromedijalnog PFC-a povezana je s lošijim rezultatima učenja i s deficitom procesa konsolidacije i prisjećanja (88). Nalazi iz literature također pokazuju jasan obrazac povećane aktivacije ventromedijalnoga PFC-a tijekom uvjetovanja straha, ali smanjene aktivnosti tijekom učenja ekstinkcije straha među pojedincima s PTSP-om (89). Zanimljivo je da studije koje koriste druge zadatke, koji nisu povezani s uvjetovanjem i ekstinkcijom straha, pokazuju negativne korelacije između aktivacije ventromedijalnoga PFC-a i težine simptoma PTSP-a (90). Navedeno upućuje da smanjena aktivnost ventromedijalnoga PFC-a vjerojatno ima kompliciraniju ulogu u PTSP-u.

#### **1.4.3. Prednji cingulotorni korteks**

Prednji cingulotorni korteks poveznica je između limbičkoga sustava i onih struktura koje omogućuju sposobnost planiranja, rasuđivanja, i konceptualnih apstrakcija: više kognitivne funkcije smještene su u neokorteksu. Povezan je s procjenjivanjem i regulacijom emocija, kao i s usmjeravanjem pažnje na prijetnju, što će onda dalje poslužiti kao put odgovora na stres koji vodi do daljnje stimulacije autonomnoga živčanog sustava, odnosno povećanja simpatičke aktivnosti (91). Neuroslikovne studije pokazuju da pacijenti s PTSP-om imaju manji volumen dorzalnoga dijela prednjega cingulotornog korteksa, a što je onda, uz povećanu aktivnost dorzalnoga dijela prednjega cingulotornog korteksa, povezano s perzistirajućim simptomima PTSP-a (92). Jedna studija pokazala je da je aktivnost dorzalnoga dijela prednjega cingulotornog korteksa povezana s povećanim obiteljskim rizikom za razvoj PTSP-a (93).

#### **1.4.4. Hipokampus**

Hipokampus je cijela bilateralna struktura medijalnoga dijela sljepočnoga režnja sisavaca koja izgleda kao brežuljak što se izbočuje u donji rog lateralne komore. Spada u limbički sustav i

ima važnu ulogu u učenju i pamćenju te prostornoj orijentaciji. Otkriće „stanica mjesta“ (eng. *place cells*) dovelo je 1970. godine do teorije koja govori da hipokampus djeluje kao kognitivna mapa prostora, odnosno služi kao sustav za prostornu orijentaciju i memoriju (94). Studije o PTSP-u pokazale su da hipokampus ima vodeću ulogu u kodiranju i prepoznavanju znakova iz okoliša tijekom stjecanja straha i učenja ekstinkcije straha (95). Poremećena aktivnost u funkciji hipokampusa može dovesti do poremećaja u moduliranju kontekstualnih sjećanja što onemogućuje pojedincu s PTSP-om da napravi razliku između sigurnoga i prijetjećega konteksta (72). Studije također pokazuju da deficit funkcije hipokampusa u vrijeme izloženosti traumi kod pacijenata s PTSP-om može dovesti do loše povezanosti konteksta s traumatskim događajem (96), što onda dovodi do oštećenja pamćenja strahom izazvanih sjećanja i kasnije do generalizacije ekspresije straha u različite kontekste. Dakle, prethodno smanjena aktivnost hipokampusa mogla bi biti pokazatelj unaprijed postojeće ranjivosti za razvoj PTSP-a (89). Kod ispitanika s dijagnozom PTSP-a koji nisu prošli test ekstinkcije straha pronađena je smanjena aktivacija hipokampusa (87), a smanjena aktivnost mogla bi biti povezana sa smanjenim volumenom hipokampusa (97). Pacijenti kojima je dijagnosticiran PTSP imaju značajno manji volumen hipokampusa (98), čak i kad se uspoređuju s kontrolnim pojedincima koji su bili izloženim traumi, ali nisu razvili PTSP (99). Veći volumen hipokampusa povezan je s dobrim odgovorom na liječenje PTSP-a. Naime, pacijenti s PTSP-om koji su imali veći početni volumen hipokampusa postizali su bolje terapijske pomake u liječenju nakon primjene terapije, dakle, podatci upućuju da veći volumen hipokampusa potencijalno olakšava bolji terapijski odgovor i veći kapacitet za ekstinkciju strahom izazvanih sjećanja (100).

#### **1.4.5. Funkcionalna povezanost sklopa amigdala – ventromedijalni PFC – prednji cingularni korteks – hipokampus**

Funkcionalne abnormalnosti u „mreži straha“ upućuju na općenitu disfunkciju neuralnih krugova u PTSP-u (101). Neuroslikovne studije pokazuju dominantni okvir poremećene mrežne povezanosti, podržavajući „top-down“ regulaciju temporalnih struktura (tj. amigdala i hipokampusa) putem frontalnih regija u PTSP-u (102). Ispitanici s PTSP-om pokazuju izrazito smanjenu aktivnost ventromedijalnoga PFC-a koja korelira s povećanjem aktivnosti amigdale (103), pokazujući dosljednost ovoga uzorka aktivacije mozga u mreži straha kod PTSP-a (16). Izloženost podražajima koji su slični traumatskim značajno je smanjila

zadacima posredovanu funkcionalnu povezanost između desne amigdale i ventromedijalnoga PFC-a među ispitanicima s PTSP-om (104). U zdravih sudionika aktivacija dorzalnoga dijela prednjega cingularnog korteksa i deaktiviranje metabolizma ventromedijalnog PFC-a značajno korelira s većom aktivnošću amigdale u mirovanju, nadalje podupirući inhibitornu ulogu ventromedijalnoga PFC-a na amigdalom posredovanu ekspresiju straha i ulogu prednjega cingularnog korteksa u promociji istoga (105). Osim toga, težina simptoma PTSP-a, osobito pojačana pobuđenost, povezana je s negativnom povezanošću između medijalnoga PFC-a i amigdala (106). Kod zdravih osoba istodobna aktivacija amigdale i hipokampusa može biti važna za učenje kontekstualno uvjetovanoga straha (107). Ekstinkcija strahom izazvanih sjećanja dovodi do smanjene aktivnosti i ventromedijalnoga PFC-a i hipokampusa, što dodatno pokazuje ulogu ovih regija mozga u kontekstualnoj modulaciji ekstinkcije straha i na taj način doprinosi deficitima kontekstualne obrade (108). Smanjena aktivnost ventromedijalnoga PFC-a i hipokampusa, zajedno s povećanom aktivnošću amigdale i dorzalnoga prednjeg cingularnog korteksa, doista može biti temelj oslabljenih procesa ekstinkcije straha koje je i opaženo u bolesnika s PTSP-om (109). Posljednja istraživanja iz područja PTSP-a upućuju da je aktivnost i funkcionalna povezanost ovih regija mozga kompromitirana i kod PTSP-a, ali i da je osjetljiva na upalne procese (89). Novi nalazi su na tragu neuropalnih procesa koji su relevantni za razvoj, perzistiranje i progresiju PTSP-a (89). Treba istaknuti da su amigdala, PFC, prednji cingularni korteks i hipokampus također središnje regije za kogniciju, održavanje pažnje, brzinu obrade, izvršnu funkcije i pamćenje. Značajno je da neki od ovih kognitivnih procesa također mogu utjecati uvjetovanje i ekstinkciju straha (75). Dakle, potencijalna disregulacija upale, zajedno s poremećenom neuralnom povezanosti, mogla bi imati štetne implikacije na kognitivnu funkciju, a onda i na njezin doprinos trajnim simptomima PTSP-a (89).

### **1.5. Kognitivni deficiti u PTSP-u**

Kognitivni deficiti i PTSP povezani su zajedničkom etiologijom u smislu promjena u neurobiološkim putevima i povećanoga upalnog odgovora. Između kognicije i emocija postoje dvosmjere veze, što upućuje da bi kognitivni deficiti mogli imati središnju ulogu u razvoju, perzistiranju i ozbiljnosti simptoma PTSP-a, a što bi moglo objasniti i česti loš terapijski odgovor (110). Studije o PTSP-u pokazuju poremećaje pamćenja, dok su nedostak pažnje, brzina obrade i deficiti izvršnih funkcija evidentirani empirijski kliničkim

opservacijama (111). Evidentno je da je veza između PTSP-a i kognitivnih deficita dvosmjerna: kognitivni deficiti mogu biti dio psihopatologije PTSP-a ili mogu biti čimbenici rizika za nastanak PTSP-a (112). Zbirni podatci upućuju da središnja i periferna upala može imati štetne učinke na kogniciju (113). Kod mentalnih poremećaja, pa tako i depresije i anksioznosti, povećana upala povezana je sa slabljenjem kognitivnih funkcija (114). Upala doprinosi regulaciji neuronskih, molekularnih i staničnih procesa koji su u podlozi kognitivnih funkcija, uključujući i neuroplastičnost, neurogenezu i dugoročno potenciranje (115). Studije na životinjama pokazuju da upala ima središnju ulogu u neurokognitivnoj podlozi simptoma sličnih PTSP-u, uključujući učenje kondicioniranja i ekstinkcije straha (116). Vrlo su ograničeni podatci ljudskih studija o međudjelovanju upale i kognitivnih funkcija kod PTSP-a, što otvara mnoštvo pitanja za razumijevanje ovoga poremećaja. Nedavna presječna studija pokazala je da žene s PTSP-om pokazuju značajno veću razinu interleukina IL-6 i ukupno lošiju kognitivnu izvedbu (117). S obzirom na to da nalazi upućuju da je upala jedna od ključnih komponenta PTSP-a i u interakciji je s neuralnim putevima odgovorim za učenje kondicioniranja i ekstinkcije straha, moguće je da upravo te interakcije također doprinose smanjenju kognitivne funkcije kod bolesnika s ovim poremećajem (89).

### **1.5.1. Pažnja i brzina procesuiranja informacija**

Studije upućuju da su nedostatak pažnje i brzina obrade zadataka usko povezani s progresijom PTSP-a (118). Potencijalno uzajamno djelovanje upalnih i kognitivnih mehanizma u etiologiji, progresiji ili težini simptoma PTSP-a potvrđeno je u studiji koja povezuje upalu s deficitima pažnje i lošijom brzinom obrade (119). Težina simptoma PTSP-a povezana je sa slabijom izvedbom zadataka pažnje i do godinu dana nakon izloženosti traumatskom događaju (120). Najčešće simptomi PTSP-a koreliraju s nedostacima u neprekidnoj i selektivnoj pažnji (121), dok je izraženost simptoma PTSP-a u korelaciji s izrazito smanjenom sposobnošću otpora prema distraktorima (122). Dodatno, težina simptoma PTSP-a može dodatno utjecati na sposobnost zadržavanja pažnje na podražaje relevantne za zadatak i mogućnost selekcije irelevantnih informacija te teškoće u razlikovanju stimulusa koji nisu povezani s traumom (123). Zajedno svi ti nalazi upućuje na deficite u kontroli pažnje potrebne za odvratanje pažnje od podražaja povezanih s traumom kod pacijenata s PTSP-om (124). Pacijenti s PTSP-om također postižu lošije rezultate na vremenski ograničenim zadacima u usporedbi s njihovim zdravim kolegama, što također upućuje na sporost u brzini obrade

informacija (89). Dok ove studije upućuju da PTSP može imati neovisne veze s kognitivnim deficitima, drugi autori zaključuju da komorbiditet PTSP-a s upalnim stanjima pogoršava kognitivne deficite, uključujući brzinu obrade i pažnju, što dodatno komplicira kognitivne ishode kod osoba s PTSP-om (125). Treba istaknuti da je u uzorku žena koje su doživjele nasilje intimnoga partnera, težina simptoma PTSP-a bila povezana s lošijim učinkom na zadatcima s vremenskim ograničenjem i lošijim egzekutivnim funkcijama, što upućuje da spora brzina obrade negativno utječe na performanse egzekutivnih funkcija (126). Sve u svemu, ovo usporevanje brzine obrade informacija kod bolesnika s PTSP-om može se pripisati smanjenju resursa pažnje zbog aktivnih kognitivnih napora usmjerenih na suočavanje sa psihološkim distresom (127). Mreža procesuiranja informacija i pažnje kod oboljelih od PTSP-a pokazuje nesrazmjer u aktivaciji prilikom izlaganja prijetećem i neprijetećem sadržaju (128). Nedavno je jedna studija predložila mehanizam globalne moždane mreže koji klinički prati simptome PTSP-a i deficite pažnje povezane s PTSP-om (129). Njihovi rezultati pokazali su da su povećana funkcionalna segregacija zadanoga načina rada mreže i okcipitalnoga korteksa povezani s održavanjem pažnje kod bolesnika s PTSP-om (129). S obzirom na to, pažnja, brzina obrade i učenje mogli bi biti u interakciji putem frontokortikalnih puteva (130), a i s obzirom na to da je frontalna povezanost vrlo osjetljiva na upalu, može se zaključiti da kombinirani učinci upale, deficiti pažnje i manjak brzine obrade potencijalno imaju ulogu u oblikovanju traumatskoga sjećanja.

### **1.5.2. Izvršne funkcije**

U skladu s neurobiološkim modelom po kojem su poremećaj prefrontalne povezanosti i loša izvedba zadataka posredovana prefrontalnim putem povezani s upalom, PTSP se povezuje s nedostacima izvršne funkcije (131). Pacijenti s dijagnosticiranim PTSP-om pokazuju lošije izvedbe izvršnih funkcija na mjernim skalama u usporedbi s pojedincima izloženim traumi, a koji ne razviju PTSP (132). Nedavna studija istraživala je uzorak pojedinaca izloženih ratnom i političkom nasilju, a rezultati su pokazali da je trenutna razina, odnosno težina simptoma PTSP-a povezana s deficitom izvršnih funkcija, čak i nakon dvadeset godina od izloženosti traumi (133). Dugoročni učinci izloženosti traumi na izvršne funkcije također su potkrijepljeni nalazima na pojedincima koji su preživjeli prirodne katastrofe i koji su ranije imali već dijagnosticiran PTSP, bez obzira na to perzistira li još uvijek PTSP (134). Pojedinci su nastavili pokazivati oslabljenu kognitivnu fleksibilnost i verbalnu fluentnost, što bi

govorilo u prilog deficitima prefrontalne organizacije (134). Komorbiditet s drugim psihijatrijskim poremećajima može pogoršati te deficite, što pak može dovesti do toga da pacijenti postanu otporniji na liječenje. Na primjer, pacijenti s PTSP-om, s komorbidnom depresijom pokazuju veće oštećenja izvršnih funkcija na mjernim skalama (135). Zanimljiv je i podatak da su u depresiji povezanoj s traumom iz djetinjstva povišene razine perifernih citokina bile izrazito povezane s izvršnom disfunkcijom (136). S obzirom na to da su deficiti izvršne funkcije i upala također obilježje depresije (137), komorbiditet s PTSP-om može zakomplicirati klinički profil pacijenata što vodi prema vrlo lošoj prognozi i lošijem odgovoru na liječenje. Iako postoje brojni nalazi o deficitima izvršne funkcije u PTSP-u, ostaje nejasno koji su aspekti izvršnih funkcija ugroženiji ili se radi o globalnoj izvršnoj disfunkcionalnosti kod oboljelih od PTSP-a (138). Ranije istraživanja također upućuju na to da je sama izloženost traumi bez postavljene dijagnoze PTSP-a dovoljana za razvoj deficita izvršnih funkcija. Na primjer, kod osoba koje su preživjele teško nasilje evidentirane su lošije izvedbe na zadacima radne memorije i inhibicije, bez obzira na prisutnost PTSP dijagnoze (139). Postoje, međutim, konvergentni podatci koji pokazuju da je PTSP najjače povezan s deficitom inhibicije, odnosno poteškoćama inhibicije automatskoga ili neprikladnoga odgovora (140). Studije s veteranima pokazuju da intenzivniji simptomi PTSP-a snažno koreliraju s lošijim učinkom na zadacima inhibicije, u većoj mjeri nego s drugim domenama izvršnih funkcija, poput prebacivanja zadataka, kognitivne fleksibilnosti i radne memorije (141). U skladu s time nalazi pokazuju da je stabilnost procesa kognitivne kontrole – indeksirana varijabilnošću u reakcijskom vremenu i ponašajnom odgovoru – kompromitirana u bolesnika s PTSP-om (89). U uzorku koji uspoređuje pojedince s i bez PTSP-a, veća varijabilnost u reakcijskom vremenu tijekom zadataka inhibicije pokazana je samo među onima s dijagnozom PTSP-a (142). Ova varijabilnost u reakcijskom vremenu dodatno je povezana s samoizvještavanjem o simptomima PTSP-a i s impulsivnosti pažnje. Značajno je da postoji mogućnost dvosmjernoga odnosa između deficita u inhibiciji i PTSP-a. Premorbidni deficiti s inhibitornom kontrolom mogli bi dovesti do poteškoća „oslobađanja“ od sjećanja i znakova povezanih s traumom, što pak vodi većoj vjerojatnosti razvoja i perzistiranja PTSP-a (118). S druge strane, simptomi PTSP-a, poput intruzivnih misli i hipervigilnosti, dodatno smanjuju sposobnost za inhibiciju reakcija ponašanja i emocija. Općenito, ovi nalazi podržavaju model oslabljene inhibitorne kontrole kod PTSP-a, u skladu s deficitima od vrha prema periferiji ili „top-down“ regulacije procesa kognitivne kontrole, a što bi potencijalno moglo objasniti uočene teškoće u ponašanju i regulaciji emocija u bolesnika s PTSP-om (110). Osim uloge

koju imaju u svakodnevnom funkcioniranju, adekvatne izvršne funkcije potrebne su da bi se koristili intervencijama koji se oslanjaju na kognitivne procese koji olakšavaju regulaciju emocija i mijenjanje maladaptivnih misli i ponašanja (143). Dakle, deficiti izvršnih funkcija ili temeljna neučinkovita inhibicijska povezanost neuronske mreže mogla bi smanjiti učinkovitost uobičajenih intervencija temeljenih na dokazima i usmjerenih na traumu u terapiji PTSP-a. Također, navedeni deficiti mogli bi umanjiti učinke farmakološkoga liječenja simptoma PTSP-a. Na primjer, u bolesnika s velikom depresivnom epizodom, koji imaju veći deficit izvršnih funkcija, pronađen je lošiji odgovor na liječenje antidepresivima (144). S obzirom na navedeno, čini se da je inhibitorni odgovor specifičan aspekt izvršnih funkcija koji negativno utječe na stopu odgovora na antidepresive (145). Neka istraživanja pretpostavljaju da antidepresivi, farmakološki tretman, odnosno lijekovi izbora za PTSP, pokazuju protuupalno djelovanje (146). No, ti učinci možda nisu dovoljni za značajno ublažavanje interakcije između upale i izvršnih disfunkcija, pa deficiti izvršnih funkcija mogu perzistirati unatoč tome što su antidepresivi utjecali na raspoloženje i ponašajne simptome PTSP-a.

### **1.5.3. Pamćenje**

Deficiti pamćenja kod PTSP-a predmet su istraživanja brojnih studija. Smatra se da upalno signaliziranje ima ključnu ulogu u poremećajima učenja i pamćenja u PTSP-u (147). Patofiziološki model PTSP-a, koji se temelji na upalnim procesima, govori u prilog tome da upravo upala može imati ključnu ulogu u deficitima pamćenja, a koji su među najčešćim kognitivnim smetnjama kod PTSP-a. Disfunkcija hipokampusa može dovesti do gubitka odgovora i kontekstne osjetljivosti pri kondicioniranju strahom što rezultira memorijskim deficitom, što pak dovodi do slabe integracije traumatskoga događaja u bolesnika s PTSP-om (148). Studija o povezanosti deficita pamćenja i PTSP-a izvijestila je o odstupanjima prilikom stjecanja pamćenja i podsjećanja, a što je povezano sa smanjenom sposobnošću konsolidacije pamćenja (149). Najčešće detektirani deficiti u memorijskoj funkciji kod bolesnika s PTSP-om deficiti su u epizodnom pamćenju (150), uz oštećenja vidne memorije (151) i autobiografskoga sjećanja (152). Deficiti pamćenja također mogu predvidjeti ishode liječenja i bihevioralnih intervencija. Pacijenti s PTSP-om koji nisu odgovorili na kognitivno bihevioralnu terapiju pokazali su znatno lošije rezultate na mjerama verbalnoga pamćenja u usporedbi s onima koji su odgovorili na terapiju (153). Postoje pretpostavke da poremećaj

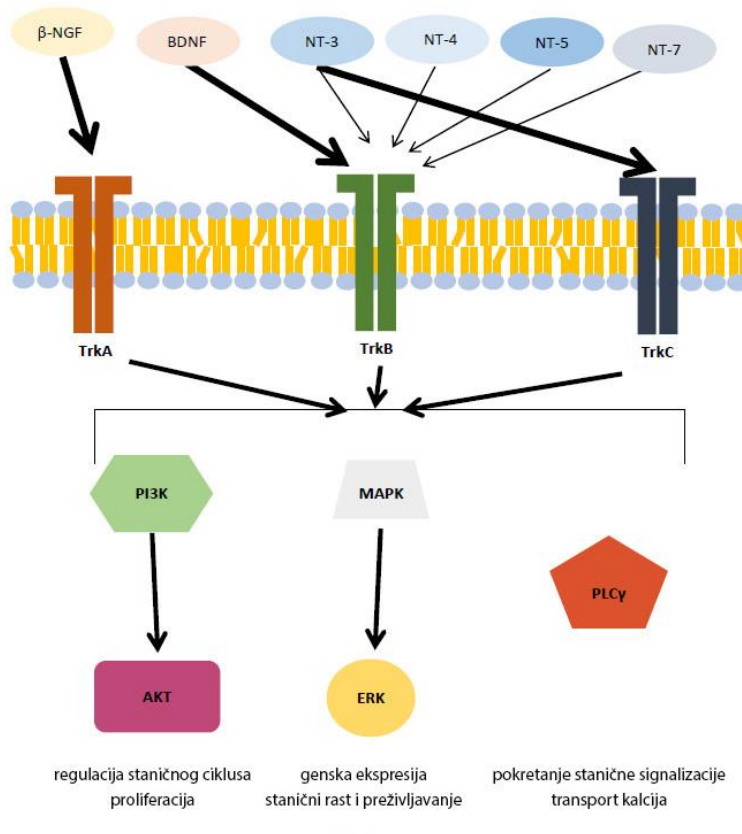


pamćenja može biti posljedica deficita u drugim kognitivnim domenama. Na primjer, poteškoće u sposobnosti supresije impulzivnih misli u PTSP-u mogu odražavati opći neuspjeh u izvršnoj kontroli, pa je moguće da upravo ti deficiti uzrokuju zbunjujuće rezultate na specifičnim memorijskim testovima koji uključuju organizacijske strategije i izvršnu kontrolu (154). Predlaže se da su memorijski deficiti kod PTSP-a povezani s poteškoćama u strateškom kodiranju i pronalaženju informacija, pokazujući da prefrontalni putevi također doprinose deficitima pamćenja u PTSP-u (155). Podupirući ovu teoriju, i nedavna istraživanja upućuju na to da poremećaji u prefrontalno-hipokampalnim krugovima doprinose kognitivnoj disfunkciji, uključujući pamćenje, kod depresije i Alzheimerove bolesti (156), a oba poremećaja povezana su i s patofiziološkim modelom upale. Druga je pretpostavka da deficiti pažnje dovode do disfunkcija u kodiranju te je studija koja je istraživala održavanje pažnje i učinaka potpunoga učenja u odabranim memorijskim zadacima pokazala da se dugoročno pamćenje značajno razlikuje između veterana izloženih borbenom iskustvu s ili bez PTSP-a te da su memorijski deficiti kod PTSP-a povezani s poremećajima pažnje (157). Dodatni problem u studijama koje su ispitivale memorijske deficite kod PTSP-a provedba je na skupinama s komorbidnom psihijatrijskim poremećajima. Dok neki rezultati o komorbiditetima kod PTSP-a upućuju da PTSP ima neovisan učinak na memoriju (151), drugi rezultati pokazuju da depresija osobito doprinosi poremećaju pamćenja i sveukupnom kognitivnom deficitu kod PTSP-a (158).

### **1.6. Moždani neurotrofni čimbenik (BDNF)**

Jedna od bioloških molekula koje utječu na kogniciju, ali je i promijenjena u stresu, jest moždani neurotrofni čimbenik (BDNF). BDNF je neurotrofin koji ima vrlo važnu ulogu u rastu i sazrijevanju neurona, diferencijaciji, sinaptičkom prijenosu, moduliranju neurotransmisije posredovane brojnim neurotransmitorima i odgovoru na lijekove za liječenje depresije (159). BDNF je važan čimbenik neurorazvoja općenito, a ujedno i važan čimbenik za razvoj i preživljavanje kolinergičkih, GABAergičkih, dopaminergičkih i serotonergičkih neurona (160). BDNF je član porodice neurotrofina i ostvaruje svoje učinke putem vezanja na dvije vrste receptora: porodicom tropomiozin-receptor-kinaza (Trk) koji su preferirani receptori za zreli protein BDNF i pan neurotrofinskim receptorom (p75NTR), za koje se veže prekursorski oblik ili pro-BDNF.

Shematski prikaz vezanja neurotrofina na Trk receptore prikazan je na Slici 1.5.



Slika 1.5. Neurotrofini i Trk receptori

Preuzeto i prilagođeno prema Budni J, Bellettini-Santos T, Mina F, Garcez ML, Zugno AI. The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease. *Aging Dis.* 2015;6(5):331–41.

Kratice:  $\beta$ -NGF = čimbenik rasta živaca, BDNF = moždani neurotrofni čimbenik, NT = neurotrofin, Trk = tropomiozin-receptor-kinaza, PI3K = fosfatidilinozitol 3-kinaza, MAPK = mitogenom aktivirana protein kinaza, AKT = serin treonin kinaza, ERK = izvanstaničnim signalom regulirana kinaza, PLC $\gamma$  = fosfolipaze C gama.

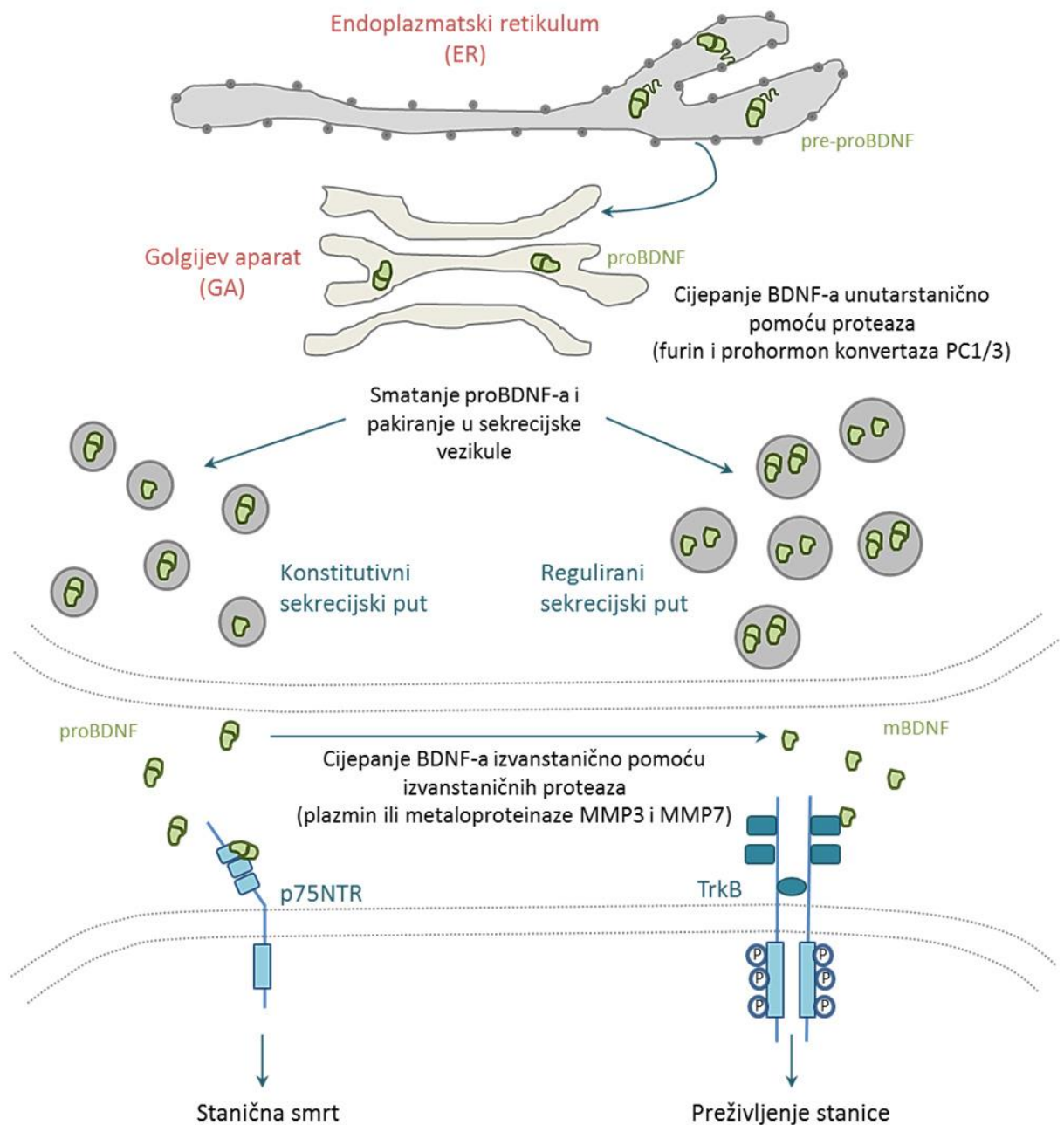
### 1.6.1. Sinteza, otpuštanje i signalni putevi moždanoga neurotrofnog čimbenika

Izražavanje BDNF-a regulirano je procesima transkripcije i translacije, kao i posttranslacijskim procesima. Prisutnost složene regulacije na više razina pokazuje važnost i raznolikost funkcija BDNF-a. Transkripciju kontrolira više promotora koji određuju

ekspresiju ovisnu o aktivnosti i tkivu (161). Kod miševa u laboratoriju identificirana su najmanje četiri BDNF promotora (162), od kojih svaki potiče transkripciju mRNA koje sadrže jedan od osam nekodirajućih egzona spojenih na uobičajenih 30 kodirajućih egzona koji proizvode heterogenu populaciju BDNF transkripcije. Spajanje BDNF-a opisano je za nekoliko vrsta, uključujući ljude (163), miševe (164) i štakore (162).

BDNF se sintetizira kao prekursor proBDNF koji se može pohraniti u dendrite ili aksone (163), a prolazi procese unutarstaničnoga i izvanstaničnoga cijepanja (164) kako bi se proizveo zreli oblik proteina BDNF. Prooblici promoviraju apoptozu putem vezanja na receptore pan neurotrofinski receptor (p75NTR), za razliku od zrelih oblika koji imaju suprotno djelovanje, izazivaju preživljavanje, potiču rast i razvoj neurona i regeneraciju neurona nakon oštećenja i vežu se na druge, TrkB receptore. Nezreli protein (proBDNF) veže se na receptor p75NTR i aktivira više signalnih molekula među kojima su i jezgrin faktor  $\kappa B$  (NF- $\kappa B$ , engl. *Nuclear Factor  $\kappa B$* ), c-Jun N-terminalna kinaza (JNK) te RhoA (protein koji veže gvanozin-trifosfat), te na taj način negativno modulira morfologiju dendrita i gustoću dendritičkih trnova (165).

Sinteza i sekrecija BDNF-a prikazana je na Slici 1.6.



Slika 1.6. Sinteza i sekrecija moždanoga neurotrofnog čimbenika.

Preuzeto i prilagođeno prema Reichardt LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2006;361(1473):1545-64.

Kratice: BDNF, moždani neurotrofni čimbenik; p75NTR, pan neurotrofinski receptor; Trk, tropomiozinreceptor-kinaza. Zreli BDNF (mBDNF) nakon izlučivanja iz stanice veže se na TrkB i potiče dimerizaciju i autofosforilaciju ovoga receptora te time aktivira nizvodno više signalnih putova koji završavaju aktivacijom kinaze Akt (protein-kinaza B), enzima koji je važan u procesima translacije proteina i preživljavanju stanica.

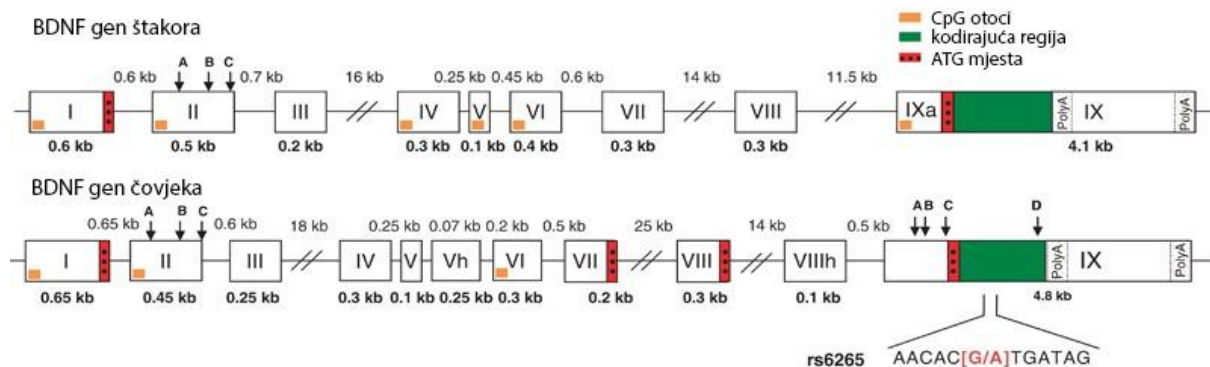
Većina do danas poznatih transkripata gena *BDNF* eksprimirana je u moždanom tkivu, no pokazano je da postoji ekspresija određenih transkripata ovoga gena i u perifernim tkivima kao što su srce, posteljica, prostata, testisi, pluća, bubrezi, jetra itd. (166). Transkripti koji sadrže eksone II, III, IV, V i VII u pravilu su specifični za moždano tkivo, dok su transkripti s eksonom VI i IX prisutni u većini tkiva i organa (166). Pruunsild sa suradnicima pokazao je da postoji i nekodirajuća antisense RNA koja se prepisuje s lokusa gena *BDNF* (antiBDNF), a gen antiBDNF ima najmanje deset eksona i bar jedan funkcionalni promotor uzvodno od prvoga eksona (166).

### **1.6.2. Gen *BDNF***

Protein BDNF kodiran je s genom *BDNF* smještenom na kromosomu 11, regiji p13–14, sadrži 11 eksona (166). Transkripcija gena *BDNF* može započeti s 9 različitih promotora koji, u kombinaciji s procesom alternativnoga prekrajanja introna, daju 34 do sada poznata transkripta koji se eksprimiraju različito u odgovoru na razne podražaje (167). Prijenos BDNF-a u dendritima i njegova sinaptička lokalizacija ovise o prodomeni ovoga proteina. Od velikoga broja polimorfizama najčeće se istražuju dva funkcionalna polimorfizma na genu BDNF i to su BDNF Val66Met (rs6265) i BDNF C270T (rs56164415). I jedan i drugi navedeni polimorfizam povezani su s raznim neuropsihijatrijskim poremećajima (168).

### **1.6.3. BDNF Val66Met polimorfizam (rs6265)**

Radi substitucije nukleotida G/A u BDNF Val66Met polimorfizmu dolazi do zamjene aminokiseline valin (Val) s aminokiselinom metionin (Met) na kodonu 66 prekursorskoga BDNF-a i taj se polimorfizam naziva rs6265 ili Val66Met polimorfizam (Slika 1.7.), (169). Smanjena sekrecija zreloga BDNF proteina povezana je s Met alelom, a što je također povezano s poremećenim staničnim procesiranjem, prometom i uskladištenjem prekursorskoga BDNF-a (170).



Slika 1.7. Organizacija gena BDNF

Preuzeto i prilagođeno prema Boulle F, van den Hove DL, Jakob SB, Rutten BP, Hamon M, van Os J, Lesch KP, Lanfumey L, Steinbusch HW, Kenis G. Epigenetic regulation of the BDNF gene: implications for psychiatric disorders. *Mol Psychiatry*. 2012;17(6):584–96.

U europskom uzorku postoji otprilike 30 % Met nosioca što predstavlja visoku zastupljenost (171) i u nekim je studijama pronađena njegova povezanost s nižom serumskom razinom BDNF-a (172). Postoje i značajne etničke razlike u polimorfizmu BDNF Val66Met, što je pokazala studija Pivac i sur. iz 2009. (173). Prema navedenoj studiji, koja je istraživala etničke razlike kod korejskih i hrvatskih zdravih sudionika, utvrđena je značajno niža učestalost alela „Met“ i značajno veća učestalost alela „Val“ kod hrvatskih u odnosu na raspodjelu kod korejskih zdravih ispitanika (173). Taj rad pokazuje važan utjecaj etničke pripadnosti u istraživanjima raspodjele BDNF Val66Met genotipova u različitim psihijatrijskim poremećajima (173).

Ovaj je polimorfizam jedan od glavnih ciljeva u istraživanju funkcije BDNF-a. Prve dvije genetičke studije koje su istraživale BDNF Val66Met polimorfizam objavljene su 2002. godine (174, 175). Posljednjih petanaestak godina prepoznata je važnost uloge BDNF-a u mozgu te su objavljenе mnoge studije o povezanosti BDNF polimorfizama, a ponajviše o Val66Met polimorfizmu i njegovom utjecaju na moždane funkcije i ponašanje, kako kod zdravih pojedinaca, tako i kod patoloških stanja, posebice kod neuropsihijatrijskih poremećaja (176). Navedeno potvrđuje i podatak da kada se u PubMed tražilici upišu ključne riječi „*bdnf val66met* ili *rs6265* ili *bdnf g196a* ili *bdnf 196g/a* ili *bdnf 196a/g*”, nalazi se 1685 radova povezanih s ovim polimorfizmom, a koji su objavljeni do 9. listopada 2022. godine. Iako

velik broj studija upućuje na mogući gentski utjecaj ovoga BDNF polimorfizma na bolesti i moždane funkcije (176), također i dio studija opovrgava navedeno. Kontradiktorni rezultati o povezanosti BDNF Val66Met polimorfizma i različitih poremećaja najvjerojatnije su rezultat utjecaja mnogih čimbenika kao što su dob, spol, okolišni čimbenici te etnički i gentski modeli koji su korišteni u istraživanjima (177).

#### **1.6.4. BDNF C270T (rs56164415)**

Polimorfizam jednostrukoga nukleotida BDNF C270T smješten u 5' nekodirajućoj regiji gena BDNF (178). Prema studiji Nagata i suradnici iz 2011. godine ovaj polimorfizam ima utjecaj na ekspresiju BDNF-a (179) i može dovesti do kvantitativnoga disbalansa BDNF-a u specifičnim regijama mozga (178). U literaturi postoji puno manje rezultata za ovaj polimorfizam i neuropsihijatrijske bolesti. Prema PubMed tražilici na ključne riječi „BDNF C270T ili rs56164415“ nalazi se 68 radova povezanih s ovim polimorfizmom, a koji su objavljeni do 9. listopada 2022. godine.

#### **1.7. Uloga BDNF-a u kogniciji**

Ekspresija proteina BDNF mijenja se tijekom razvoja i sazrijevanja mozga, a najveća mu je koncentracija u PFC-u i hipokampusu (180). BDNF potiče neurogenezu i plastičnost neurona te ostale procese koji doprinose poboljšanoj funkciji hipokampusa, što ima značajan utjecaj na memoriju i učenje. Studije su pokazale da se BDNF mRNA nalazi u relativno niskim koncentracijama tijekom ranoga embrionalnog razvoja i života, a povećava se prema odrasloj dobi, posebice u određenim regijama hipokampusa. To je dokaz važne uloge BDNF-a u razvoju mozga (181). Starenjem, ali i različitim stresovima smanjuje se koncentracija BDNF-a. Smatra se da BDNF ima vrlo važnu ulogu u regulaciji plastičnosti mozga i fosforilaciji (182). Također, BDNF ima jednu od ključnih uloga u dugotrajnoj potencijaciji (LTP, engl. *Long-Term Potentiation*). Proces dugoročnoga povećanja jačine prijenosa signala između dva neurona je proces LTP (183), i smatra se staničnim ekvivalentom učenja i memorije, te je ovisan o djelovanju BDNF-a. U LTP-u ključna je presinaptička uloga proteina BDNF koji povećava broj sekrecijskih vezikula, olakšava njihovo usidranje i fuziju s membranom te na taj način inducira dugotrajne strukturne promjene u dendritičkim trnovima koji tvore sinapse sa susjednim neuronima (184). Pretpostavlja se da je LTP način na koji se mozak mijenja kao odgovor na iskustvo, pa predstavlja jedan od mogućih mehanizama u osnovi učenja i

pamćenja. Vezano uz navedeno, BDNF je bitan dio staničnoga mehanizma kojim se putem sinaptičke konsolidacije podržava formiranje i održavanje memorije (185). BDNF također može povećati broj, veličinu i složenost dendrita, vjerojatno nereguliranom polimerizacijom aktina (186). BDNF povećava neurogenezu kroz promjene u preživljavanju stanica i njihovoj proliferaciji (187). Smatra se da promjene u sinaptičkim vezama podržavaju pohranu memorije. Postoje podatci koji izravno povezuju BDNF s učenjem i memorijom (188). Na primjer, studija Heldt i suradnika opisuje BDNF kao mogućega posrednika plastičnih promjena na kojima se temelje prostorni procesi i memorijski procesi prepoznavanja (188). Dakle, BDNF je povezan s različitim kognitivnim procesima uključujući učenje, pamćenje, odgovor na stres, zapravo sa svim onim procesima koji su promijenjeni u PTSP-u.

Smanjenje neurotrofne signalizacije jedan je od glavnih uzroka deficita plastičnosti mozga koja se događa fiziološkim procesom starenja. BDNF pripada skupini neurotrofina s utjecajem na plastičnost mozga, a time i na kogniciju. Od kada se uvidjelo da su promjene u neuronskoj aktivnosti uz disfunkciju sinaptičke plastičnosti povezane s lošijim učinakom u različitim kognitivnim zadacima (189), potaknuta su istraživanja koja bi povezala promjene u koncentraciji BDNF-a s promjenama kognicije povezanih sa starenjem i srodnim promjenama u strukturnom i funkcionalnom integritetu neuronskih mreža (190). Studija Mattson i sur. iz 2004. pokazuje da postoji povezanost između oštećenja kognitivnih funkcija koje ovise o dobi i smanjene ekspresije BDNF-a u primarnim područjima mozga pogođenim starenjem (191). Međutim, drugi podatci nisu potvrdili navedeni utjecaj i povezanost (192).

Nadalje, opisana je snižena koncentracija BDNF-a kod starijih osoba popraćena smanjenjem ekspresije i/ili aktivacije TrkB receptora, što pak dovodi do povećanje razine proBDNF i p75NTR, a što bi pak upućivalo na prisutnost dodatnih deficita povezanih s dobi u putevima signalizacije BDNF-a procesima sazrijevanja BDNF-a (171). Uočena je i indukcija BDNF transkripcije na testovima uvjetovanja straha kod ostarjelih štakora, što upućuje da starenje nije samo povezano sa smanjenjem ekspresije neurotrofina u uvjetima mirovanja, već može biti povezano i s funkcionalnim oštećenjem u odgovoru na specifični zadatak, što je u skladu sa već prethodno spomenutom ulogom BDNF-a u aktivaciji i o iskustvu ovisnim strukturalnim i funkcionalnim konekcijiskim promjenama (171).

Postoje i podatci koji opisuju i porast koncentracije BDNF-a tijekom starenja (193), a što bi moglo uputiti na zaključak da smanjenje koncentracije BDNF-a u hipokampusu nije dio



mehanizama koji su uključeni u kognitivne promjene koje se javljaju procesom starenja. Međutim, smrt neuronskih stanica nesumnjivo je važan element kognitivnoga oštećenja povezanoga s dobi, a kao prolazan i kompenzatorni odgovor na opisanu neuronsku degeneraciju upravo bi moglo biti povećanje razine hipokampalnoga BDNF-a zabilježeno u nekim studijama (194, 195, 193).

Budući da mjerenje koncentracije BDNF-a u mozgu *in vivo* nije moguće, studije na ljudima temelje se na podacima o koncentracijama BDNF-a izvan središnjega živčanog sustava. S obzirom na to da postoje nalazi da BDNF može prijeći krvno-moždanu barijeru (196), pretpostavlja se da je BDNF u krvi približan koncentraciji BDNF-a u mozgu što potvrđuju i rezultati dobiveni na štakorima (197). Usprkos tome, funkcionalni značaj BDNF-a u krvi (serumu i plazmi) i dalje je predmet rasprave. S obzirom na to da se BDNF također izlučuje na nekoliko perifernih mjesta kao što su trombociti, limfociti i stanice skeleta glatkih mišića, dovodi se u pitanje ideja da BDNF može prijeći krvno-moždanu barijeru (198). Potencijalni uzrok nedosljednosti prijavljenih u razinama BDNF-a između studija može se objasniti i metodološkim razlikama jer nije isto određuje li se pro-oblik ili zreli oblik BDNF-a jer samo neki testovi mogu razlikovati zreli BDNF od pro-BDNF-a, a s obzirom na to da oba oblika mogu imati suprotne učinke, navedeno svakako treba uzeti u obzir (199).

Potvrđena uloga BDNF-a u plastičnosti mozga razlog je za hipotezu da smanjenje koncentracije BDNF-a može biti štetno za normalno funkcioniranje mozga. Njegovi trofički učinci na hipokampalne neurone imaju važnu ulogu u suzbijanju štetnih učinaka neuronske degeneracije (200). Visoka koncentracija BDNF-a u hipokampusu povezana je i s preživljavanjem i s diferencijacijom progenitornih stanica dentalnoga girusa u odraslih (201), a niske su koncentracije BDNF-a povezane s nedostatnom neurogenezom u starijih životinja (202).

Mnogi okolišni i hormonalni čimbenici poput tjelesne vježbe, kalorične restrikcije i razine estrogena mogu utjecati na razinu BDNF-a, što je dodatni izazov za istraživanja koja povezuju BDNF s oštećenjem pamćenja povezanoga s dobi i hipokampalnom atrofijom. Uz to i određene genske varijante gena za *BDNF* mogu modulirati učinak tjelesnih vježbi na epizodnu memoriju i volumen mozga (203). Istraživanja pokazuju da samo Val homozigoti, s obzirom na Val66Met polimorfizam, imaju koristi od tjelesnih vježbi s većim volumenom

medijalnoga temporalnog režnja i hipokampalne sive tvari, dok kod nosioca Met alela učinak nije pronađen (203).

Proces starenja praćen je gubitkom memorijske funkcije. Na proces starenja osjetljivija su epizodna sjećanja nego proceduralna ili nedeklarativna sjećanja (204). Unutar epizodne memorije neki aspekti mogu biti podložniji starenju od drugih. Na primjer, zadatci asocijativne memorije koji zahtijevaju povezivanje više različitih informacija mogu biti osjetljiviji na proces starenja što je naročite u prostornom snalaženju i prepoznavanju drugih osoba (205). Upravo je BDNF molekula ta koja bi mogla pomoći pri uspostavljanju poveznice između molekularnih i biokemijskih promjena i modela nedostatka specijalnoga i prepoznavajućega pamćenja povezanih sa starenjem (171). Preciznije, budući da je optimalna kognitivna funkcija povezana s učinkovitom plastičnošću neurona, moguće je da ti nedostaci pamćenja budu povezani s promjenama u izražavanju i regulaciji proteina povezanih s plastičnošću kao što je BDNF, čiji izraz utječe na starenje mozga te je ključan za memoriju, a posebno za razlikovanje sličnih sjećanja (171).

Smanjene razine BDNF-a zabilježene su ne samo kod fiziološkog starenja već i u patološkim stanjima uključujući Huntingtonovu, Alzheimerovu bolest i Parkinsonovu bolest (206, 207). S obzirom na ulogu BDNF-a u plastičnošću mozga, pokazana je povezanost između ekspresije BDNF-a i kognitivnih simptoma povezanih s patološkim oštećenjima pamćenja (208).

Procjene nasljednosti za opću kognitivnu funkciju, na temelju polimorfizma jedne baze (SNP-a), bile su približno od 20 do 30 % te bi se procjene mogle povećati na 50 % ako se koriste obiteljski dizajn (zbog potencijalnoga doprinosa rjeđih SNP-ova) (209).

### **1.7.1. BDNF Val66Met polimorfizam i kognicija**

BDNF Val66Met polimorfizam povezan je sa strukturalnim i funkcionalnim promjenama u mozgu, poput sinaptičke plastičnosti (210) i s procesima pamćenja (211). Strukturalne promjene uključuju smanjenje volumena u određenim regijama, i to hipokampusa, parahipokampalnog girusa, PFC-a i amigdala (212). Nosioci Met alela, s obzirom na BDNF Val66Met, pokazuju lošije rezultate na memorijskim testovima, verbalnim i radnim zadacima, kao i lošiju specijalnu percepciju (213). Budući da se većina studija bavila

istraživanjem povezanosti ovoga polimorfizma i radnih zadataka kao i verbalne memorije, povezanost sa složenim kognitivnim funkcijama predmet je daljnjih istraživanja (214). Rezultati studija dosta su oprečni. Yogeetha i sur. (2013) istraživali su utjecaj prisutnosti Met alela na različite vrste pamćenja, a rezultati istraživanja pokazali su utjecaj jedino na spacijalnu percepciju i vizualno pamćenje. Kambeitz i suradnici proveli su 2012. godine (215) tri zasebne meta-analize kako bi utvrdili utjecaj polimorfizma Val66Met na deklarativnu memoriju, volumen i aktivaciju hipokampusa kod ljudi. Rezultati pokazuju da je sve navedeno sniženih vrijednosti kod nositelja Met alela u usporedbi s Val homozigotima, a isto nije povezano sa slučajnim varijablama kao što su dob, spol ili dijagnoza (215). Meta-analiza iz 2018. godine potvrdila je povezanost BDNF Val66Met i kognicije; rezultati pokazuju da su se homozigoti Val/Val bolje snašli u memorijskim zadacima, dok su nositelji Met alela pokazali poboljšane neurokognitivne performanse u izvršnoj funkciji (216). Mandelman i Grigorenko proveli su metaanalizu u kojoj nisu otkrili značajnu povezanost između BDNF-a i Val66Met polimorfizma i nekoliko fenotipova uključujući opće kognitivne sposobnosti, pamćenje, izvršne funkcije, vizualne sposobnosti obrade i kognitivnu fluentnost, a pretpostavili su i hipotezu za objašnjenje ove nedosljednosti u literaturi te su predložili da kognitivne fenotipe treba kategorizirati ovisno o uključenim putevima aktivacije mozga umjesto da se grupiraju po ponašajnim sličnostima (214).

Iako neke studije nisu mogle potvrditi povezanost između genotipa Val66Met i memorije (217, 218, 219), postoje i rezultati koji povezuju polimorfizam BDNF-a i memoriju (171). Postoji mogućnost da su razlike između utjecaja gena *BDNF* tijekom života i nekontroliranih varijabli poput spola, stresa i fizičke aktivnosti, za koje je poznato da utječu na razine BDNF-a, kod određenih uzoraka dovele do ublažavanja toga utjecaja (171). Nadalje, nosioci Met alela mogli bi kompenzirati sniženu razinu BDNF-a (171). Upravo fMRI studije upućuju na povećanu aktivnost medijalnoga temporalnog režanja tijekom rješavanja epizodnoga memorijskog zadatka kod nosioca Met alela u usporedbi s onima koji nisu Met nosioci, a to bi moglo „sakriti“ potencijalni deficit (220). Zaključno, studije upućuju da prisutnost Met alela može biti povezana s lošijim kognitivnim funkcijama, a osobito sa slabijim epizodnim pamćenjem (221), ali da su učinci BDNF polimorfizma previše složeni da bi se mogli analizirati u okviru ideje jednostavnoga „alela rizika“.

### **1.7.2. BDNF C270T polimorfizam i kognicija**

Ovaj polimorfizam prvi su puta opisali Kunugi i suradnici 2001. godine (222) te je evidentirana njegova značajna povezanost s Alzheimerovom bolešću (223). Alel C, s obzirom na C270T ili rs56164415, bio je povezan s boljom vizualnom kognitivnom obradom putem mehanizama koji su vjerojatno povezani s volumenom talamusa (224). Iako u metaanalizi nije potvrđeno da je BDNF C270T povezan s Alzheimerovom bolesti (225), bio je povezan s promijenjenom izvršnom funkcijom kod pacijenata s Alzheimerovom bolesti (179) i s redukcijom neurokognitivnih funkcija kod nositelja alela T, s obzirom na BDNF C270T (226).

Dakle, polimorfizmi *BDNF* gena istraživani su kod starijih i kod pacijenata s Alzheimerovom bolešću i utvrđena je njihova jasna povezanost s neurokognitivnim funkcijama, uključujući i pamćenje (179, 224, 226), no njihova točna uloga u kogniciji još nije razjašnjena u potpunosti.

### **1.8. BDNF Val66Met i PTSP**

Polimorfizam BDNF Val66Met povezan je s brojnim psihijatrijskim poremećajima, uključujući opsesivno-kompulzivni poremećaj, shizofreniju, psihoze, tešku depresiju, anksioznost i poremećaje prehrane (176). Velik broj studija izvijestio je da je alel Met rizičan za razvoj psihijatrijskih bolesti s obzirom na to da nosioci Met pokazuju smanjenu, o aktivnosti ovisnu, sekreciju BDNF-a (177). Dakle, nosioci Met alela imaju veći rizik za razvoj različitih neuropsihijatrijskih poremećaja od nosioca Val alela (227). Međutim, BDNF Val alel povezan je s bipolarnim poremećajem i bolestima ovisnosti (228). U meksičko-američkoj populaciji utvrđeno je da pojedinci homozigotni za alel Val imaju povećan rizik za razvoj depresije (229). Ovi nalazi upućuju da BDNF Val66Met ima pleiotropne učinke na više fenotipova, odnosno da može biti povezan sa zasebnim prednostima i nedostacima u istom organizmu (177). Različiti učinci ovoga polimorfizma na različite poremećaje vjerojatno su posljedica različite ekspresije BDNF-a i njegovih receptora u različitim regijama mozga. Na primjer, prekomjerna ili premala sekrecija BDNF-a, ovisna o aktivnosti, imat će različite učinke na amigdalom posredovana ponašanja (npr. strah/tjeskoba) u usporedbi s kognicijom (ovisnom o hipokampusu) (230). Neki nalazi upućuju na to da i povećanje aktivnosti BDNF-a može imati štetan učinak i da može biti uključen u patogenezu nekih bolesti (231, 232). Na

primjer, povećana aktivnost BDNF-a u putu ventralni tegmentum-nukleusakumbens uključena je u patogenu velike depresivne epizode (231), dok je prevelika aktivnost BDNF-a u mozgu uključena u patogenezu bipolarnoga poremećaja i zlouporabu sredstava ovisnosti (232) kao i autizma (233). Štoviše, prekomjerna genetska ekspresija zrele izoforma BDNF-a kod ženki miševa dovodi do slabljenja radne memorije, smanjenja mogućnosti iznošenja trudnoće, povećanja ponašanja poput anksioznosti i smanjenja epileptičkoga praga (234). Dakle, alel Val, koji je povezan s povećanom sekrecijom ovisnom o aktivnosti BDNF-a, može biti alel rizika za neke neuropsihijatrijske bolesti.

Pitts i suradnici proveli su studiju 2019. godine koja pokazuje da je prisutnost alela Met BDNF Val66Met polimorfizma povezana s većom težinom cjeloživotnih i trenutno prisutnih PTSP simptoma u velikom broju američkih vojnih veterana prema nosiocima Val/Val genotipa (235). Nositelji Met alela imali su smanjenu sposobnost ocjenjivanja svoje prostorne obrade navigacijskih performansi (236), pojačan utjecaj negativnoga pamćenja (237), intenzivnije simptome ponovnoga proživljavanja (235), hiperpobuđenost i pojačanu trzajnu reakciju (238) u usporedbi s nositeljima genotipa Val/Val.

Havelka Meštrović i suradnici, otkrili su 2020. godine, u studiji koja je uključivala manji broj ratnih veterana s ili bez PTSP-a, značajnu povezanost između kognicije (vizualno-prostorna percepcija i funkcija kratkotrajne i dugoročne vizualne memorije) utvrđene pomoću Rey-Osterrieth Complex Figure (ROCF) testa i BDNF Val66Met kod branitelja s PTSP-om (239). Naime, nositelji Met alela pokazali su slabiju kratkotrajnu vizualnu memoriju i pažnju povezanu s izvršnim funkcijama, u usporedbi s nositeljima genotipa Val/Val (239).

Nasuprot tome, studija koja je uključivala kineske ispitanike s PTSP-om otkrila je različite povezanosti između genotipova BDNF Val66Met i kognicije, upućujući na to da su nositelji jednoga ili dva Met alela imali bolji vokabular i ocjene znakova, jezičnu inteligenciju, operativnu inteligenciju i sveukupne rezultate inteligencije, veći broj sortiranja i manji broj grešaka (slučajnih i kontinuiranih) u Wisconsin testu razvrstavanja kartica u usporedbi s nositeljima Val/Val genotipa (240).

### **1.9. BDNF C270T polimorfizam i PTSP**

Alel T polimorfizma BDNF C270T opisan je kao čimbenik rizika za PTSP (241), shizofreniju (242), bulimiju nervozu (243) i za amiotrofičnu lateralnu sklerozu (178), ali ne i za Alzheimerovu bolest (225). Zhang i suradnici, 2006. god. nisu pronašli povezanost između polimorfizma BDNF C270T i PTSP-a (244). Prevalencija T-alela u jednoj studiji bila je 17 % i bila je jednake učestalosti T-alela u kineskoj populaciji s dijagnozom PTSP-a (168).

Nedić Erjavec i suradnici, istraživali su 2021. godine utjecaj genetskih varijanti BDNF-a i pušenja na kogniciju kod veterana s PTSP-om. BDNF C270T bio je značajno povezan s padom kognitivnih sposobnosti kod svih testiranih veterana s PTSP-om (i pušača i nepušača), kao i kod kontrolne skupine ispitanika koji nisu bili pušači (245). To je prvo istraživanje koje je otkrilo značajnu povezanost polimorfizma BDNF C270T s kognitivnim opadanjem kod veterana s PTSP-om. Rezultati ovoga istraživanja pokazali su da je prisutnost jednoga ili dva T-alela BDNF C270T bila povezana s kognitivnim urušavanjem u PTSP-u. To se pokazalo u većem broju bodova na podskali za kogniciju skale Pozitivnih i negativnih simptoma (PANSS-kognitivna skala), koji pokazuju napredno kognitivno pogoršanje i koji su otkriveni i kod pušača i kod nepušača te je to potvrđeno i nižim brojem bodova na skali neposrednoga opoziva kod ROCF skale, što upućuje na lošiju funkciju kratkotrajne vizualne memorije. Ovo je ujedno i prva studija koja pokazuje značajne učinke pušenja na spoznaje u nositelja T-alela s obzirom na BDNF C270T u PTSP-u (245). Taj polimorfizam, odnosno supstitucija C u T polimorfizma BDNF C270T-a na 5' nekodirajućoj regiji gena *BDNF* može utjecati na transkripciju gena *BDNF*, a time i na njegovu ekspresiju (246).

### **1.10. BDNF i stres**

BDNF je ključna molekula povezana s plastičnosti mozga i promjenama povezanim s učenjem i pamćenjem. Kronični stres poznati je čimbenik koji utječe na učestalost Alzheimerove demencije i na kognitivna oštećenja (247). Strukture uključene u kontrolu fiziološkoga statusa organizma osjetljive su na modulaciju kroničnim stresom što se posebno odnosi na hipokampus koji se mijenja produljenom izloženosti aversivnim situacijama (248). Navedeni utjecaj aversivnih situacija, odnosno kroničnoga stresa na hipokampus, odražavaju se deficitima prostorne memorije i deficitima u prepoznavanju novih objekata, ali i u

izmijenjenim procesima sinaptičke plastičnosti poput supresije LTP-a (249). Kronični stres smanjuje ekspresiju BDNF-a u hipokampusu, međutim, kada uzrok stresa nestane, hipokampus pokazuje poboljšanje kognitivnoga i sinaptičkoga deficita (250). Do danas je razvijen niz različitih strategija kako smanjiti štetne učinke izazvane kroničnim stresom (171). Pokazalo se da infuzije BDNF-a, injicirane u hipokampus štakora prije izloženosti kroničnom stresu, doprinose smanjenju deficita u učenju i pamćenju na Morrisovom vodenom testu za glodavce tijekom dugotrajne potencijacije (251). Radahmadi i suradnici otkrili su da se hipokampalni BDNF povećava kao odgovor na tjelovježbu nakon izlaganja kroničnom stresu (252). Isto su potvrdili Shafia i sur. (253) koji su istraživali učinke vježbanja (samoga ili u kombinaciji s fluoksetinom) na modelu štakora kojima su izazvali simptome slične PTSP-u i pokazivali su odstupanja u kondicioniranju strahom, u zadacima inhibicijskoga izbjegavanja i sjećanju za prepoznavanje lokacije. Zanimljivo je da su u većini testova učinci kombiniranoga liječenja bili slični onima dobivenim samo vježbom. Potvrđena je hipoteza da sama vježba, kao i vježba uz antidepresiv, pojačava ekspresiju BDNF-a u hipokampusu (253).

Budući da nalazi upućuju na to da bi BDNF mogao potaknuti oporavak od učinaka kroničnoga stresa na hipokampus, postavlja se zanimljivo pitanje može li BDNF preokrenuti učinke kroničnoga stresa u prisutnosti stresora? Odgovor na ovo pitanje istražili su Radahmadi i sur. (252) kada su testirali učinak vježbanja tijekom izloženosti stresorima („zaštitna vježba“). Za razliku od preventivnih i terapijskih oblika vježbe, u ovoj studiji nije pronađen utjecaj „zaštitne vježbe“ na porast razine BDNF-a u hipokampusu (252). S druge strane, Miller i sur. (254) istraživali su kod miševa moguće palijativne učinke trčanja na kronična oštećenja povezana sa stresom kada se vježbe i stres istodobno javljaju. Utvrdili su da veće razine ekspresije TrkB receptora u obje skupine izložene vježbanju (pod stresom i bez stresa), u usporedbi s obje sjedilačke skupine, podržavajući hipotezu da bi ublažavanje negativnih posljedica stresa tjelovježbom moglo biti posredovano djelovanjem zrelog oblika BDNF-a koji djeluje putem TrkB receptora (254). Unatoč kontradiktornim rezultatima, čini se da je BDNF važna molekula vezana uz restituciju kognitivnoga fenotipa na životinjskim modelima kroničnoga stresa. Činjenica da se BDNF može povećati neinvazivnim strategijama i/ili lijekovima od kojih su neki već u kliničkim ispitivanjima, čini ga privlačnim za istraživanje.

Veza između stresa, specifičnih gena i razvoja psihijatrijskih poremećaja opsežno je proučavana, a u etiologiji većine kao uzročni čimbenik spominje se interakcija između okoliša

i gena (255). Zapravo, psihijatrijski poremećaji mogu se definirati kao klinički entiteti koji proizlaze iz interakcije između gena i okoliša (256).

### **1.10.1. PTSP, stres i BDNF**

Kod osoba s dijagnosticiranim PTSP-om izloženost podsjetnicima na traumu povezana je s vlastitim osjećajem distresa, promjenama u psihofiziološki faktorima i povećanjem regionalnoga cerebralnog protoka krvi u određenim područjima mozga kao što su prednji temporalni režnjevi, amigdala, inzularni korteks, orbitofrontalni korteks i stražnji cingularni korteks (257). Također su naprednim neuroslikovnim tehnikama pronađene neuroanatomske promjene kod pacijenta s PTSP-om, i to u područjima amigdale, hipokampusa, prednjega cingulatornog režnja, Brokinog područja, medijalnoga PFC-a i vizualnoga korteksa (258). U samom hipokampusu bilježe se i strukturalne i metaboličke promjene tijekom obavljanja raznih kognitivnih zadataka i procesa poput prepoznavanja, izvedbenih zadataka, prepoznavanja riječi povezanih s traumom, kao i tijekom mirovanja (257). Studije su potvrdile i pozitivnu linearnu koleraciju između aktivacije hipokampusa i ozbiljnost simptoma kod bolesnika s PTSP-om (259). Nadalje, studije i na životinjama i na ljudima pokazale su da je stres povezan s promjenama u funkciji i strukturi hipokampusa, smanjenom neurogenezom, povećanjem razine glukokortikoida i/ili smanjenjem razine BDNF-a (260).

BDNF je izrazito izražen u hipokampusu, glavnom području aktivne neurogeneze u mozgu odraslih osoba. Unatoč obilju nalaza o negativnoj korelaciji između BDNF-a i stresa, samo nekoliko kontroliranih studija i prikaza slučaja izvijestili su o nižoj koncentraciji serumskoga BDNF-a kod osoba s PTSP-om u odnosu na zdrave ispitanike. Angelucci i suradnici usporedili su 2014. godine serumske razine BDNF-a kod ispitanika koji su bili izloženi traumi, a koji nisu razvili PTSP i kod onih koji su razvili PTSP (261). Otkrili su niže serumske razine BDNF-a kod bolesnika s PTSP-om u usporedbi s pojedincima koji nisu razvili PTSP nakon traumatskoga iskustva (261). Nasuprot tome, drugi podatci pokazuju da su pacijenti s PTSP-om imali više razine BDNF-a od kontrolnih ispitanika (262). Te su razine bile više odmah nakon traumatskoga događaja, a čak i nakon šest mjeseci (262), s vremenom su se smanjivale i nisu se značajno razlikovali od onih u kontrolnih ispitanika nakon jedne godine od traumatskoga iskustva (263).



PTSP može biti povezan i s kognitivnim disfunkcijama povezanim sa stresom među pojedincima koji nisu adekvatno obradili traumatska iskustva (264). Ponašanje i simptomi povezani s PTSP-om uključuju intruzivne misli, izbjegavanje, stanja pobuđenosti i negativne promjene raspoloženja i kognicije. Opsežna neuropsihološka istraživanja pokazuju da se hipokampalna disfunkcija javlja zajedno s manifestacijom simptoma PTSP-a (265).

Suvremeni neurokognitivni izvještaji o PTSP-u navode da je specijalna komponenta o hipokampusu ovisnih procesa povezana s procesuiranjem i kontekstualiziranjem sjećanja na traumu (266).

### **1.10.2. Procesuiranje traume u hipokampusu**

Funkcija je hipokampusa olakšavanje stvaranja i konsolidacija sjećanja, a što je ključno za obradu traumatskih iskustava. Memorijski je sustav hipokampusa deklarativan i pruža kontekstualne informacije za sjećanja, što ljudima omogućuje verbalizaciju onoga što se dogodilo kako bi se to „stavilo u kontekst“. Osnovna komponenta ove, o hipokampusu ovisne kontekstualizacije, prostorna je, a olakšava je alocentrična obrada (267). Alocentrična obrada omogućuje pojedincima konstruiranje neovisno o gledatelju slike scena. Ta je obrada izrazito korisna u navigaciji i olakšava tehnike kao što su korištenje kardinalnih točaka ili smjera kompasa. Ova prostorna obrada ovisna o hipokampusu također ima kliničke implikacije, osobito kada se kontekstualiziraju prošla traumatska iskustva. Alocentrični prikaz traumatske scene može pružiti kontekst osjetilnim i evokativnim reprezentacijama traume (268). Složen je odnos između traumatskoga stresa i obrade ovisne o hipokampusu. U slučajevima PTSP-a integritet hipokampusa općenito se smatra ugroženim, s obzirom na to da stres uzrokuje oštećenje, odnosno atrofiju hipokampusa (269).

Traumatska sjećanja obično su ekstremne prirode i mogu zahtijevati „veća sredstva“ za obradu koji vrši hipokampus od obrade običnih normativnih sjećanja. Nadalje, kada je oštećen, oslabljena je uloga hipokampusa u konsolidaciji novih sjećanja na sigurnost, odnosno sjećanja koja bi inače mogla pomoći u ublažavanju i minimiziranju odgovora na stres ili strah. Ova dinamika kulminira u situaciji kada je oštećenje hipokampusa posljedica PTSP-a ili pak pridonosi razvoju PTSP-a (267). Poznato je i da stres i negativne emocije utječu na alocentričnu obradu ovisnu o hipokampusu.

Slično kao i kod svih drugih kompliciranih psihijatrijskih poremećaja, podatci o povezanosti BDNF genetičkih varijanti s PTSP-om raznovrsni su i nisu jednoznačni. Pokazano je da postoji značajna povezanost između prisutnosti Met alela BDNF Val66Met i PTSP-a (270, 271) ili prisutnosti Met alela kod psihotičnih simptoma u PTSP-u (272), no druge studije nisu potvrdile povezanost BDNF Val66Met-a i PTSP-a (273,245). Smatra se da je povećana koncentracija BDNF-a u plazmi povezana s poboljšanjem kognitivnih funkcija, i to je pokazano kod bolesnika sa shizofrenijom (274). Još je jedna studija pokazala povezanost razine BDNF-a u plazmi sa sposobnošću pamćenja i kognitivnim funkcijama općenito (275). Nadalje, Met alel BDNF Val66Met povezan je s lošijim kognitivnim funkcijama te smanjenjem volumena hipokampusa za 4 do 5 % kod starijih odraslih osoba (276). Rezultati upućuju i na to da polimorfizam gena BDNF Val66Met i njegov funkcionalni učinak na razinu BDNF-a u mozgu moderira vezu između depresije i kognitivnoga funkcioniranja kod starijih odraslih osoba (277).

Kod bolesnika s PTSP-om ne postoje podatci o kogniciji i koncentraciji BDNF-a u plazmi. S druge strane, postoje kontradiktorni podatci o sniženoj, nepromijenjenoj ili povećanoj koncentraciji BDNF-a u krvi ispitanika s PTSP-om prema kontrolnim ispitanicima (278). Metaanaliza također nije utvrdila značajnu povezanost između koncentracije BDNF-a u plazmi i PTSP-a (279). Prema tim literaturnim nalazima još uvijek nije jasno utvrđeno postoje li promjene koncentracije BDNF-a u krvi kod ispitanika s PTSP-om prema kontrolnim ispitanicima te postoje li promjene koncentracije BDNF-a u plazmi kod ispitanika s PTSP-om podijeljenih prema kognitivnom urušavanju.

Za razliku od asocijacijskih studija (238, 270), napravljene su cjelogenomske studije povezanosti s ciljem identifikacije gena, odnosno njihovih rizičnih genotipova, odgovornih za razvoj PTSP-a (280, 281), koje nisu potvrdile značajan utjecaj gena *BDNF* u etiologiji PTSP-a.

Temeljem navedenih podataka istraživanja razvidno je da ne postoje jednoznačni podatci o povezanosti koncentracije BDNF-a u plazmi i PTSP-a ili povezanosti koncentracije BDNF-a u plazmi s promjenama kognicije u PTSP-u. Također nema niti jednoznačnih podataka o povezanosti rizičnih genotipova polimorfizama BDNF Val66Met i BDNF C270T s PTSP-om ili povezanosti genskih varijanti BDNF Val66Met i BDNF C270T s kognitivnim disfunkcijama u PTSP-u kod ispitanika s PTSP-om.

## **2. HIPOTEZA**

Očekuje se da će ispitanici s posttraumatskim stresnim poremećajem (PTSP-om) imati sniženu koncentraciju moždanoga neurotrofnog čimbenika (BDNF-a) u plazmi i različitu raspodjelu BDNF genskih varijanti s obzirom na Val66Met i C270T polimorfizme u odnosu na kontrolne ispitanike.

Očekuje se više nosioca Met alela u odnosu na nosioce G alela kod BDNF Val66Met polimorfizma, dok se kod BDNF C270T polimorfizma očekuje više nosioca T-alela u odnosu na nosioce C-alela u ispitanika s PTSP-om u odnosu na kontrolne ispitanike.

Kod kognitivno oštećenih ispitanika s PTSP-om očekuje se niža koncentracija BDNF-a u plazmi prema ispitanicima s PTSP-om koji ne pokazuju kognitivno urušavanje, te se očekuje više nosioca Met alela BDNF Val66Met i više nosioca T-alela BDNF C270T, a u usporedbi s ispitanicima s PTSP-om koji ne pokazuju kognitivna oštećenja.

### **3. CILJEVI**

Cilj je ove doktorske radnje pojasniti ulogu moždanoga neurotrofnog čimbenika (BDNF-a) u posttraumatskom stresnom poremećaju (PTSP-u) kod veterana s PTSP-om, muškoga spola, te zdravih ispitanika sparenih po dobi i spolu. U studiji će se istražiti povezanost BDNF-a s PTSP-om te s kognitivnim poremećajima koji se javljaju kod PTSP-u, na temelju lako dostupnih biokemijskih (koncentracije BDNF-a u plazmi) i genetičkih (BDNF Val66Met i BDNF C270T genotipova) pokazatelja.

Opći je cilj studije istražiti povezanost BDNF-a s PTSP-om ili s poremećajem kognicije u ispitanika s PTSP-om.

Specifični ciljevi ove studije:

- 1) Odrediti koncentraciju BDNF-a u plazmi i odrediti raspodjelu genotipova BDNF Val66Met i BDNF C270T kod ispitanika s PTSP-om i kontrolnih ispitanika.
- 2) Odrediti kognitivno oštećenje kod ispitanika s PTSP-om.
- 3) Odrediti koncentraciju BDNF-a u plazmi i odrediti raspodjelu genotipova BDNF Val66Met i BDNF C270T kod ispitanika s PTSP-om koji će biti podijeljeni prema kognitivnim skalama na kognitivno oštećene ispitanike s PTSP-om i ispitanike s PTSP-om koji ne pokazuju kognitivna oštećenja.

## **4. MATERIJALI I METODE**

### **4.1. Ispitanici**

U istraživanje su uključeni psihijatrijski bolesnici koji su liječeni na Zavodu za biologijsku psihijatriju i psihogerijatriju Klinike za psihijatriju Vrapče od 1. 10. 2015. do 1. 10. 2017., a kojima je dijagnosticiran PTSP ili kronični PTSP. Dijagnoza PTSP-a učinjena je pomoću Strukturiranoga kliničkog intervjua (SCID) temeljenog na DSM-5 kriterijima (282).

#### **4.1.1. Uključni kriteriji**

Svi su veterani bili sudionici Domovinskoga rata u Hrvatskoj od 1991. do 1995. godine. Za postavljanje dijagnoze PTSP-a koristio se SCID temeljen na DSM-5 kriterijima i medicinska dokumentacija. Uključeni su ispitanici koji su dali potpisan pristanak za sudjelovanje u istraživanju nakon detaljnoga informiranja i objašnjenja svrhe i ciljeva istraživanja, također i oni koji su bili suradljivi i željeli su ispuniti kliničke ocjenske ljestvice te oni koji nisu uzimali psihoaktivne lijekove u zadnjih 30 dana, osim niskih doza benzodiazepina po potrebi.

#### **4.1.2. Isključni kriteriji**

Kako bi se isključila povezanost koncentracije BDNF-a s drugim psihijatrijskim i somatskim bolestima, kriteriji su isključivanja: prisutnosti ADHD-a, Alzheimerove bolesti, shizofrenije, shizoafektivnoga poremećaja, bipolarnoga poremećaja, značajnih kognitivnih oštećenja te nedavna zloupotreba alkohola ili droga (unutar šest mjeseci), i to prema DSM-5 kriterijima te prisutnost E10 šećerne bolesti, K70.3 alkoholne ciroze jetre, K70.2 alkoholne fibroze i skleroze jetre, C22.0 hepatocelularnoga karcinoma, prema MKB-10 kriterijima (283, 284); klinički značajne EKG i/ili laboratorijske abnormalnosti.

#### **4.1.3. Etički aspekt**

Svim je ispitanicima detaljno objašnjena svrha i postupak istraživanja. Uzorkovanje je napravljeno tek nakon što su ispitanici dobrovoljno potpisali informirani pristanak. Sva su istraživanja bila provedena uz odobrenje Etičkoga povjerenstva Klinike za psihijatriju Vrapče i Etičkoga povjerenstva za istraživanja Medicinskog fakulteta Osijek te uz potpunu suradnju i

primjereno razumijevanje sudionika. Istraživanja su bila potpuno usklađeno s etičkim standardima postavljenim Helsinškom deklaracijom iz 1964. godine.

#### **4.1.4. Klinička obrada ispitanika**

Na početku praćenja svim ispitanicima potvrđena je dijagnoza PTSP-a temeljem strukturiranoga kliničkog intervjua temeljenoga na DSM-5 dijagnostičkim kriterijima (282). Specijalisti psihijatri obavili su razgovor s ispitanicima u cilju postavljanja dijagnoze temeljene na DSM-5 kriterijima (11). Komorbidne bolesti bile su isključene temeljem DSM-5 (11) i MKB-10 kriterija (283, 284).

Dijagnoza PTSP-a postavljena je pomoću:

1. procjene traumatskoga događaja
2. formalne dijagnostičke procjene
3. diferencijalno dijagnostičke procjene
4. funkcionalne procjene osobe.

Temeljni je kriterij za postavljanje dijagnoze PTSP-a postojanje traumatskoga događaja koji je doživljen kao traumatski i izvan uobičajenoga ljudskog iskustva. Nakon utvrđivanja postojanja traumatskoga događaja provedena je formalna dijagnostička procjena koja uključuje strukturirani klinički intervju, psihijatrijski pregled s procjenom psihičkoga statusa te psihometrijske i psihodijagnostičke postupke. Strukturirani klinički intervju obuhvaćao je demografske podatke, podatke o obiteljskom i radnom statusu, status invaliditeta, podatke o ranijem liječenju, obiteljsku anamnezu, kao i podatke o ranijim traumatskim iskustvima. Tijekom psihijatrijskoga pregleda učinjena je i procjena psihičkoga statusa i funkcije bolesnika koja uključuje procjenu svijesti, opažanja, afekta, volje, pažnje, psihomotorike, pamćenja, nagona, mišljenja i kognitivnoga funkcioniranja. Formalna dijagnostička procjena uključuje i psihometrijsku procjenu koja je važna jer pomaže u objektivizaciji procjene i utvrđivanju dijagnoze PTSP-a te u slučaju komorbidnih dijagnoza olakšava procjenu koja je osnovna dijagnoza, a koje su dijagnoze komorbidne.

## 4.2. Psihometrijski testovi

U istraživanju su se koristile sljedeće ocjenske skale, a u svrhu psihijatrijskoga i neurokognitivnoga ispitivanja bolesnika:

- Klinička ljestvica za posttraumatski stresni poremećaj (eng. *Clinician Administred PTSD Scale, CAPS*) (285)
- Pozitivna i negativna sindromska skala (PANSS) (286)
- Mini test procjene mentalnoga stanja ili MMSE2 (eng. *Mini Mental State Examination*) (287)
- Montrealska ljestvica kognitivne procjene (MoCA) (eng. *The Montreal Cognitive Assessment MoCA*) (288).

### 4.2.1. Klinička ljestvica za posttraumatski stresni poremećaj

Klinička ljestvica za posttraumatski stresni poremećaj (eng. *Clinician Administred PTSD Scale, CAPS*) koristi se kako bi se prevladala ograničenja PTSP intervjuja. Predstavlja strukturirani intervju za procjenu osnovnih i pridruženih simptoma PTSP-a, uključuje registriranje i uvid u sva dosadašnja potencijalna traumatska iskustva i načine suočavanja sa stresom. CAPS nudi zasebne mjere frekvencije i intenziteta za svaki simptom PTSP-a, mjeri pridružene kliničke značajke te u konačnici pruža procjenu utjecaja simptoma PTSP-a na socijalno i radno funkcioniranje. Njime se procjenjuje učestalost i intenzitet svake od triju skupina simptoma zasebno (ponovno proživljavanje, izbjegavanje i otupjelost, pojačana pobuđenost) i za sindrom u cjelosti te se može koristiti kao dihotomna dijagnostička mjera ili kao kontinuirana mjera težine simptoma (285). Temeljen je na DSM-4 kriterijima PTSP-a, uključujući: Kriterij A – izloženost traumatskom događaju – osoba je doživjela ili bila suočena s događajem koji je podrazumijevao stvarnu ili moguću smrt ili prijetnju tjelesnom integritetu te osobe ili drugih osoba, reakcija i odgovor osobe uključivali su izuzetan strah, bespomoćnost ili užas; Kriterij B – obuhvaća simptome ponovnoga proživljavanja kao što su uznemirujuća prisjećanja, uznemirujući snovi, flash back epizode, psihička nelagoda i fiziološka reakcija kod prisjećanja; C kriterij – uključuje izbjegavanje i obamrlost kroz izbjegavanje misli, osjećaja i razgovora; izbjegavanje aktivnost, mjesta i ljudi; nesposobnost prisjećanja važnih aspekata traume; smanjeno zanimanje i učešće u aktivnostima; odvojenost i otuđenje, ograničen opći afekt; osjećaj skraćene budućnosti te D kriterij koji obuhvaća

simptome trajne podraženosti vegetativnoga sustava kao što su teškoće uspavlivanja i spavanja, razdražljivost i izljevi ljutnje, teškoće pri koncentriranju, podozrivost prenaplašena reakcija trzanja. U Kriteriju E navodi se trajanje smetnji najmanje jedan mjesec. Kriterij F obuhvaća funkcionalno oštećenje kao i pridružene simptome krivnje i disocijacije. Učestalost i intenzitet svakoga simptoma ocjenjuju se na zasebnim Likertovim ljestvicama od pet stupnjeva. Ukupan broj bodova zbrojen, kroz sedamnaest osnovnih simptoma, može se tumačiti u odnosu na pet predloženih raspona težin – od asimptomatskoga do ekstremnoga, a promjena od petnaest bodova može se koristiti za označavanje klinički značajne promjene. Raspon bodova u upitniku do 45 bodova – elementi su PTSP-a, zbroj bodova od 46 do 65 predstavlja laki oblik PTSP-a, od 66 do 95 bodova upućuje na srednji oblik PTSP-a, a zbroj bodova iznad 95 upućuje na teški oblik PTSP-a. Također, validnost je označena na sljedeći način: 0 – izvrsno, nema razloga za sumnjati u validnost odgovora; 1 – dobro, prisutni čimbenici koji mogu negativno utjecati na validnost; 2 – dovoljno, prisutni čimbenici izvjesno umanjuju validnost; 3 – loše, znatno umanjena validnost; 4 – nevalidni odgovori, ozbiljno narušeno mentalno stanje ili moguće namjerno preuveličavanje ili umanjivanje tegoba (285).

#### **4.2.2. Pozitivna i negativna sindromska skala ili PANSS**

Pozitivna i negativna sindromska skala (PANSS, eng. *The Positive and Negative Syndrome Scale*) (286) koristi se u istraživanju jer omogućuje multidimenzionalnu evaluaciju različitih spektra simptoma (pozitivnih, negativnih, psihomotornih, depresivnih, kognitivnih...) i sadrži skalu opće psihopatologije. Primjenjuje se od 1987. godine kada ju je osmislio Kay, a mjeri tri skupine simptoma (pozitivni simptomi – odstupanja od normalnih / očekivanih funkcija, npr. halucinacije ili deluzije; negativni simptomi – opadanje ili gubitak normalnih funkcija i opći psihopatološki simptomi). Mjernu skalu PANSS obilježava visoka pouzdanost, valjanost i objektivnost (286). Postupak intervjuja odnosi se na promatranje fizičkih manifestacija (npr. napetost, manirizmi i držanje, uzbuđenje, zaravnjivanje afektiviteta), na promatranje međuljudskoga ponašanja (primjerice loš odnos, nesuradljivost, neprijateljstvo i poremećaj pažnje), kognitivno-verbalnih procesa (npr. konceptualna neorganiziranost, stereotipno mišljenje i nedostatak spontanosti i tijeka razgovora), na promatranje sadržaja misli (npr. grandioznost, somatske brige, osjećaji krivnje i sumanutosti) i odgovora na strukturirano ispitivanje (npr. dezorijentiranost, anksioznost, depresija i poteškoće u apstraktnom mišljenju) (286).



Većina navedenih simptoma u znatnoj se mjeri uočava i kod osoba koje boluju od PTSP-a (289). Od trideset psihijatrijskih parametara, procijenjenih na PANSS-u, sedam ih predstavlja pozitivnu ljestvicu, sedam negativnu ljestvicu, a preostalih šesnaest ljestvicu općih psihopatoloških simptoma. Mogu se promatrati pojedini simptomi, zatim zbroj svih pozitivnih, negativnih, općih psihopatoloških i ukupnih simptoma, ali i pojedinačnih čestica koje određuju psihotične, agresivne, kognitivne ili depresivne simptome (286). Bodovanje na skali PANSS pokazuje: 1 – odsutne, 2 – minimalne, 3 – blage, 4 – umjerene, 5 – srednje jake, 6 – jake i 7 – ekstremne simptome. Uobičajeno se smatra da broj bodova s ili veći od 4 boda (umjerenih simptoma), na bilo kojoj čestici podljestvice PANSS, upućuje na jače izražene simptome te se ispitanici mogu podijeliti na one s jače (4 i više bodova) i one sa slabije (1 – 4 boda) izraženim simptomima. Podljestvice za PANSS: PANSS pozitivna podljestvica (čestice P1-P7; lomna vrijednost 28, PANSSpos), PANSS negativna podljestvica (čestice N1-N7; lomna vrijednost 28; PANSSneg) i PANSS podljestvica općih psihopatoloških simptoma (čestice G1-G16, lomna vrijednost 64, PANSSgen) i ukupnih PANSS bodova (120 bodova, PANSStot). Dodatne podljestvice skale PANSS uključuju: PANSSagitacija podljestvicu (PANSSexc) koja uključuje čestice P4 (uzbuđenje / hiperaktivnost) + P7 (neprijateljstvo) + G4 (napetost) + G8 (nesuradnja) + G14 (slaba kontrola impulsa), lomna vrijednost 14; PANSS kognitivnu podljestvicu (PANSScog) sa česticama P2 (konceptualna dezorganizacija) + N5 (teškoće u apstraktnom mišljenju) + G10 (dezorijentacija) + G11 (oskudna pažnja), lomna vrijednost 16, PANSS psihotičnu podljestvicu (PANSSpsy) s česticama P1 (sumanutosti) + P2 (konceptualna dezorganizacija) + P3 (halucinacije) + P6 (sumnjičavost/proganjanje), lomna vrijednost 16, i PANSS depresivnu podljestvicu (PANSSdep) s česticama: G1 (somske brige) + G2 (anksioznost) + G3 (osjećaj krivnje) + G6 (depresija), lomna vrijednost 16.

#### **4.2.3. Mini test procjene mentalnoga stanja**

Mini test procjene mentalnoga stanja (MMSE) jedan je od najčešće upotrebljivanih testova za procjenu kognitivnih sposobnosti. MMSE detektira razinu kognitivnih oštećenja i prati kognitivne funkcije tijekom vremena te procjenjuje efikasnost terapije, a u uporabi je od 1975. godine (287). MMSE testom procjenjuje se sedam područja kognitivnoga funkcioniranja: orijentacija, registriranje pojmova, pažnja i računanje, pamćenje, jezik i govor, čitanje i izvršenje naredbe te vidno-prostorni test. Ima dobru pouzdanost kod retestiranja i prihvatljivu

osjetljivost i specifičnost za otkrivanje blage do umjerene faze demencije (290, 291). Međutim, MMSE je manje osjetljiv u otkrivanju pacijenata s blagim kognitivnim oštećenjem (MCI) i onih u ranim stadijima demencije, a također je neosjetljiv na poremećaje u izvršnom funkcioniranju, apstraktnom razmišljanju i vizualnoj percepciji / konstrukciji (292). Istraživanja su pokazala da su lažno pozitivni nalazi češći među pacijentima s nižim obrazovanjem i nižim socioekonomskim statusom, a rezultati na gornjoj granici češći su među pacijentima s visokom razinom obrazovanja i kod pacijenta s MCI-om zbog niske razine težine zadataka (293). Nadalje, neke stavke u MMSE-u bilo je teško prevesti na drugi jezik, pa se javila potreba da se prilagode kulturi svake zemlje. Ova ograničenja dovela su do razvoja Mini-Mental State Examination, 2. izdanje (MMSE-2) (294) kao pouzdanije mjere kognitivnoga probira. Postoje ekvivalentni, alternativni oblici svake verzije MMSE-2 (crveni i plavi oblici) kako bi se smanjila mogućnost učinaka prakse, odnosno uvježbavanja koja se mogu pojaviti tijekom višekratnih ispitivanja.

MMSE se sastoji od različitih pitanja koja se boduju s nula bodova ili s jednim bodom. Najveći zbroj bodova koji osoba može ostvariti na testu MMSE iznosi 30, a veći broj bodova povezuje se s boljim kognitivnim sposobnostima. Prema broju bodova na MMSE-u osobe možemo podijeliti na:

1. osobe s normalnim kognitivnim sposobnostima (broj bodova od 27 do 30)
2. osobe s blagom demencijom (broj bodova od 21 do 26)
3. osobe s umjerenom demencijom (broj bodova od 10 do 20)
4. osobe s teškim oblikom demencije (broj bodova < 10).

U istraživanju je korišten MMSE-2:SV. Ova standardna verzija zadržava originalnu strukturu i bodovanje te omogućuje uspoređivanje rezultata s originalnim MMSE-om. Sastoji se od jedanaest zadataka: registracija, vremenska orijentacija, prostorna orijentacija, prisjećanje (pamćenje), pažnja i računanje, imenovanje, ponavljanje, razumijevanje, čitanje, pisanje i crtanje. Tri riječi iz originalnih zadataka registracija/prisjećanje odabrane su tako da budu nešto teže, a promijenjen je i zadatak razumijevanja kako bi se osobama s fizičkim ograničenjima olakšalo njegovo izvođenje. Raspon rezultata (0 do 30) ostaje isti kao i u originalu.

Tablica 4.1. Mini–mental test

| PITANJA   | MAKSIMALNI BODOVI                            | BODOVI<br>ISPITANIKA |
|---|--|----------------------|
| <p>VREMENSKA<br/>ORIJENTACIJA</p> <p>1. Koja je godina, godišnje doba, datum, dan, mjesec?</p>  | <p>po jedan bod za točan odgovor, max. 5</p> |                      |
| <p>PROSTORNA<br/>ORIJENTACIJA</p> <p>2. Gdje ste (država, županija, grad, adresa, kat)?</p>   | <p>po jedan bod za točan odgovor, max. 5</p> |                      |
| <p>REGISTRIRANJE<br/>POJMOVA</p> <p>Ispitivanoj osobi imenujte tri objekta (npr. jabuka, stol, novac) tako da svaki izgovarate jednu sekundu, jasno i razgovjetno. Zatim osobu tražite da ponovi sva tri.</p> | <p>po jedan bod za točan odgovor, max. 3</p> |                      |
| <p>PAŽNJA I RAČUNANJE</p> <p>Recite osobi da počne računati unazad oduzimajući po 7. Recite da počne s brojem 100, tako da oduzima 7. Zaustavite nakon 5 oduzimanja (93, 86, 79, 72, 65).</p>                 | <p>po jedan bod za točan odgovor, max. 5</p> |                      |
| <p>PAMĆENJE</p> <p>Recite pacijentu tri riječi, primjerice – jabuka, knjiga, leptir. Zatim nakon tri do pet minuta tražite neka ponovi riječi.</p>  | <p>po jedan bod za točan odgovor, max. 3</p> |                      |

| <b>PITANJA</b>   | <b>MAKSIMALNI BODOVI</b>              | <b>BODOVI<br/>ISPITANIKA</b> |
|--|---------------------------------------|------------------------------|
| <b>JEZIK I GOVOR</b>   |                                       |                              |
| <b>IMENOVANJE</b><br><br>Držite u ruci olovku i sat te tražite pacijenta neka imenuje predmete.  | po jedan bod za točan odgovor, max. 2 |                              |
| <b>PONAVLJANJE FRAZE</b><br><br>„Nema, ako, ali.“  | max. broj bodova bodova 1             |                              |
| <b>IZVOĐENJE NAREDBE IZ<br/>3 DIJELA:</b><br>1. Uzmite papir desnom rukom.<br>2. Presavijte ga.<br>3. Vratite ga na stol.                                    | po jedan bod za točan odgovor, max. 3 |                              |
| <b>ČITANJE I IZVRŠENJE<br/>NAREDBE</b>   |                                       |                              |
| <b>PISANA ZAPOVIJED</b><br><br>(Zatvorite oči.)  | max. broj bodova bodova 1             |                              |
| <b>PISANJE REČENICE</b><br><br>Recite pacijentu da napiše rečenicu (sa subjektom i predikatom).  | max. broj bodova bodova 1             |                              |
| <b>VIDNO-PROSTORNI TEST</b><br><br>Kopiranje geometrijskog oblika. Pokažite dvodimenzionalni lik (preklapajući peterokuti na papiru) i tražite da ga kopira. | max. broj bodova bodova 1             |                              |
| <b>UKUPNO BODOVA</b>   | 30 bodova                             |                              |

Tablica 4.2. Razlike MMSE I MMSE2-SV

| <b>MMSE-2: STANDARDNA VERZIJA</b>      |   |  |  |
|--|---|--|--|
| <b>ZADATAK</b>                         | <b>OPIS</b>   | <b>IDENTIČNI ZADATAK KAO NA ORIGINALNOM MMSE</b> | <b>REVIZIJA NA MMSE-2:SV</b>   |
| <b>registracija i prisjećanje</b>      | Sposobnost ponavljanja triju nepovezanih riječi i prisjećanje istih nakon kratkoga intervencijskog zadatka. |  | Odabir riječi nešto je teži i riječi su odabrane tako da ih je lakše prevesti na različite jezike. |
| <b>vremenska orijentacija</b>          | Tekuća godina, godišnje doba, mjesec, dan u tjednu, datum.  | x  |  |
| <b>prostorna orijentacija</b>          | Imenovati državu, grad, mjesto, kat, trenutnu ustanovu.   | x  |  |
| <b>pažnja i računanje (serijski 7)</b> | Serijsko oduzimanje broja 7, počevši od 100.  | x  | Riječ SVIJET slovkana unazad ne koristi se kao alternativni zadatak.                               |
| <b>imenovanje</b>                      | Imenovanje dijelova tijela koje pokazuje ispitivač,   |  | Umjesto riječi SAT i OLOVKA imenuju se dijelovi tijela radi lakšega prevođenja na druge jezike.    |
| <b>ponavljanje</b>                     | Ponavljjanje riječi koje se inače ne upotrebljavaju često   |  | Upotreba riječi koje lakše prevesti na razne jezike.   |

|                                   |   |  |  |
|-----------------------------------|---|--|--|
|                                   | zajedno                                       |  |  |
| <b>MMSE-2: STANDARDNA VERZIJA</b> |   |  |  |
| <b>ZADATAK</b>                    | <b>OPIS</b>                                   | <b>IDENTIČNI<br/>ZADATAK KAO<br/>NA<br/>ORIGINALNOM<br/>MMSE</b> | <b>REVIZIJA NA<br/>MMSE-2:SV</b>               |
| <b>razumijevanje</b>              | Izvođenje verbalne naredbe iz triju dijelova. |  | Izostavljeno oslanjanje na motoričke odgovore. |
| <b>čitanje</b>                    | Pročitati i pratiti upute.                    | x  |  |
| <b>pisanje</b>                    | Napisati rečenicu.                            | x  |  |
| <b>crtanje</b>                    | Nacrtati preklapajuće peterokute na papir.    | x  |  |

#### 4.2.4. MoCA ili Montrealska procjena kognitivnoga stanja

Montrealska procjena kognitivnog stanja ili MoCA (eng. *Montreal Cognitive Assessment*) test je koji se koristi za brzu procjenu kognicije. MoCA je osmišljena kao brzi instrument za probir bolesnika s blagim poremećajem kognitivnih funkcija. Obuhvaća različite kognitivne domene: pažnju i koncentraciju, izvršne funkcije, pamćenje, jezične sposobnosti, vizuokonstrukcijske sposobnosti, konceptualno mišljenje, računanje i orijentaciju. Vrijeme primjene MoCA testa približno je deset minuta. Ukupni mogući rezultat iznosi 30 bodova, a rezultat od 26 bodova i više smatra se normalnim. U početnom istraživanju MoCA testa, kontrole bez kognitivnih deficita imale su prosječni broj bodova od 27,4, u usporedbi s 22,1 osoba kod osoba s blagim kognitivnim poremećajima (MCI) i 16,2 kod osoba s Alzheimerovom bolešću.

Bodovanje na MoCA testu:

- vizuospacijalne i izvršne funkcije: 5 bodova
- imenovanje životinja: 3 boda

- pažnja: 6 bodova
- jezik: 3 boda
- abstrakcija: 2 boda
- odgođeno prisjećanje (kratkotrajna memorija): 5 bodova
- orijentacija: 6 bodova
- razina obrazovanja: 1 bod se dodaje rezultatu ispitanika ako ima 12 godina ili manje formalnoga obrazovanja.

Shematski prikaz MoCa testa prikazan je na Slici 4.1.

**MONTREALSKA LJESTVICA KOGNITIVNE PROCJENE**  
(MONTREAL COGNITIVE ASSESSMENT, MOCA)

IME I PREZIME:

Godine školovanja:

Spol:

Datum rođenja:

Datum:

|  |   |   |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
|--|---|---|-------|----------|--------|----------|--------|------------------|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|--|--|--------------------|
| <p><b>VIZUOSPACIJALNE/IZVRŠNE</b></p> <p>Preracati kocku</p> <p>Nacrtati SAT (jedanaest sati i deset minuta) (3 boda)</p>  |   | <p>[ ] [ ] [ ] [ ] [ ]</p> <p>Oblik Brojke Kazaljke</p> <p>___/5</p>            |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| <p><b>IMENOVANJE</b></p>   |   | <p>[ ] [ ] [ ]</p> <p>___/3</p>   |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| <p><b>PAMĆENJE</b></p> <p>Pročitati listu riječi, ispitanik ih treba ponoviti. Ponoviti dva puta i ako je već prvo ponavljanje bilo uspješno. Ispitati prisjećanje nakon 5 minuta.</p>                       | <table border="1"> <tr> <td></td> <td>LICE</td> <td>BARŠUN</td> <td>CRKVA</td> <td>IVANČICA</td> <td>CRVENO</td> </tr> <tr> <td>1. test</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>2. test</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> |   | LICE  | BARŠUN   | CRKVA  | IVANČICA | CRVENO | 1. test          |     |     |     |     |     | 2. test  |  |  |  |  |  | <p>Nema bodova</p> |
|  | LICE  | BARŠUN  | CRKVA | IVANČICA | CRVENO |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| 1. test  |   |   |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| 2. test  |   |   |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| <p><b>PAŽNJA</b></p> <p>Pročitati popis brojki. Ispitanik ih treba ponoviti po redu. (1 broj/sek)</p>  | <p>[ ] 2 1 8 5 4</p> <p>Ispitanik ih treba ponoviti obrnutim redoslijedom [ ] 7 4 2</p>   | <p>___/2</p>  |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| <p>Pročitati popis slova. Ispitanik lagano lupne rukom svaki puta kada čuje slovo A. Bez bodova kod ≥ 2 pogreške.</p>  | <p>[ ] FBACMNAAJKLBAFAKDEAAAJAMOF AAB</p>   | <p>___/1</p>  |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| <p>Serijsko oduzimanje po 7 počevši od 100</p>   | <p>[ ] 93 [ ] 86 [ ] 79 [ ] 72 [ ] 65</p> <p>4 ili 5 točnih oduzimanja: <b>3 boda</b>; 2 ili 3 točna: <b>2 boda</b>; 1 točno: <b>1 bod</b>; 0 točnih: <b>0 bodova</b></p>   | <p>___/3</p>  |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| <p><b>JEZIK</b></p>  | <p>Ponovite: Samo znam da je danas na Ivanu red da pomaže. [ ]</p> <p>Mačka se uvijek skrivala pod kaučem kada su psi bili u sobi. [ ]</p>  | <p>___/2</p>  |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| <p>Fluentnost: Navedite što je moguće više riječi u jednoj minuti koje počinju slovom S</p>  | <p>[ ] __ (N ≥ 11 riječi)</p>   | <p>___/1</p>  |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| <p><b>ABSTRAKTNO MIŠLJENJE</b></p>   | <p>Sličnost npr. banane i naranče=voće [ ] vlak – bicikl [ ] sat - ravnalo</p>  | <p>___/2</p>  |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| <p><b>ODGOĐENO PRISJEĆANJE</b></p>   | <table border="1"> <tr> <td>Prisjećanje riječi</td> <td>LICE</td> <td>BARŠUN</td> <td>CRKVA</td> <td>IVANČICA</td> <td>CRVENO</td> </tr> <tr> <td></td> <td>[ ]</td> <td>[ ]</td> <td>[ ]</td> <td>[ ]</td> <td>[ ]</td> </tr> </table>   | Prisjećanje riječi  | LICE  | BARŠUN   | CRKVA  | IVANČICA | CRVENO |                  | [ ] | [ ] | [ ] | [ ] | [ ] | <p>Bodovi SAMO za sjećanje bez podsjetnika</p> |  |  |  |  |  |                    |
| Prisjećanje riječi   | LICE  | BARŠUN  | CRKVA | IVANČICA | CRVENO |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
|  | [ ]   | [ ]   | [ ]   | [ ]      | [ ]    |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| <p><b>Dopunske opcije</b></p>  | <table border="1"> <tr> <td>Podsjetnik kategorija</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Višestruki izbor</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>  | Podsjetnik kategorija   |       |          |        |          |        | Višestruki izbor |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| Podsjetnik kategorija  |   |   |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| Višestruki izbor   |   |   |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| <p><b>ORIJENTACIJA</b></p>   | <p>[ ] Datum [ ] Mjesec [ ] Godina [ ] Dan [ ] Mjesto [ ] Grad</p>  | <p>___/6</p>  |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |
| <p>© Z.Nasreddine MD Verzija 7.1 <a href="http://www.mocatest.org">www.mocatest.org</a> Normalan rezultat: ≥ 26/30</p> <p>Irvatski prijevod i prilagodba: dr I. Martinić Popović</p> <p>ispitivač: _____</p> |   | <p>UKUPNO ___/30</p> <p>Dodati 1 bod ako ispitanik ima ≤ 12 god. školovanja</p> |       |          |        |          |        |                  |     |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |                    |

Slika 4.1. Montrealska ljestvica kognitivne procjene

Dostupno na stranici: <http://www.mocatest.org>



### 4.3. Biokemijske i genetičke analize

Biokemijske i genetičke analize na uzorcima krvi ispitanika napravljene su u Laboratoriju za molekularnu neuropsihijatriju, Zavoda za molekularnu medicinu, Instituta Ruđer Bošković.

#### 4.3.1. Uzimanje krvi

Ispitanicima su izvađeni uzorci krvi (8 ml) u staklene epruvete (BD Vacutainer®) s 2 ml antikoagulansa koji sadrži limunsku kiselinu, natrij citrat i dekstrozu (ACD, engl. *acid citrat dextrose*). Uzorci krvi prikupljeni su natašte pri prvom jutarnjem pregledu tijekom uzimanja krvi za rutinske uobičajene laboratorijske testove te su pohranjeni na + 4 °C i dostavljeni što prije, unutar nekoliko sati, na Institut Ruđer Bošković u Laboratorij za molekularnu neuropsihijatriju.

Napravljena je serija centrifugiranja iz pune krvi (Slika 4.2.), na način da je prvo izdvojena plazma (3 min na 1100 x g), a zatim su iz plazme izdvojeni trombociti (15 min na 5087 x g). Na taj način dobivena je plazma siromašna trombocitima. Ostatak uzoraka, plazma, trombociti i preostali dio krvi s leukocitima za izolaciju deoksiribonukleinske kiseline (DNA) bili su pohranjeni na – 20 °C za daljnje analize.



Slika 4.2. Centrifugiranje krvi

### 4.3.2. Izolacija DNA

DNA je izdvojena iz uzorka pune krvi metodom isoljavanja (Miller i sur., 1988), koja se provodi uklanjanjem proteina iz staničnoga lizata razgradnjom pomoću enzima proteinaze K te isoljavanjem. Isoljavanje na sebe privlači molekule vode i tako smanjuje interakciju proteina s molekulama otapala. Zbog toga se povećavaju protein-protein interakcije koje dovode do agregacije proteina i njihovoga taloženja. Izopropanolol se koristi za precipitaciju DNA nakon što se izdvoje proteini iz vodene otopine. DNA je dobro topiva u vodi jer je izrazito polarna, a izopropanol je slabije polaran te dodatak izopropanolola povećava ionske interakcije između fosfatnih skupina molekule DNA i pozitivno nabijenih iona (Na<sup>+</sup>) u otopini. Zbog toga nastaje precipitacija DNA jer nastanak stabilnih ionskih veza smanjuje topivost DNA.

Upotrijebljene kemikalije:

1. NaCl (Kemika, Hrvatska): 5 M otopina
2. Etanol (Kemika, Hrvatska): 96 %-tna i 70 %-tna otopina
3. Izopropanol (Kemika, Hrvatska)
4. Natrijev dodecil sulfat (SDS) (Sigma Aldrich, SAD): 10 %-tna otopina
5. Proteinaza K (TaKaRa Bio, Japan): 20 mg/ml
6. Pufer za liziranje eritrocita (RCLB, engl. *Red Cell Lysis Buffer*): 10 mM Tris (Trizma® base, Sigma Aldrich, SAD), 5 mM MgCl<sub>2</sub> (Kemika, Hrvatska), 10 mM NaCl (Kemika, Hrvatska); pH 7.6
7. Pufer SE: 75mM NaCl, 25mM EDTA (Sigma Aldrich, SAD); pH 8
8. Pufer TE (Sigma Aldrich, SAD): 10 mM Tris (Trizma® base, Sigma Aldrich, SAD), 1 mM EDTA (Sigma Aldrich, SAD); pH 7.6.

Postupak izolacije DNA

Uzorci su miješani 20 min na valjkastoj miješalici, nakon odmrzavanja, a nakon toga izdvojeno je iz svakoga uzorka 300 µl krvi i prebačeno u zasebne Eppendorf mikropruvete od 1,5 ml (Eppendorf, UK). Kako bi se lizirali eritrociti, na uzorke krvi dodano je po 900 µl pufera za liziranje eritrocita (RCLB). Nakon što su uzorci dobro promiješani pomoću vorteks

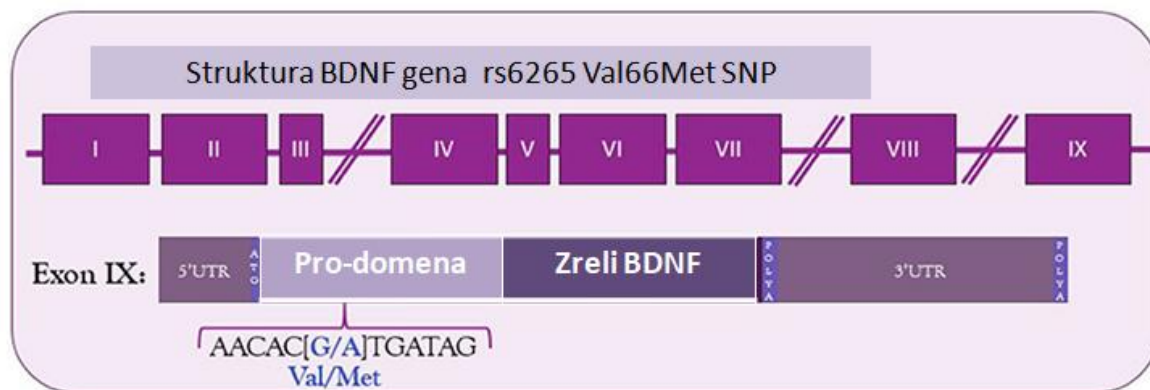
miješalice, ostavljeni su 10 min na ledu. Nakon liziranja eritrocita uzorci su centrifugirani (13000 x g, 2 min, 4 °C) pri čemu su lizirani eritrociti ostali u supernatantu, a netaknuti su leukociti istaloženi. Supernatant je uklonjen, a talog je dodatno pročišćen resuspendiranjem u RCLB-u (900 µl) i ponovnim centrifugiranjem (13000 x g, 2 min, 4 °C). Na čisti talog (nakon tri do četiri ispiranja RCLB-om) dodano je 300 µl SE pufera i 30 µl 10 %-tnog SDS-a. Uslijedilo je lagano miješanje uzoraka okretanjem mikroeprevete, nakon čega je u svaki uzorak dodano još 1,5 µl proteinaze K. Uzorci su zatim inkubirani u grijaćem bloku dva sata na 56 °C što dovodi do liziranja leukocita. Nakon inkubacije u uzorke je dodana 1/3 volumena 5 mM NaCl i sve je skupa promiješano vorteks miješalicom 10 sekundi. Nakon centrifugiranja (13000 x g, 5 min, sobna temperatura) stanični su dijelovi istaloženi, a genomska DNA ostala je otopljena u supernatantu. U novu sterilnu Eppendorf mikroeprevetu prebačen je supernatant, dodana su 2 volumna udjela hladnoga izopropanola i uzorci su lagano promiješani. Genomska DNA istaložena je centrifugiranjem 2 min na 13000 x g. Odliven je supernatant, a talog je dodatno ispran dodatkom 400 µl 75 %-tnog etanola i centrifugiranjem 2 min na 13000 x g pri sobnoj temperaturi. Nakon ispiranja, supernatant je odliven, a mikroeprevete su dodatno posušene prislanjanjem na papir i sušenjem 20 min s otvorenim poklopcem u digestoru. Dodano je 100 µl TE pufera osušenom talogu te su uzorci ostavljeni preko noći na sobnoj temperaturi kako bi se DNA otopila u potpunosti. Uzorci su pohranjeni na – 20 °C.

#### **4.3.3. Genotipizacija BDNF Val66Met (rs6265) i BDNF C270T (rs56164415)**

Genotipizacija polimorfizama (Val66Met ili rs6265 i C270T ili rs56164415) gena za BDNF učinjena je pomoću komercijalnih kompleta tvrtke Applied Biosystems® (SAD). Metoda genotipizacije pomoću komercijalnih kompleta tvrtke Applied Biosystems® (SAD) temelji se na hibridizaciji fluorescentno obilježenih oligonukleotidnih proba i njima komplementarnih polimorfničkih mjesta na genomskoj DNA. Svaka proba se na 5' kraju obilježi jednom fluorescentnom bojom (VIC ili FAM). Na taj se način specifično veže za slijed koji sadrži jednu promijenjenu bazu. Obje probe imaju na 3' kraju vezan utišivač fluorescencije (NFQ, engl. *NonFluorescent Quencher*). Taj utišivač sprečava fluorescenciju probe koja je vezana za komplementarni slijed na lancu DNA. Kod produljivanja početnica termostabilna DNA polimeraza cijepa vezane probe. Zbog toga nema utjecaja utišivača na boju i ona počinje fluorescirati. To se bilježi na uređaju kao signal. Određivanje genotipa očitava se kao jačina i

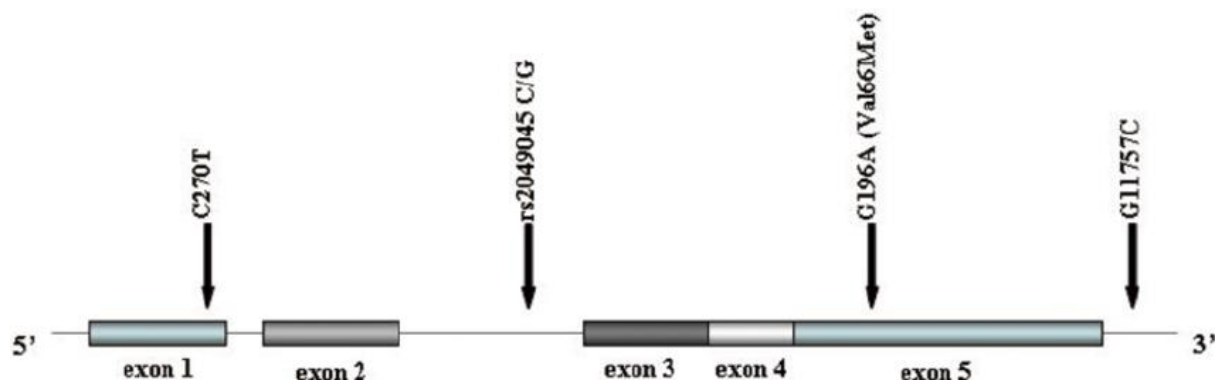
vrsta dobivenoga signala. Homozigotnost jednoga alela (određeni genotip) prikazuje se u uređaju kao fluorescencija jedne boje (VIC ili FAM), dok fluorescencija obje boje upućuje da su prisutna oba alela, tj. heterozigotni genotip. Prije samoga početka reakcije umnažanja genomske DNA u reakcijskoj smjesi uređaj bilježi početnu fluorescenciju, dok na kraju reakcije uređaj zabilježi konačnu razinu fluorescencije. Za svaku fluorescentnu boju, u svakom pojedinom uzorku, poseban računalni program daje prikaz razine fluorescencije. Konačan prikaz rezultata uključuje ispis razine fluorescencije za svaku boju te grafički prikaz razine fluorescencije. U reakcijskoj smjesi fluorescentom bojom VIC ili FAM na 5' kraju obilježena je svaka od dviju oligonukleotidnih proba. Kako bi se spriječila njihova fluorescencija, na 3' kraju vezan je utišivač fluorescencije (NFQ, engl. *NonFluorescent Quencher*). Na komplementarni slijed u DNA kalupu, koji se nalazi unutar polimorfnooga mjesta, probe se specifično vežu. Aktivnošću termostabilne DNA polimeraze cijepaju se vezane probe, boja više nije pod utjecajem utišivača i ona počinje fluorescirati te se fluorescencija bilježi kao signal na uređaju. Jačinom i vrstom fluorescentnoga signala određuje se određeni genotip. Radi se o homozigotu jednoga alela (određeni genotip) ukoliko je zabilježen signal jedne fluorescentne boje na uređaju. Heterozigot, tj. prisutost oba alela određuje se ukoliko je zabilježen signal obje boje. Prikaz razine fluorescencije daje računalni program za svaku fluorescentnu boju, u svakom pojedinom uzorku. Rezultati su prikazani kao grafički prikaz razine fluorescencije uz uključunje ispisa razine fluorescencije za svaku boju.

Smješten u kodonu 66' funkcionalni polimorfizam Val66Met ima ulogu u transportu BDNF-a u dendritima, dok bi polimorfizam C270T, smješten u 5' nekodirajućoj regiji gena, mogao biti povezan s ekspresijom BDNF proteina u tijelima neurona, dendritima i aksonalnim regijama (295). Struktura *BDNF* gena i položaj Val66Met polimorfizma prikazana je na Slici 4.3., dok je struktura gena za BDNF i smještaj 4 SNP-a shematski prikazana na Slici 4.4.



Slika 4.3. Struktura *BDNF* gena i položaj Val66Met polimorfizma na kodirajućem egzonu IX. Supstitucija gvanina (G) u adenozin (A) u pro-domeni rezultira substitucijom valina (V) u metionin (M)

Slika preuzeta i prilagođena prema;McGregor CE, English AW. The Role of BDNF in Peripheral Nerve Regeneration: Activity-Dependent Treatments and Val66Met. *Front Cell Neurosci.* 2019;12:522.



Slika 4.4. Struktura gena za BDNF i smještaj 4 SNP-a

Preuzeto iz rada: Borroni B, Grassi M, Archetti S, Costanzi C, Bianchi M, Caimi L, Caltagirone C, Di Luca M, Padovani A. BDNF genetic variations increase the risk of Alzheimer's disease-related depression. *J Alzheimers Dis.* 2009;18(4):867–75.

Upotrijebljene kemikalije:

1. TaqMan® mješavina početnica i proba (engl. *TaqMan® Pre-designed SNP Genotyping Assay*): C\_11592758\_10 (rs6265), C\_\_89097201\_10 (rs56164415)

2. TaqMan® matična mješavina za genotipizaciju (engl. *TaqMan® Genotyping Master Mix*): sadrži termostabilnu DNA polimerazu, deoksiribonukleotide te pufer koji osigurava optimalne uvijete za aktivnost DNA polimeraze

#### Postupak genotipiziranja

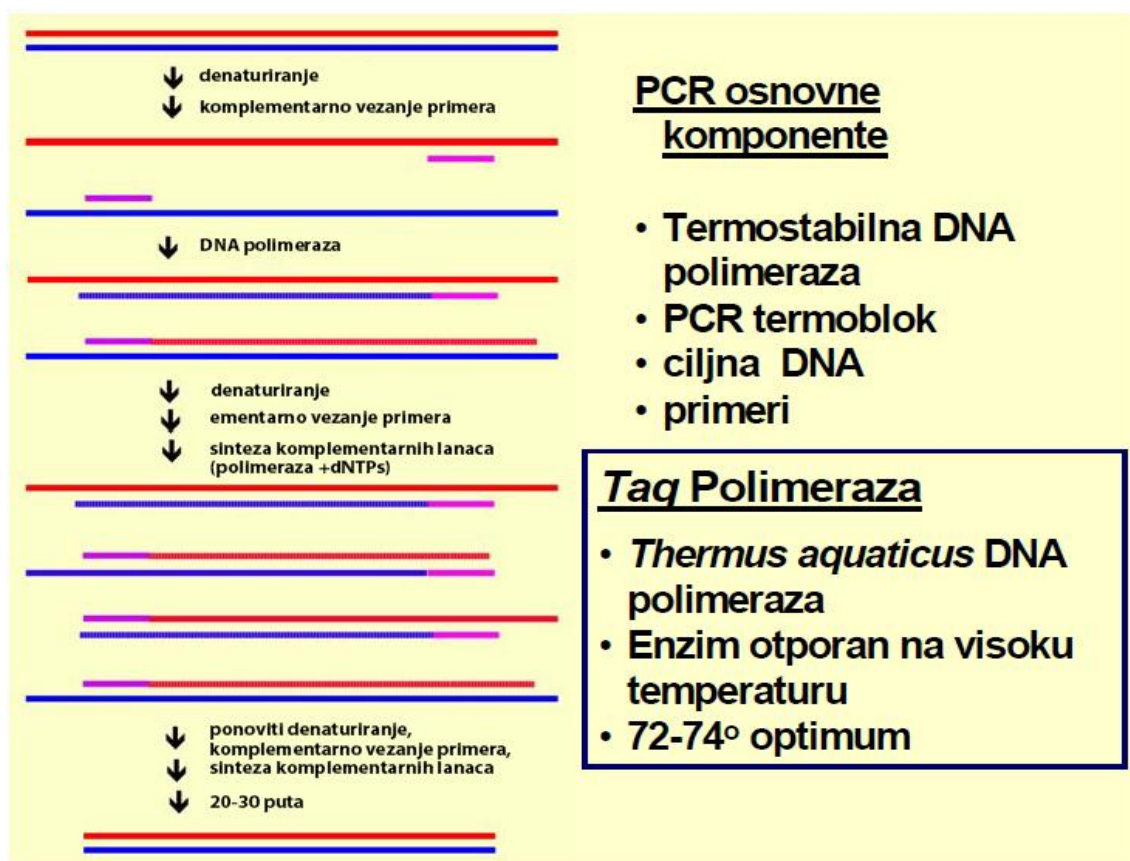
Lančana reakcija polimerazom (PCR) metoda je koja se temelji na umnažanju specifičnoga odsječka DNA in vitro. Odvija se u ponavljajućim ciklusima tijekom triju koraka: toplinska denaturacija lanaca DNA kalupa, slijepljivanje početnica na komplementarne dijelove DNA te sinteza komplementarnih lanaca pomoću DNA-polimeraze. DNA kalup, dNTP-ovi, početnica, termostabilna DNA-polimeraza i pripadajući pufer čine reakcijsku smjesu.

Genomska DNA izolirana je iz uzoraka krvi metodom izoliranja. Genotipiziranje je izvršeno upotrebom PCR metode u stvarnom vremenu za genotipizaciju polimorfizama *BDNF* Val66Met i *BDNF* C270T. Genotipizacija je provedena na ABI Prism 7300 Real time PCR aparatu (Applied Biosystems, Foster City, CA, SAD). Korišten je komercijalno dostupan TaqMan® komplet za određivanje polimorfizma jedne baze (Applied Biosystems, SAD). Za reakcijsku smjesu konačnoga volumena 25 µL korišteno je: Volumen (µL) 2 x TaqMan® matična mješavina za genotipizaciju (konačna koncentracija 1 x) 12,5 µl volumena po reakciji, 40 x TaqMan® mješavina početnica i proba (konačna koncentracija 1 x) 0,625 µl volumena po reakciji, 1 x Tris-EDTA pufer 0,25, genomska DNA (konačna količina DNA 1 – 20 ng).

Reakcijski uvjeti genotipizacije PCR-om u stvarnom vremenu prikazani su u Tablici 4.3. dok je shematski prikaz postupaka u PCR prikazan u Slici 4.5.

Tablica 4.3. Reakcijski uvjeti genotipizacije PCR-om u stvarnom vremenu

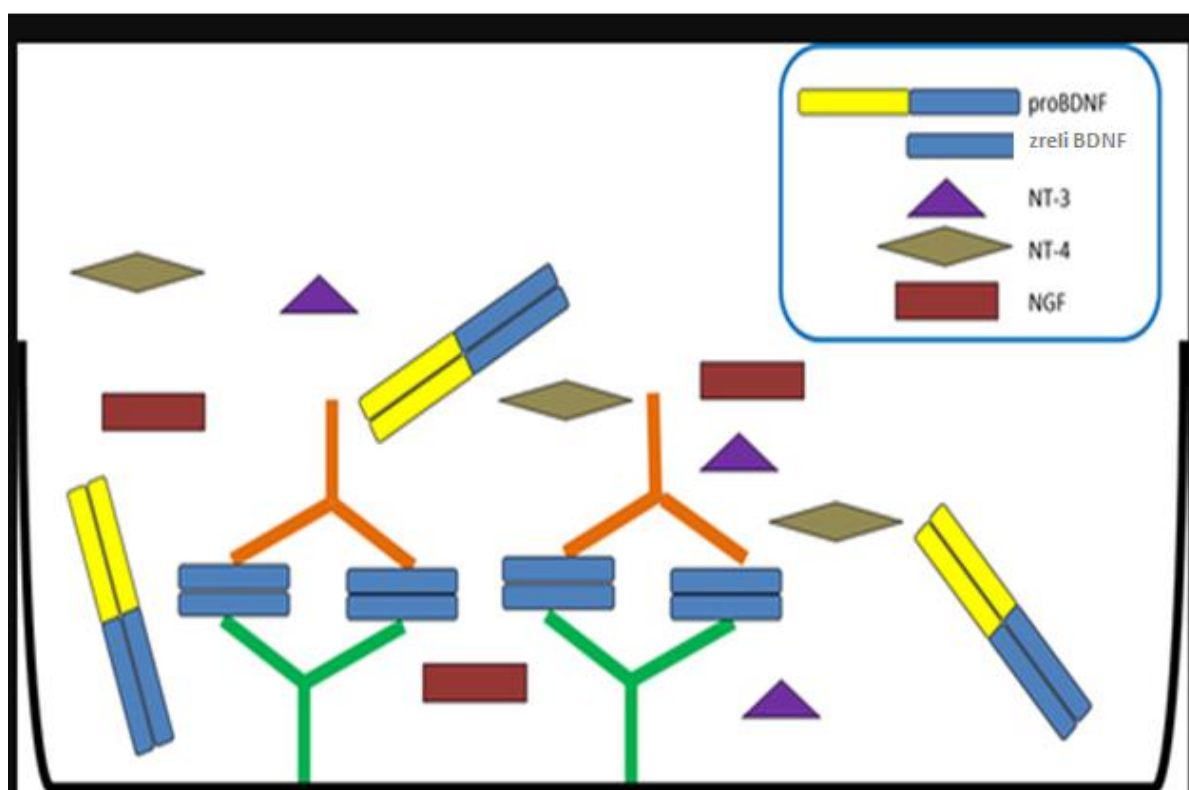
| FAZE REAKCIJE                             | TEMPERATURA | VRIJEME |
|---|-------------|---------|
| INICIJACIJA                               | 95 °C       | 10 min  |
| 55 ciklusa                                |             |         |
| DENATURACIJA                              | 92 °C       | 15 s    |
| VEZIVANJE I<br>PRODULJIVANJE<br>POČETNICA | 60°C        | 60 s    |



Slika 4.5. Postupci u lančanoj reakciji polimerazom (PCR)

#### 4.3.4. Određivanje koncentracije BDNF-a u plazmi

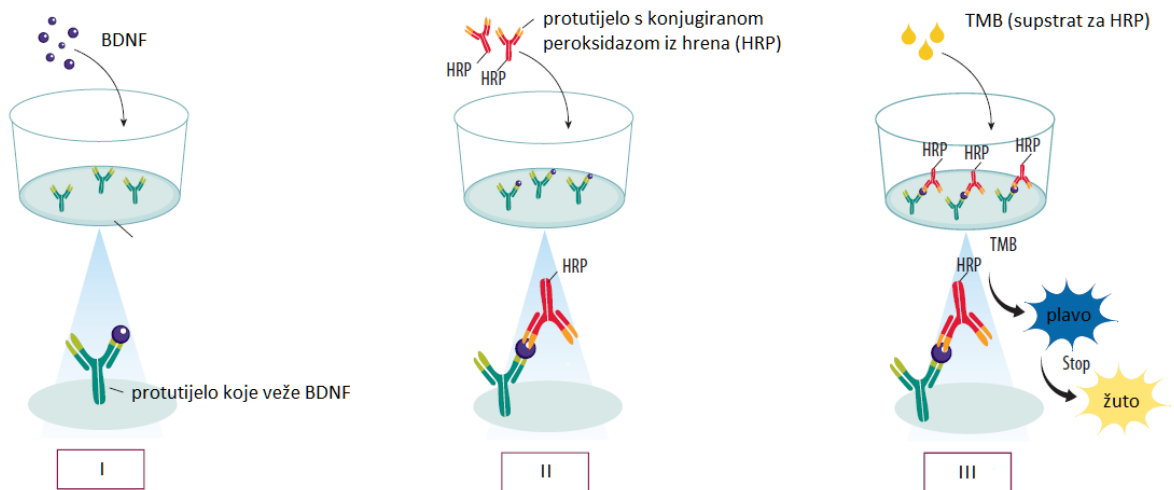
Koncentracija BDNF-a u plazmi određena je pomoću metode ELISA (enzimski povezana imunoapsorpcijska analiza) koja omogućuje kvantitativno određivanje proteina BDNF u plazmi. Za određivanje koncentracije proteina BDNF u uzorcima plazme korišten je ELISA komplet tvrtke R&D Systems, Inc. (SAD i Kanada). Komplet sadrži rekombinantni BDNF eksprimiran u Sf21 stanicama i protutijela koja prepoznaju ovaj rekombinantni faktor. Pomoću navedenoga kompleta moguće je detektirati koncentracije BDNF-a ispod 20 pg/ml. Metoda se temelji na vezivanju proteina BDNF u uzorcima na monoklonoalno protutijelo koje je imobilizirano na mikropločici, čime nastaje kompleks koji prepoznaje drugo monoklonoalno protutijelo konjugirano s enzimom peroksidazom iz hrena. Treći korak u reakciji jest dodatak supstrata tetrametilbenzidina čijom oksidacijom, pomoću peroksidaze iz hrena, nastaje žuta boja koja je proporcionalna količini vezanoga proteina BDNF iz uzoraka plazme. Očitavanja se mjere na ELISA čitaču pri 450 nm, uz korekciju pri 570 nm. Iz standardne krivulje određuje se koncentracija proteina BDNF u pojedinim uzorcima. Shematski prikaz i opis postupaka ELISA metode prikazan je u Slici 4.6.



Slika 4.6. Shematski prikaz i opis postupaka ELISA metode



Preuzeto i prilagođeno prema Lim Y, Zhong JH, Zhou XF. Development of mature BDNF-specific sandwich ELISA. *J Neurochem.* 2015;134(1):75–85. Opis postupaka određivanja koncentracije moždanoga neurotrofnog čimbenika (BDNF) u plazmi.



Slika 4.7. Opis postupka ELISA metode

Preuzeto prilagođeno od: R&D Systems, Inc. (<http://www.rndsystems.com>) i M. Nikolac Perković, doktorska disertacija, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2015, str. 60.

Na Slici 4.7. prikazano je: 1. kako se BDNF iz plazme veže na monoklona protutijela, 2. vezivanje protutijela s konjugiranom peroksidazom iz hrena, 3. žuto obojenje koje je proporcionalno količini vezanog BDNF-a iz plazme nastaje pomoću peroksidaze iz hrena dodavanjem supstrata tetrametilbenzidina (TMB).

Potrebne kemikalije:

Komercijalno dostupan ELISA komplet tvrtke R&D Systems, Inc. (SAD i Kanada) – Quantikine® ELISA Human BDNF Immunoassay:

1. Mikropločica: polistirenska mikropločica s 96 jažica presvučenim mišjim monoklona protutijelom koje veže BDNF
2. BDNF standard: liofilizirani rekombinantni humani protein BDNF
3. BDNF konjugat (engl. *BDNF Conjugate*): mišje monoklona protutijelo koje veže BDNF, konjugirano s peroksidazom iz hrena

4. razrjeđivač kompleta RD1S (engl. *Assay Diluent RD1S*): puferirana proteinska baza
5. kalibrirajuća otopina za razrjeđivanje RD6P (engl. *Calibrator Diluent RD6P*): životinjski serum
6. pufer za ispiranje: 25x koncentriran
7. reagens za obojenje A (engl. *Color Reagent A*): stabilizirani vodikov peroksid
8. reagens za obojenje B (engl. *Color Reagent B*): stabilizirani kromogen tetrametilbenzidin
9. otopina za zaustavljanje reakcije (engl. *Stop Solution*): 2N sumporna kiselina.

Postupak određivanja koncentracije BDNF-a u plazmi:

Koncentracija proteina BDNF u plazmi određena je komercijalno dostupanim ELISA kompletom tvrtke R&D Systems, Inc. (SAD i Kanada) prema uputama koje daje proizvođač. Svi uzorci plazme razrijeđeni su dva puta s kalibrirajućom otopinom za razrjeđivanje RD6P koja dolazi u kompletu. Na mikropločice (96 jažica), koje su presvučene monoklonalnim protutijelom, prvo je dodano 100 µl razrjeđivača RD1S u svaku od jažica, a zatim po 50 µl uzoraka plazme ili po 50 µl prethodno pripremljenih razrjeđenja BDNF standarda. Razrjeđenja standarda pripremljena su tako da se u konačnici dobije serija razrjeđenja različitih koncentracija BDNF-a; 4000 (pg/ml), 2000 (pg/ml), 1000 (pg/ml), 500 (pg/ml), 250 (pg/ml), 125 (pg/ml), 62,5 (pg/ml). U jažice su u duplikatima dodani standardi, kao i svi uzorci plazme. Negativne kontrole dodane su u dvije jažice, tj. kao negativna kontrola dodano je po 50 µl kalibrirajuće otopine za razrjeđivanje RD6P. Mikropločica je zatim prekrivena adhezivnom folijom i ostavljena je dva sata na sobnoj temperaturi. Nakon inkubacije od dva sata u svaku jažicu dodano je po 100 µl BDNF konjugata. Nakon inkubacije od jedan sat na sobnoj temperaturi, serijom od ukupno tri ispiranja s po 400 µl razrijeđenoga pufera za ispiranje po jažici, ispiran je višak monoklalnoga protutijela koje se veže na protein BDNF iz plazme. Nakon ispiranja jažice su dobro posušene dekantiranjem. U svaku jažicu dodano je 200 µl tzv. supstratne otopine koja je dobivena miješanjem reagensa za obojenje A i B u jednakom omjeru i koja sadržava hidrogen-peroksid. Mikropločica je inkubirana 30 min na sobnoj temperaturi u mraku. Nakon 30 min u jažice je dodana otopina za zaustavljanje reakcije i unutar 30 min izmjerena je apsorbancija uzoraka na ELISA čitaču (ThermoLabsystems Multiskan EX Microplate Reader, SAD) pri 450 nm, uz korekciju pri 570 nm. Naknadno je, prema uputama proizvođača, koristeći poznate koncentracije BDNF standarda, određena koncentracija BDNF-a u pojedinim jažicama.

#### 4.4. Statistička obrada podataka

Za statističku obradu podataka korišten je statistički program Sigma Stat 3,5 (Jandell Scientific Corp., SAD). Svi korišteni testovi bili su dvosmjerni, a razina značajnosti  $\alpha$  postavljena je na 0,05.

Demografske i kliničke varijable (dob, ITM, razina glukoze, lipida i enzima, bodovi na psihometrijskim skalama) te koncentracija proteina BDNF u plazmi prikazani su kao medijan i interkvartilni raspon između 25. i 75. percentile zbog odstupanja varijabli od normalne razdiobe.

Za utvrđivanje normalnosti razdiobe pojedinih parametara korišten je Kolmogorov-Smirnov test.

S obzirom na odstupanje svih istraživanih parametara od normalne razdiobe, korišteni su isključivo neparametrijski statistički testovi. Kod usporedbe dviju skupina podataka korišten je Mann-Whitney U test, a kod usporedbe triji ili više skupina podataka neparametrijska Kruskal-Wallisova ANOVA rangova nakon koje je, u slučaju značajne povezanosti među pojedinim skupinama, napravljena odgovarajuća analiza pomoću Dunnovog testa.

Povezanost demografskih i kliničkih varijabli s koncentracijom proteina BDNF-a u plazmi, povezanost dobi s brojem bodova na kognitivnim testovima te povezanost broja bodova na pojedinim kognitivnim testovima s koncentracijom proteina BDNF u plazmi određena je izračunavanjem Spearmanovoga koeficijenta korelacije ( $r_s$ ) jer je postojalo odstupanje od normalne razdiobe podataka. Za analize u kojima je bilo potrebno provjeriti utjecaj većega broja nezavisnih varijabli na jednu zavisnu varijablu korištena je dvosmjerna ANOVA.

Raspodjela kategoričkih podataka, kao što su frekvencije genotipova, uspoređena je između pojedinih skupina  $\chi^2$ -testom.  $\chi^2$ -test korišten je i za provjeru odstupanja distribucije genotipova od Hardy-Weinbergove ravnoteže. Kako bi se nakon analize  $\chi^2$ -testom provjerilo koji od genotipova najviše doprinosi statističkoj značajnosti, izračunati su standardizirani reziduali i vrijednosti R.

Kako bi provjerili jesu li istraživani polimorfizmi gena *BDNF*, Val66Met i C270T, u neravnoteži udruživanja (LD, od engl. *linkage disequilibrium*), tj. postoje li određene kombinacije alela koje se češće zajedno nasljeđuju (haplotip), korišten je program Haploview,

verzija 4.2 (Broad Institute of Harvard and MIT, SAD) (296). Za određivanje LD-a koristi se standardizirani koeficijent  $D'$ . Vrijednosti  $D'$  iznad 0,80 označavaju da su dva istraživana polimorfizma u LD-u.

Metoda logističke regresije korištena je kako bi se provjerilo postoji li povezanost pojedinih polimorfizama gena BDNF (zavisna varijabla) s razinom kognitivnoga oštećenja procijenjenoga pomoću određenoga kognitivnog testa (nezavisna varijabla) i s dijagnozom (nezavisna varijabla).

## 5. REZULTATI

### 5.1. Posttraumatski stresni poremećaj i koncentracija moždanoga neurotrofnog čimbenika u plazmi

#### 5.1.1. Demografski podatci ispitanika

Koncentracija neurotrofina BDNF u plazmi određena je kod 120 zdravih kontrolnih ispitanika i 120 ispitanika s dijagnozom PTSP-a pomoću komercijalno dostupnog ELISA kompleta tvrtke R&D Systems, Inc. (SAD i Kanada). Kod svih ispitanika (N = 240) napravljeno je i dodatno testiranje kognitivnih sposobnosti testom MMSE, testom crtanja sata i testom MoCA kako bi se ispitala povezanost koncentracije proteina BDNF na periferiji s razinom kognitivnoga oštećenja. Za dodatnu procjenu kognitivnih sposobnosti korištena je i kognitivna domena ljestvice PANSS.

Pri uključivanju u studiju ispitanici su bili spareni po dobi kako bi se izbjegao potencijalni učinak dobi na dobivene rezultate. U Tablici 5.1. prikazani su demografski i klinički podatci ispitanika koji su podijeljeni prema dijagnozi na zdrave kontrolne ispitanika i ispitanike s PTSP-om.

Normalna distribucija svih demografskih i kliničkih varijabli testirana je Kolmogorov-Smirnovim testom. S obzirom na odstupanja od normalne razdiobe podataka, u svim analizama korišteni su neparametrijski testovi za statističku obradu podataka.

Među istraživanim skupinama nije bilo značajne razlike (Tablica 5.1.) u dobi ( $p = 0,684$ ) ispitanika, koncentraciji glukoze natašte ( $P = 0,118$ ), razini HDL kolesterola ( $p = 0,462$ ) i triglicerida ( $p = 0,062$ ) te koncentraciji enzima AST ( $p = 0,432$ ) i AL ( $p = 0,439$ ). Međutim, rezultati (Tablica 5.1.) upućuju na značajnu razliku između istraživanih skupina s obzirom na ITM,  $p = 0,001$ ), razinu ukupnoga kolesterola ( $p = 0,007$ ) i LDL-kolesterola ( $p = 0,010$ ) te koncentraciju enzima GGT ( $p = 0,025$ ). Očekivano, svi su značajno promijenjeni biokemijski parametri povišeni kod ispitanika s dijagnozom PTSP-a, dok je ITM značajno niži ( $P = 0,001$ ) kod ispitanika s PTSP-om u odnosu na zdravu kontrolu (Tablica 5.1.). Istraživane skupine značajno se razlikuju i u broju bodova na ljestvici PANSS ( $p < 0,001$ ) i njezinoj kognitivnoj domeni ( $p < 0,001$ ).

Zdravi kontrolni ispitanici i ispitanici s dijagnozom PTSP-a uspoređeni su i s obzirom na pušački status, odnosno s obzirom na udio pušača u svakoj od skupina. Rezultati upućuju na

to da je udio pušača značajno veći ( $\chi^2 = 9,27$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0,002$ ) u skupini ispitanika s PTSP-om (75,0 %) u odnosu na kontrolne ispitanike (56,3 %).

Tablica 5.1. Demografski i klinički podaci ispitanika podijeljenih prema dijagnozi na zdrave kontrole (N = 120) i ispitanike s dijagnozom PTSP-a (N = 120).

Svi podaci su prikazani kao medijan (25. – 75. percentil).

| Demografski i klinički podaci     | Zdrave kontrole       | PTSP                  | Mann-Whitney U test |                   |
|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|-------------------|
|                                   | (N = 120)             | (N = 120)             | U                   | p                 |
| <b>dob (godine)</b>               | 59<br>(50,5 – 68,5)   | 59<br>(55 – 65)       | 7419,0              | 0,684             |
| <b>ITM (kg/m<sup>2</sup>)</b>     | 29,1<br>(26,5 – 30,6) | 27,9<br>(25,7 – 29,1) | 5395,0              | <b>0,001</b>      |
| <b>glukoza (mmol/l)</b>           | 4,9<br>(4,2 – 5,7)    | 5,0<br>(4,5 – 6,0)    | 8039,0              | 0,118             |
| <b>ukupni kolesterol (mmol/l)</b> | 4,9<br>(4,5 – 6,0)    | 5,3<br>(4,6 – 6,0)    | 8637,5              | <b>0,007</b>      |
| <b>LDL kolesterol (mmol/l)</b>    | 2,8<br>(2,4 – 3,5)    | 2,9<br>(2,7 – 3,8)    | 8573,0              | <b>0,010</b>      |
| <b>HDL kolesterol (mmol/l)</b>    | 1,1<br>(1,0 – 1,3)    | 1,1<br>(1,1 – 1,4)    | 7590,0              | 0,462             |
| <b>trigliceridi (mmol/l)</b>      | 1,6<br>(1,1 – 2,5)    | 1,8<br>(1,4 – 3,2)    | 8202,5              | 0,062             |
| <b>AST (U/l)</b>                  | 18<br>(12 – 21,5)     | 14<br>(14 – 20)       | 7621,0              | 0,432             |
| <b>ALT (U/l)</b>                  | 20<br>(13 – 24)       | 16<br>(16 – 24)       | 7613,5              | 0,439             |
| <b>GGT (U/l)</b>                  | 20<br>(14 – 24)       | 22<br>(16 – 26)       | 8405,0              | <b>0,025</b>      |
| <b>PANSS (ukupni)</b>             | 32<br>(30 – 33)       | 63<br>(58 – 66)       | 14400,0             | <b>&lt; 0,001</b> |
| <b>CAPS</b>                       | NP                    | 86<br>(78 – 90)       | NP                  | NP                |
| <b>CTQ</b>                        | NP                    | 61<br>(57 – 66)       | NP                  | NP                |
| <b>broj trauma</b>                | NP                    | 8<br>(6 – 9)          | NP                  | NP                |

ALT, alanin-aminotransferaza; AST, aspartat-aminotransferaza; CAPS, Klinička skala za procjenu PTSP-a (engl. *Clinician-Administered PTSD*); CTQ, Upitnik za traumu u djetinjstvu (engl. *Childhood Trauma Questionnaire*); GGT, gama-glutamilttransferaza; HDL, lipoprotein s visokom gustoćom (engl. *High Density Lipoprotein*); ITM, indeks tjelesne mase; LDL, lipoprotein s niskom gustoćom (engl. *Low Density Lipoprotein*); NP, nije primjenjivo; PANSS, Klinička ljestvica pozitivnih i negativnih simptoma (engl. *Positive and Negative Syndrome Scale*); PTSP, posttraumatski stresni poremećaj.

### **5.1.2. Demografske varijable i koncentracija moždanoga neurotrofnog čimbenika u plazmi**

Kako bi se provjerilo postoji li utjecaj pojedinih demografskih i kliničkih varijabli na koncentraciju proteina BDNF u plazmi analizirana je korelacija BDNF-a s pojedinim demografskim i kliničkim varijablama (Tablica 5.2.). Normalna distribucija koncentracije BDNF-a u plazmi testirana je Kolmogorov-Smirnovim testom. S obzirom na odstupanje od normalne razdiobe podataka u slučaju koncentracije proteina BDNF, a i u slučaju svih demografskih i kliničkih varijabli, korelacija je testirana pomoću Spearmanove analize korelacije (Tablica 5.2.).

Rezultati upućuju na nedostatak povezanosti koncentracije proteina BDNF u plazmi s dobi, ITM-om, koncentracijom glukoze natašte, s razinom ukupnoga kolesterola, LDL i HDL kolesterola, s razinom triglicerida i koncentracijom enzima AST, ALT i GGT kod obje skupine ispitanika (Tablica 5.2.). Zbog navedenoga ove demografske i kliničke varijable isključene su iz svih daljnjih analiza.

Zbog mogućega utjecaja pušačkoga statusa na razinu proteina BDNF u plazmi uspoređena je koncentracija BDNF-a između pušača i nepušača u obje skupine ispitanika. Usporedbom pomoću Mann-Whitney U testa utvrđeno je da nema razlike u koncentraciji proteina BDNF-a između nepušača i pušača unutar skupine zdravih ispitanika ( $U = 2067,5$ ;  $p = 0,081$ ) i ispitanika s dijagnozom PTSP-a ( $U = 1391,0$ ;  $p = 0,804$ ) zbog čega je pušački status izuzet iz svih daljnjih analiza.

Tablica 5.2. Korelacija demografskih i kliničkih varijabli s koncentracijom proteina BDNF-a u plazmi zdravih kontrolnih ispitanika i ispitanika oboljelih od PTSP-a.

| <b>Demografski i klinički podaci</b> | <b>r<sub>s</sub></b> | <b>p</b> |
|--------------------------------------|----------------------|----------|
| <b>Zdrave kontrole</b>               |                      |          |
| <b>dob (godine)</b>                  | – 0,021              | 0,820    |
| <b>ITM (kg/m<sup>2</sup>)</b>        | 0,071                | 0,438    |
| <b>glukoza (mmol/l)</b>              | – 0,009              | 0,923    |
| <b>ukupni kolesterol (mmol/l)</b>    | 0,094                | 0,306    |
| <b>LDL-kolesterol (mmol/l)</b>       | 0,056                | 0,544    |
| <b>HDL-kolesterol (mmol/l)</b>       | – 0,074              | 0,421    |
| <b>trigliceridi (mmol/l)</b>         | 0,088                | 0,340    |
| <b>AST (U/l)</b>                     | 0,079                | 0,388    |
| <b>ALT (U/l)</b>                     | – 0,074              | 0,421    |
| <b>GGT (U/l)</b>                     | 0,055                | 0,553    |
| <b>PTSP</b>                          |                      |          |
| <b>dob (godine)</b>                  | 0,014                | 0,877    |
| <b>ITM (kg/m<sup>2</sup>)</b>        | 0,073                | 0,427    |
| <b>glukoza (mmol/l)</b>              | 0,115                | 0,210    |
| <b>ukupni kolesterol (mmol/l)</b>    | – 0,083              | 0,365    |
| <b>LDL-kolesterol (mmol/l)</b>       | – 0,029              | 0,751    |
| <b>HDL-kolesterol (mmol/l)</b>       | – 0,058              | 0,530    |
| <b>trigliceridi (mmol/l)</b>         | –0,038               | 0,682    |
| <b>AST (U/l)</b>                     | 0,007                | 0,938    |
| <b>ALT (U/l)</b>                     | 0,073                | 0,428    |
| <b>GGT (U/l)</b>                     | 0,120                | 0,192    |

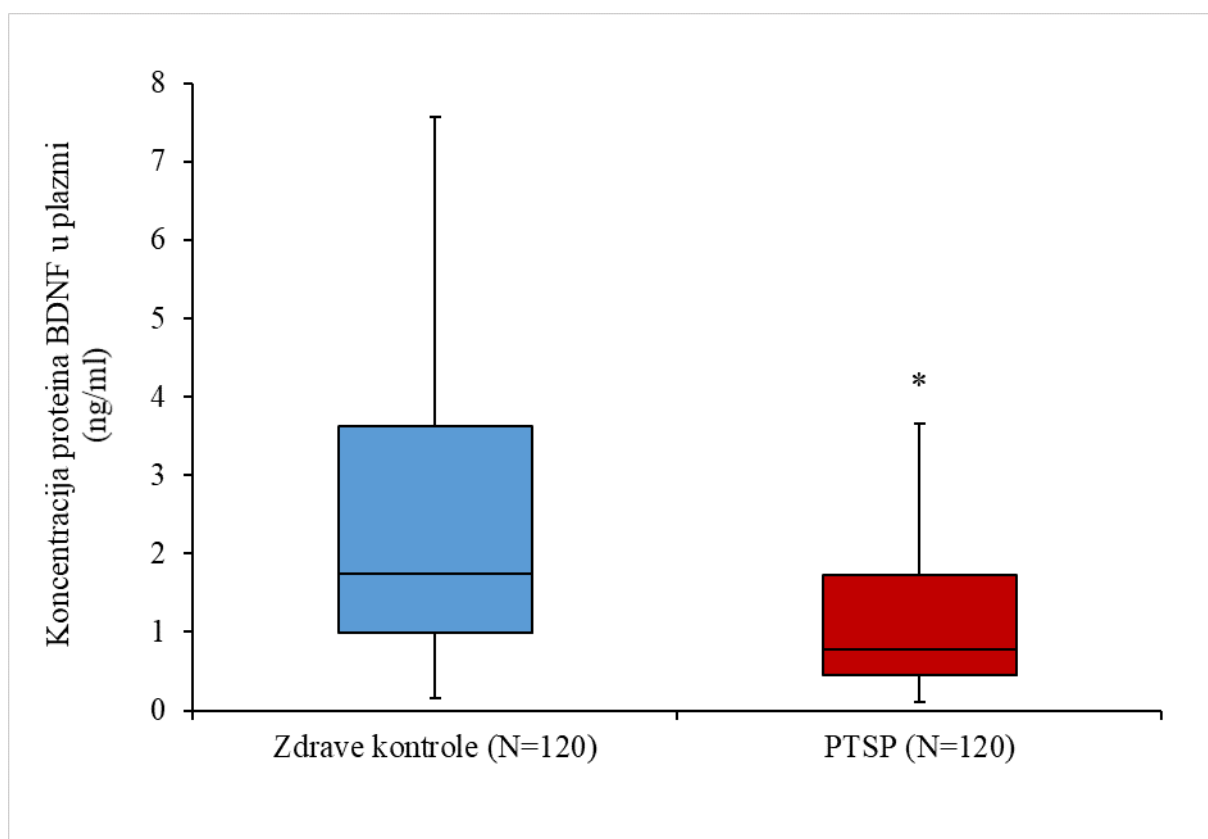
ALT, alanin-aminotransferaza; AST, aspartat-aminotransferaza; GGT, gama-glutamilttransferaza; HDL, lipoprotein s visokom gustoćom (engl. *High Density Lipoprotein*); ITM, indeks tjelesne mase; LDL, lipoprotein s niskom gustoćom (engl. *Low Density Lipoprotein*); PTSP, posttraumatski stresni poremećaj; r<sub>s</sub>, Spearmanov koeficijent korelacije



### 5.1.3. Koncentracija moždanoga neurotrofnog čimbenika u plazmi kod ispitanika s PTSP-om i zdravih ispitanika

Za usporedbu koncentracije proteina BDNF-a u uzorcima plazme zdravih kontrolnih ispitanika s koncentracijom u uzorcima plazme osoba oboljelih od PTSP-a korišten je Mann-Whitney U test zbog odstupanja rezultata od normalne razdiobe.

Rezultat Mann-Whitney U testa pokazuje da postoji značajna razlika u koncentraciji proteina BDNF-a u plazmi između zdravih ispitanika i ispitanika s dijagnozom PTSP-a ( $U = 3977,5$ ;  $p < 0,001$ ; Slika 5.1.). Navedena razlika posljedica je značajno niže koncentracije BDNF-a u plazmi oboljelih od PTSP-a (medijan = 0,785 ng/ml; Q1-Q3 = 0,453 – 1,735 ng/ml) u odnosu na zdrave ispitanike (medijan = 1,741 ng/ml; Q1-Q3=0,999 – 3,628 ng/ml).



Slika 5.1. Koncentracija proteina BDNF-a u plazmi zdravih kontrolnih ispitanika i ispitanika oboljelih od PTSP-a.

PTSP, posttraumatski stresni poremećaj. Središnji pravokutnik predstavlja vrijednosti od donje do gornje kvartile (od 25. do 75. percentila), a središnja linija predstavlja medijan. Horizontalne linije pružaju se od minimalne do maksimalne vrijednosti; \*  $p < 0,050$  vs. zdrave kontrole.

S obzirom na to da su vrijednosti koncentracije proteina BDNF odstupale od normalne razdiobe podataka, dodatno je napravljena transformacija vrijednosti koncentracije BDNF-a u plazmi koristeći funkciju logaritmiranja ( $\lg_{10}$ ) čime su zadovoljeni preduvjeti za korištenje parametrijske statistike. Transformirani podaci analizirani su Studentovim t-testom, a rezultat je potvrdio rezultate dobivene neparametrijskom statističkom analizom, odnosno Mann-Whitney testom. Rezultati pokazuju da postoji značajna razlika u razini proteina BDNF-a u plazmi između zdravih ispitanika i ispitanika s PTSP-om ( $t = 6,54$ ;  $df=238$ ;  $p < 0,001$ ), a dobivena razlika posljedica je značajno niže koncentracije BDNF-a u plazmi pacijenata s PTSP-om u odnosu na zdrave kontrole.

## **5.2. Povezanost polimorfizama gena za *BDNF* i PTSP-a**

### **5.2.1. Demografski podaci ispitanika**

U istraživanje je uključeno ukupno 700 ispitanika muškoga spola koji su podijeljeni na zdrave kontrolne ispitanike ( $N = 350$ ) i ispitanike s dijagnozom PTSP-a ( $N = 350$ ). Pri uključivanju u studiju, ispitanici su bili spareni po dobi kako bi se izbjegao potencijalni učinak dobi na dobivene rezultate. U Tablici 5.3. prikazani su demografski i klinički podatci ispitanika koji su podijeljeni prema dijagnozi.

Normalna distribucija svih demografskih i kliničkih varijabli testirana je Kolmogorov-Smirnovim testom. S obzirom na odstupanja od normalne distribucije, za analizu je korišten neparametrijski Mann-Whitney U test.

Između istraživanih skupina nije bilo statistički značajne razlike (Tablica 5.3.) u dobi ( $p = 0,151$ ) ispitanika, razini LDL-kolesterola ( $p = 0,106$ ) i triglicerida ( $p = 0,366$ ) te koncentraciji enzima AST ( $p = 0,962$ ), ALT ( $p = 0,914$ ) i GGT ( $p = 0,082$ ). Međutim, rezultati (Tablica 5.3.) upućuju na značajnu statističku razliku između istraživanih skupina s obzirom na ITM ( $p < 0,001$ ), koncentraciju glukoze natašte ( $p < 0,001$ ), razinu ukupnoga kolesterola ( $p = 0,016$ ) i razinu HDL-kolesterola ( $p = 0,019$ ). Očekivano, svi značajno promijenjeni biokemijski parametri povišeni su kod ispitanika s dijagnozom PTSP-a, dok je ITM značajno niži kod ispitanika s PTSP-om u odnosu na zdravu kontrolu (Tablica 5.3.). Istraživane skupine značajno se razlikuju i u broju bodova na ljestvici PANSS ( $p < 0,001$ ).

Zdravi kontrolni ispitanici i ispitanici s dijagnozom PTSP-a uspoređeni su i s obzirom na pušački status, odnosno s obzirom na udio pušača u svakoj od skupina. Rezultati upućuju na to da je udio pušača značajno veći ( $\chi^2 = 72,71$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,001$ ) u skupini ispitanika s PTSP-om (69,4 %) u odnosu na kontrolne ispitanike (37,2 %).

Tablica 5.3. Demografski i klinički podatci ispitanika podijeljenih na zdrave kontrole i ispitanike s PTSP-om.

Svi podatci prikazani su kao medijani (25. – 75. percentili).

| Demografski i klinički podaci     | Zdrave kontrole       | PTSP                  | Mann-Whitney U test |                   |
|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|-------------------|
|                                   | (N = 350)             | (N = 350)             | U                   | p                 |
| <b>dob (godine)</b>               | 55<br>(49 – 61)       | 55<br>(51 – 60)       | 65092,0             | 0,151             |
| <b>ITM (kg/m<sup>2</sup>)</b>     | 28,7<br>(26,8 – 31,2) | 27,8<br>(25,7 – 29,8) | 47838,5             | <b>&lt; 0,001</b> |
| <b>glukoza (mmol/l)</b>           | 4,9<br>(4,2 – 5,7)    | 5,5<br>(4,9 – 6,2)    | 26437,0             | <b>&lt; 0,001</b> |
| <b>ukupni kolesterol (mmol/l)</b> | 4,9<br>(4,5 – 6,0)    | 5,2<br>(4,5 – 6,0)    | 24083,5             | <b>0,016</b>      |
| <b>LDL-kolesterol (mmol/l)</b>    | 2,8<br>(2,4 – 3,5)    | 2,9<br>(2,4 – 3,7)    | 23075,0             | 0,106             |
| <b>HDL-kolesterol (mmol/l)</b>    | 1,1<br>(1,0 – 1,3)    | 1,2<br>(1,1 – 1,5)    | 23977,0             | <b>0,019</b>      |
| <b>trigliceridi (mmol/l)</b>      | 1,6<br>(1,1 – 2,5)    | 1,7<br>(1,3 – 2,3)    | 22158,0             | 0,366             |
| <b>AST (U/l)</b>                  | 18<br>(12 – 21,5)     | 15<br>(13 – 21)       | 20939,5             | 0,962             |
| <b>ALT (U/l)</b>                  | 20<br>(13 – 24)       | 16<br>(14 – 24)       | 20862,0             | 0,914             |
| <b>GGT (U/l)</b>                  | 20<br>(14 – 24)       | 20<br>(16 – 24)       | 23230,5             | 0,082             |
| <b>PANSS (ukupni)</b>             | 32<br>(30 – 33)       | 59<br>(56 – 63)       | 40733,5             | <b>&lt; 0,001</b> |
| <b>CAPS</b>                       | NP                    | 86<br>(78 – 90)       | NP                  | NP                |

ALT, alanin-aminotransferaza; AST, aspartat-aminotransferaza; CAPS, Klinička skala za procjenu PTSP-a (engl. *Clinician-Administered PTSD*); GGT, gama-glutamiltransferaza; HDL, lipoprotein s visokom gustoćom (engl. *High Density Lipoprotein*); ITM, indeks tjelesne mase; LDL, lipoprotein s niskom gustoćom (engl. *Low Density Lipoprotein*); NP, nije primjenjivo; PANSS, Klinička ljestvica pozitivnih i negativnih simptoma (engl. *Positive and Negative Syndrome Scale*); PTSP, posttraumatski stresni poremećaj.

### 5.2.2. Povezanost polimorfizma gena za *BDNF* i PTSP-a

Uz pomoć metode PCR-a u stvarnom vremenu određeni su genotipovi svih 700 ispitanika s obzirom na dva istraživana polimorfizma (Val66Met ili rs6265 i C270T ili rs56164415) gena *BDNF*. U Tablici 5.4. za oba su istraživana polimorfizma navedene oznake, pozicija, aleli, udio rjeđeg alela u populaciji ispitanika uključenih u istraživanje te P-vrijednosti koje se odnose na provjeru odstupanja raspodjele genotipova od Hardy-Weinbergove ravnoteže (HWE).

Raspodjela genotipova s obzirom na polimorfizam Val66Met gena *BDNF* bila je u HWE-u kod zdravih kontrolnih ispitanika ( $\chi^2 = 2,25$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0,134$ ) i kod veterana s dijagnozom PTSP-a ( $\chi^2 = 0,67$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0,414$ ).

U slučaju polimorfizma C270T distribucija genotipova odstupala je od HWE-a kod zdravih ispitanika ( $\chi^2 = 119,58$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,001$ ) i kod ispitanika s PTSP-om ( $\chi^2 = 4,98$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0,026$ ).

Tablica 5.4. Istraživani polimorfizmi gena *BDNF*.

| SNP ID     | Stara oznaka | Pozicija na kromosomu 11 | Lokacija | Aleli | Udio rjeđeg alela | HWE P-vrijednost |
|------------|--------------|--------------------------|----------|-------|-------------------|------------------|
| rs6265     | Val66Met     | 27679916                 | ekson    | G A   | 0,209             | 0,560            |
| rs56164415 | C270T        | 27721735                 | intron   | C T   | 0,115             | < 0,001          |

HWE, Hardy-Weinbergova ravnoteža; A; adenin; G, gvanin; T, timin, C, citozin; SNP, polimorfizam jedne baze

Uz pomoć programa Haploview, verzija 4.2 (Broad Institute of Harvard and MIT, SAD) (296) provjereno je jesu li istraživani polimorfizmi unutar gena *BDNF* u neravnoteži udruživanja (LD, od engl. *linkage disequilibrium*), odnosno postoje li određene kombinacije alela (haplotipovi) koje se češće zajedno nasljeđuju od očekivanoga. Za određivanje LD-a korišten je standardizirani koeficijent  $D'$  čija vrijednost iznad 0,80 označava da su dva istraživana polimorfizma u LD-u.

Analiza programom Haploview (Slika 5.2.) upućuje na to da istraživani polimorfizmi Val66Met i C270T nisu u LD-u ( $D' = 0.33$ ) zbog čega su u daljnjim analizama obrađivani odvojeno.



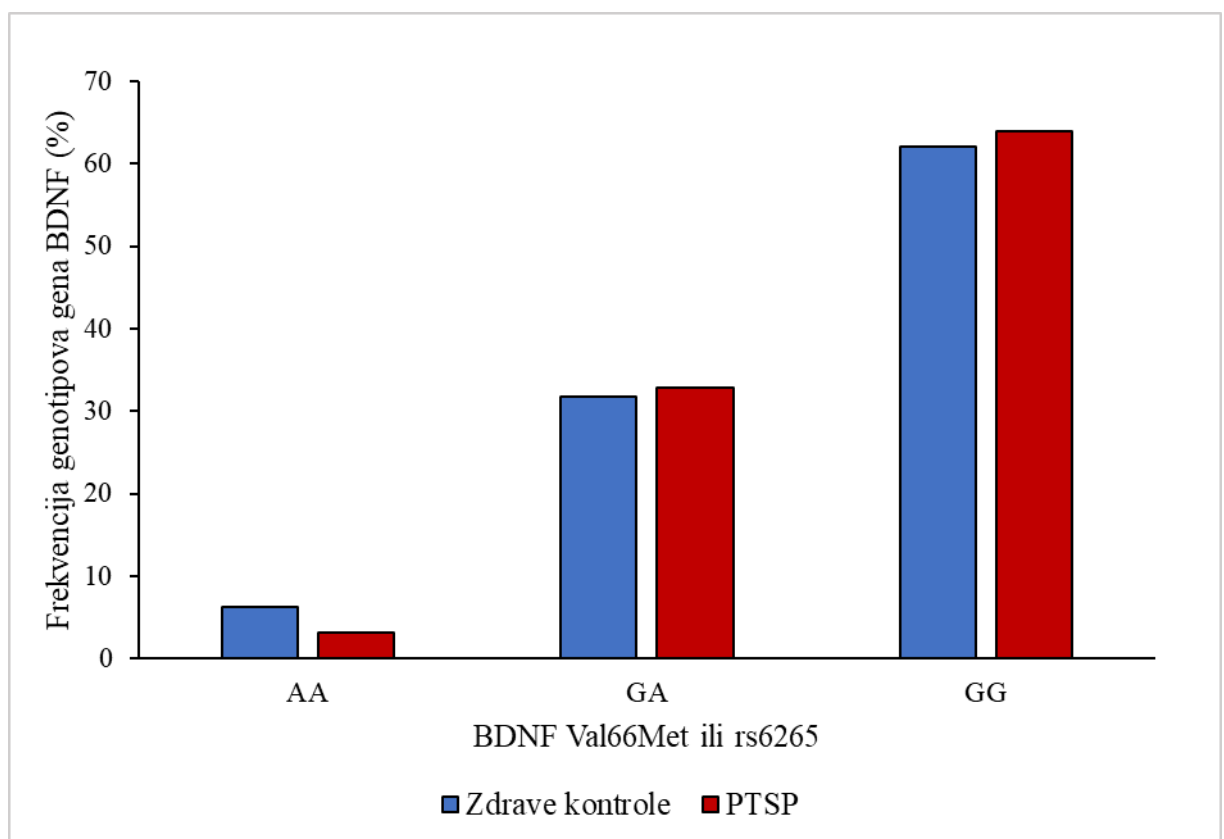
Slika 5.2. Prikaz analize neravnoteže udruživanja između polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF*. Vrijednost u kvadratu predstavlja vrijednost LD-a između parova polimorfizama ( $D'$ ).

#### 5.2.2.1. Povezanost polimorfizma Val66Met gena za *BDNF* s dijagnozom PTSP-a

Pomoću  $\chi^2$ -testa provjereno je postoji li značajna razlika u frekvenciji genotipova s obzirom na polimorfizam Val66Met između pušača i nepušača unutar dijagnostičkih skupina. Kod zdravih kontrolnih ispitanika nije bilo značajne razlike u frekvenciji pojedinih genotipova između pušača i nepušača ( $\chi^2 = 2,17$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,338$ ), a nije uočena niti značajna razlika u frekvenciji pojedinih genotipova između pušača i nepušača kod veterana s dijagnozom PTSP-

a ( $\chi^2 = 2,50$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,286$ ). Zbog toga nalaza, u analizama vezanim za polimorfizam Val66Met, nije u obzir uzet pušački status.

Distribucija pojedinih genotipova, s obzirom na polimorfizam Val66Met gena *BDNF*, u skupini zdravih kontrola te skupini ispitanika s dijagnozom PTSP-a vidljiva je iz Slike 5.3. Rezultati usporedbe frekvencije genotipova među grupama ispitanika pokazuju kako nema značajne razlike u frekvenciji genotipova s obzirom na polimorfizam *BDNF* Val66Met između ispitanika s PTSP-om i zdravih kontrolnih ispitanika. Ti rezultati upućuju na nedostatak povezanosti između polimorfizma Val66Met gena *BDNF* i dijagnoze PTSP-a (Slika 5.3).



Slika 5.3. Distribucija genotipova s obzirom na polimorfizam Val66Met (rs6265) gena *BDNF* kod zdravih kontrolnih ispitanika i veterana s dijagnozom PTSP-a. AA = Met/Met; GA = Val/Met; GG = Val/Val genotip

Distribucije genotipova i alela s obzirom na polimorfizam Val66Met gena *BDNF* kod zdravih ispitanika i ispitanika s dijagnozom PTSP prikazane su i u Tablici 5.5. Pri usporedbi raspodjele genotipova uspoređene su sve tri skupine genotipova (Met/Met vs. Val/Met vs.

Val/Val), te nosioci alela Met (heterozigoti Val/Met i homozigoti Met/Met) vs. homozigoti Val/Val (Tablica 5.5.). Rezultati pokazuju da nema značajne razlike u raspodjeli genotipova i alela BDNF Val66Met između zdravih ispitanika i ispitanika s dijagnozom PTSP-a (Tablica 5.5.). Ti rezultati upućuju da polimorfizam Val66Met gena *BDNF* nije povezan s dijagnozom PTSP-a.

Tablica 5.5. Distribucija alela i genotipova s obzirom na polimorfizam **Val66Met** gena *BDNF* kod zdravih kontrolnih ispitanika i ispitanika s dijagnozom PTSP-a.

| Gen         | SNP                       | ZDRAVE<br>KONTROLE<br>N (%)              | PTSP<br>N (%)                            |            |
|-------------|---------------------------|--|--|------------|
| <i>BDNF</i> | Val66Met ili rs6265       | <b>genotip</b>                           |  |            |
|             |                           | <b>Met/Met</b>                           | 22 (6,3)                                 | 11 (3,1)   |
|             |                           | <b>Val/Met</b>                           | 111 (31,7)                               | 115 (32,9) |
|             |                           | <b>Val/Val</b>                           | 217 (62,0)                               | 224 (64,0) |
|             |                           | <b>χ<sup>2</sup>-test</b>                | χ <sup>2</sup> = 3,85; df = 2; p = 0,146 |            |
|             |                           | <b>genotip</b>                           |  |            |
|             | <b>Nosioci alela Met</b>  | 113 (38,0)                               | 126 (36,0)                               |            |
|             | <b>Val/Val</b>            | 217 (62,0)                               | 224 (64,0)                               |            |
|             | <b>χ<sup>2</sup>-test</b> | χ <sup>2</sup> = 0,30; df = 1; p = 0,584 |  |            |
|             | <b>Aleli</b>              |  |  |            |
|             | <b>Met</b>                | 155 (22,1)                               | 137 (19,6)                               |            |
|             | <b>Val</b>                | 545 (77,9)                               | 563 (80,4)                               |            |
|             | <b>χ<sup>2</sup>-test</b> | χ <sup>2</sup> = 1,40; df = 1; p = 0,236 |  |            |

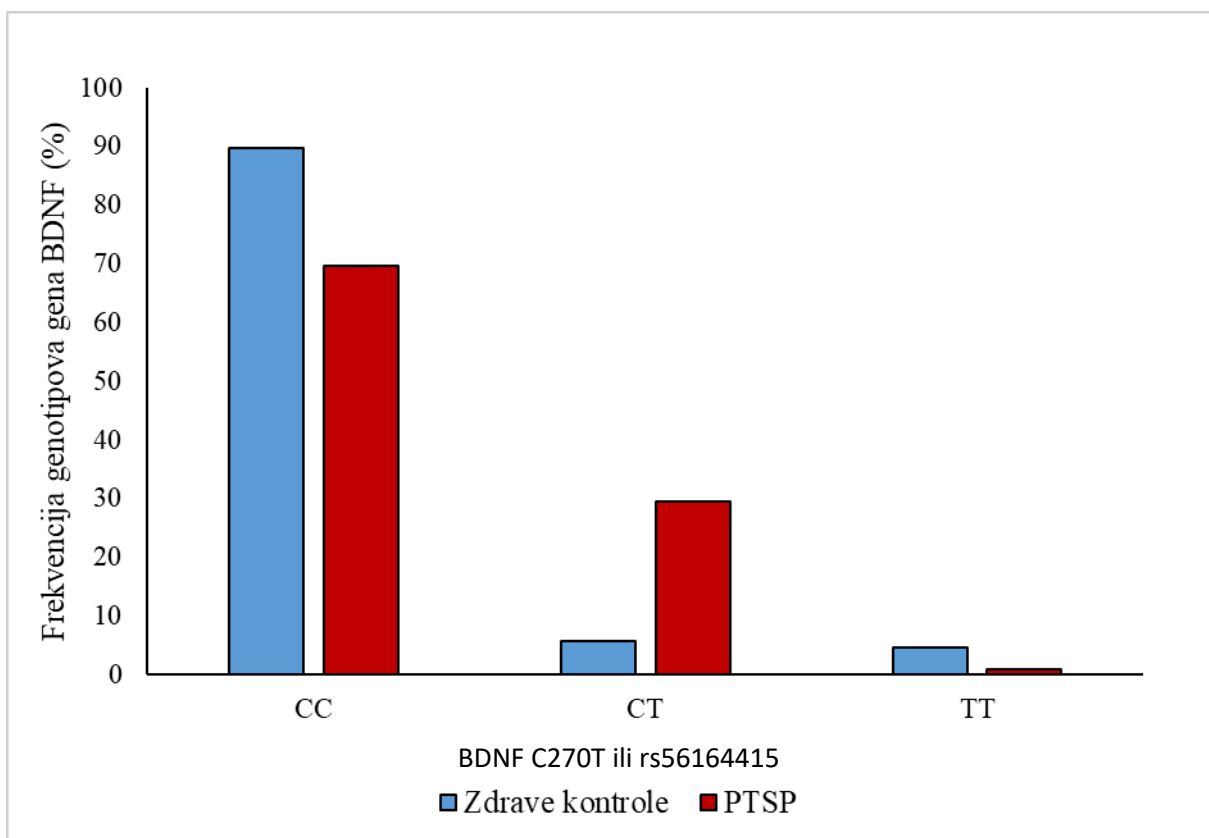
*BDNF*, moždani neurotrofni čimbenik; Met, metionin; N, broj ispitanika; PTSP, posttraumatski stresni poremećaj; SNP, polimorfizam jedne baze; Val, valin.

#### 5.2.2.2. Povezanost polimorfizma C270T gena za BDNF s dijagnozom PTSP-a

Pomoću  $\chi^2$ -testa provjereno je postoji li značajna razlika u frekvenciji genotipova s obzirom na polimorfizam BDNF C270T između pušača i nepušača između ispitanika s PTSP-om i kontrolnih ispitanika. Kod zdravih kontrolnih ispitanika nije bilo značajne razlike u frekvenciji pojedinih genotipova između pušača i nepušača ( $\chi^2 = 4,58$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,101$ ), a isti trend (nedostatak značajne razlike u frekvenciji pojedinih genotipova između pušača i nepušača) uočen je i kod veterana s dijagnozom PTSP-a ( $\chi^2 = 0,82$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,662$ ). Zbog toga nalaza u analizama vezanim za polimorfizam C270T nije uzet u obzir pušački status.

Distribucija pojedinih genotipova s obzirom na polimorfizam C270T gena *BDNF* i skupini zdravih kontrolnih ispitanika te skupini ispitanika s dijagnozom PTSP-a vidljiva je iz Slike 5.4. Rezultati usporedbe frekvencije genotipova između grupa ispitanika upućuju na značajnu ( $\chi^2 = 373,68$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,001$ ) povezanost polimorfizma C270T gena *BDNF* s dijagnozom PTSP-a (Slika 5.4.). Značajnoj razlici u frekvenciji genotipova između istraživanih skupina najviše doprinosi značajno veći udio heterozigota CT u skupini ispitanika s dijagnozom PTSP-a u odnosu na zdrave kontrole ( $R = 8,2$ ).





Slika 5.4. Distribucija genotipova s obzirom na polimorfizam C270T (rs5614415) gena *BDNF* kod zdravih kontrolnih ispitanika i veterana s dijagnozom PTSP-a

Distribucije genotipova i alela s obzirom na polimorfizam C270T gena *BDNF* kod zdravih ispitanika i ispitanika s dijagnozom PTSP-a prikazane su u Tablici 5.6. Rezultati pokazuju da postoji značajna razlika u raspodjeli C270T genotipova ( $\chi^2 = 373,68$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,001$ ), T nosioca vs. CC homozigota ( $\chi^2 = 43,29$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,001$ ) i T i C alela ( $\chi^2 = 22,80$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,001$ ) između uspoređivanih skupina ispitanika (Tablica 5.6.). Pri usporedbi raspodjele genotipova uspoređene su sve tri skupine genotipova (CC vs. CT vs. TT), aleli C i T te nosioci alela T (heterozigoti CT i homozigoti TT) vs. homozigoti CC (Tablica 5.6.). Naime, prisustvo jednoga ili dva T alela s obzirom na C270T bilo je značajno češće pronađeno kod ispitanika s PTSP-om prema zdravim kontrolnim ispitanicima.

Tablica 5.6. Distribucija alela i genotipova s obzirom na polimorfizam C270T gena *BDNF* kod zdravih kontrolnih ispitanika i ispitanika s PTSP-om

| Gen            | SNP                                  | ZDRAVE<br>KONTROLE<br>N (%) | PTSP<br>N (%)                         |            |
|----------------|--------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|------------|
| <i>BDNF</i>    | C270T ili rs56164415                 | <b>genotip</b>              |                                       |            |
|                |                                      | CC                          | 314 (89,7)                            | 244 (69,7) |
|                |                                      | CT                          | 20 (5,7)                              | 103 (29,4) |
|                |                                      | TT                          | 16 (4,6)                              | 3 (0,9)    |
|                |                                      | $\chi^2$ -test              | $\chi^2 = 373,68$ ; df = 2; p < 0,001 |            |
|                |                                      | <b>genotip</b>              |                                       |            |
|                |                                      | CC                          | 314 (89,7)                            | 244 (69,7) |
|                |                                      | <b>nosioci alela T</b>      | 36 (10,3)                             | 106 (30,3) |
|                |                                      | $\chi^2$ -test              | $\chi^2 = 43,29$ ; df = 1; p < 0,001  |            |
|                |                                      | <b>aleli</b>                |                                       |            |
|                |                                      | C                           | 155 (22,1)                            | 137 (19,6) |
|                |                                      | T                           | 545 (77,9)                            | 563 (80,4) |
| $\chi^2$ -test | $\chi^2 = 22,80$ ; df = 1; p < 0,001 |                             |                                       |            |

*BDNF*, moždani neurotrofni čimbenik; N, broj ispitanika; PTSP, posttraumatski stresni poremećaj; SNP, polimorfizam jedne baze

### 5.3. Polimorfizmi gena za *BDNF* i koncentracija moždanoga neurotrofnog čimbenika u plazmi

Utjecaj istraživanih polimorfizama gena *BDNF*, Val66Met i C270T na koncentraciju proteina *BDNF*-a u plazmi zdravih kontrolnih ispitanika i ispitanika s dijagnozom PTSP-a (N = 240), analiziran je metodom dvosmjerne ANOVA-e koja procjenjuje odnos između jedne kontinuirane varijable (koncentracija proteina *BDNF*-a u plazmi) i dviju nominalnih varijabli (dijagnoza i pojedini polimorfizam). Zbog odstupanja od normalne razdiobe podataka za analize pomoću dvosmjerne ANOVA-e korištene su transformirane vrijednosti koncentracije

proteina BDNF-a u plazmi. Vrijednosti koncentracije proteina BDNF-a transformirane su koristeći funkciju logaritmiranja ( $\lg_{10}$ ) čime su zadovoljeni preduvjeti za korištenje parametrijske statistike.

Rezultati analize pomoću dvosmjerne ANOVA-e potvrdili su značajan utjecaj dijagnoze ( $p = 0,003$ ), ali ne i značajan učinak istraživanih polimorfizama, zasebno (Val66Met:  $p = 0,588$ ; C270T:  $p = 0,719$ ) i u kombinaciji s dijagnozom (Val66Met\*dijagnoza:  $p = 0,782$ ; C270T\*dijagnoza:  $p = 0,327$ ), na vrijednosti koncentracije proteina BDNF u plazmi (Tablica 5.7.).

Tablica 5.7. Utjecaj polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF* na koncentraciju proteina BDNF-a u plazmi.

| Polimorfizam<br>gena <i>BDNF</i> | Utjecaj na koncentraciju proteina BDNF u plazmi<br>(dvosmjerna ANOVA) |    |       |              |    |       |                          |    |       |
|----------------------------------|---|----|-------|--------------|----|-------|--------------------------|----|-------|
|                                  | dijagnoza   |    |       | polimorfizam |    |       | dijagnoza x polimorfizam |    |       |
|                                  | F   | df | p     | F            | df | p     | F                        | df | p     |
| <b>Val66Met</b>                  | 9,04  | 1  | 0,003 | 0,53         | 2  | 0,588 | 0,25                     | 2  | 0,782 |
| <b>C270T</b>                     | 9,15  | 1  | 0,003 | 0,33         | 1  | 0,719 | 1,12                     | 2  | 0,327 |

ANOVA, analiza varijance; BDNF, moždani neurotrofni čimbenik.

#### 5.4. Kognitivni simptomi u PTSP-u

##### 5.4.1. Izraženost kognitivnih simptoma kod zdravih ispitanika i ispitanika s PTSP-om

Rezultati usporedbe broja bodova na pojedinim kognitivnim testovima između zdravih ispitanika i ispitanika s dijagnozom PTSP-a prikazani su u Tablici 5.8. Iz rezultata je vidljivo da ispitanici s dijagnozom PTSP-a imaju značajno izraženije kognitivne simptome u odnosu na zdrave kontrolne ispitanike (Tablica 5.8). Sva četiri korištena kognitivna testa (Tablica 5.8.) upućuju na poremećaj kognitivnih funkcija kod pacijenata s dijagnozom PTSP-a ( $p < 0,001$ ).

Tablica 5.8. Kognitivni simptomi ispitanika podijeljenih prema dijagnozi na zdrave kontrole (N = 120) i ispitanike s dijagnozom PTSP-a (N = 120).

Svi podatci prikazani su kao medijani (25. – 75. percentili).

| Demografski i klinički podaci      | Zdrave kontrole  | PTSP            | Mann-Whitney U-test |                |
|------------------------------------|------------------|-----------------|---------------------|----------------|
|                                    | (N = 120)        | (N = 120)       | U                   | p              |
| <b>MMSE</b>                        | 30<br>(30 – 30)  | 25<br>(22 – 25) | 0,0                 | < <b>0,001</b> |
| <b>test crtanja sata</b>           | 5<br>(5 – 5)     | 3<br>(1 – 3)    | 15,0                | < <b>0,001</b> |
| <b>MoCA</b>                        | 30<br>(30 – 30)) | 27<br>(24 – 28) | 1600,0              | < <b>0,001</b> |
| <b>PANSS<br/>kognitivna domena</b> | 5<br>(5 – 5)     | 9<br>(8 – 9)    | 14110,0             | < <b>0,001</b> |

MMSE, Kratki test za ocjenu kognitivnog stanja (engl. *Mini-Mental State Examination*); MoCA, Montrealsko kognitivno ocjenjivanje (engl. *Montreal Cognitive Assessment*); PANSS, Klinička ljestvica pozitivnih i negativnih simptoma (engl. *Positive and Negative Syndrome Scale*); PTSP, posttraumatski stresni poremećaj

Zbog potencijalnoga utjecaja dobi na izraženost kognitivnih simptoma analizirana je korelacija dobi s vrijednostima broja bodova na kognitivnim ljestvicama MMSE, Testom crtanja sata, skalom MoCA, i kognitivnom domenom ljestvice PANSS (Tablica 5.9.).

Iz dobivenih rezultata (Tablica 5.9.) vidljivo je da unutar skupine zdravih ispitanika i skupine ispitanika s dijagnozom PTSP-a nema značajne korelacije dobi s razinom kognitivnoga oštećenja procijenjenoga pomoću testa MMSE ( $p = 0,057$ ;  $p = 0,466$ ), Testa crtanja sata ( $p = 0,314$ ;  $p = 0,724$ ), ljestvice MoCA ( $p = 0,154$ ;  $p = 0,497$ ) te kognitivne domene ljestvice PANSS ( $p = 0,138$ ;  $p = 0,500$ ). Kada su svi ispitanici zajednički promatrani, također je izostala značajna korelacija dobi s razinom kognitivnoga oštećenja (Tablica 5.9.). Zbog navedenoga je dob, kao neovisna varijabla, isključena iz daljnjih analiza koje se odnose na istraživanje povezanosti razine kognitivnoga oštećenja kod ispitanika s PTSP-om i koncentracije proteina BDNF u plazmi.

Tablica 5.9. Korelacija dobi s brojem bodova na kognitivnim testovima kod zdravih kontrolnih ispitanika (N = 120), ispitanika s dijagnozom PTSP-a (N = 120) i svih ispitanika zajedno (N = 240).

| Kognitivni testovi             | Zdrave kontrole |       | PTSP      |       | Svi zajedno |       |
|--------------------------------|-----------------|-------|-----------|-------|-------------|-------|
|                                | (N = 120)       |       | (N = 120) |       | (N = 240)   |       |
| kognitivni testovi             | $r_s$           | p     | $r_s$     | p     | $r_s$       | p     |
| <b>MMSE</b>                    | 0,174           | 0,057 | 0,067     | 0,466 | 0,007       | 0,919 |
| <b>Test crtanja sata</b>       | 0,093           | 0,314 | 0,033     | 0,724 | 0,004       | 0,951 |
| <b>MoCA</b>                    | 0,154           | 0,101 | -0,063    | 0,497 | -0,026      | 0,688 |
| <b>PANSS kognitivna domena</b> | 0,138           | 0,133 | -0,062    | 0,500 | 0,035       | 0,585 |

MMSE, Kratki test za ocjenu kognitivnoga stanja (engl. *Mini-Mental State Examination*); MoCA, Montrealsko kognitivno ocjenjivanje (engl. *Montreal Cognitive Assessment*); PANSS, Klinička ljestvica pozitivnih i negativnih simptoma (engl. *Positive and Negative Syndrome Scale*); PTSP, posttraumatski stresni poremećaj;  $r_s$ , Spearmanov koeficijent korelacije

#### 5.4.2. Koncentracija BDNF-a u plazmi i kognitivni simptomi u PTSP-u

##### 5.4.2.1. Koncentracija BDNF-a u plazmi i kratki test za ocjenu kognitivnoga stanja (MMSE)

Povezanost broja bodova na testu MMSE i koncentracije proteina BDNF u plazmi ispitanika s dijagnozom PTSP-a (N = 120) i zdravih kontrola (N = 120) određena je pomoću Spearmanovoga koeficijenta korelacije ( $r_s$ ) jer je raspodjela podataka odstupala od normalne razdiobe. Dodatno je i analizirana korelacija broja bodova na testu MMSE s razinom BDNF-a u plazmi kod svih ispitanika zajedno (N = 240).

Rezultati (Tablica 5.10.) pokazuju da nema značajne korelacije između broja bodova na testu MMSE i koncentracije BDNF-a u plazmi kod zdravih kontrolnih ispitanika ( $p = 0,232$ ) i

ispitanika s PTSP-om ( $p = 0,883$ ). Međutim, kada su promatrani svi ispitanici zajedno (Tablica 5.10.), Spearmanova analiza korelacije pokazala je da broj bodova na testu MMSE značajno i pozitivno korelira s razinom BDNF-a na periferiji ( $p < 0,001$ ) što upućuje na to da osobe s višom koncentracijom proteina BDNF u plazmi imaju manje izražene kognitivne smetnje.

Tablica 5.10. Korelacija broja bodova na testu MMSE s koncentracijom proteina BDNF u plazmi kod zdravih kontrolnih ispitanika ( $N = 120$ ), ispitanika s dijagnozom PTSP-a ( $N = 120$ ) i svih ispitanika zajedno ( $N = 240$ ).

| MMSE                               | $r_s$  | p       |
|------------------------------------|--------|---------|
| <b>zdrave kontrole<br/>(N=120)</b> | -0,100 | 0,232   |
| <b>PTSP<br/>(N=120)</b>            | -0,014 | 0,883   |
| <b>svi zajedno<br/>(N=240)</b>     | 0,350  | < 0,001 |

MMSE, kratki test za ocjenu kognitivnoga stanja (engl. *Mini-Mental State Examination*); PTSP, Posttraumatski stresni poremećaj;  $r_s$ , Spearmanov koeficijent korelacije

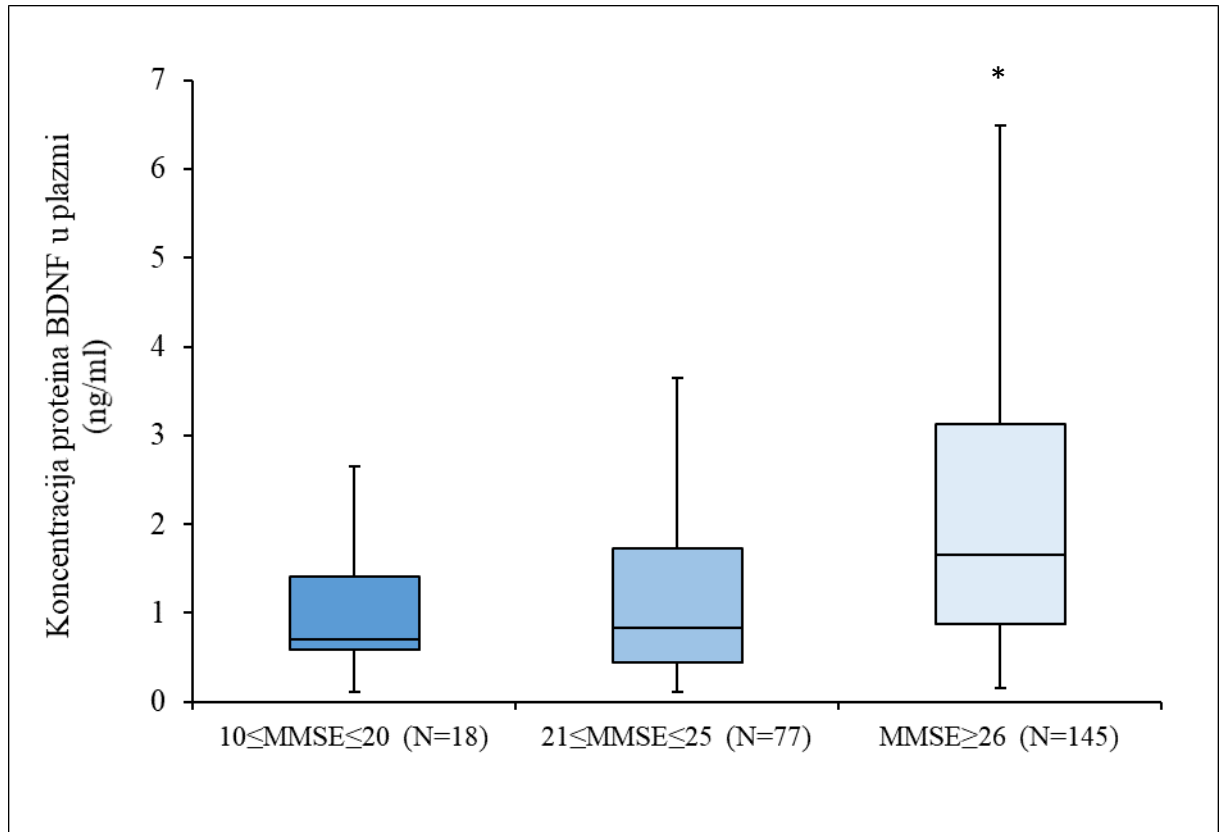
Kako bi dodatno ispitali povezanost kognitivnih simptoma s koncentracijom BDNF-a u plazmi, svi ispitanici, ili samo ispitanici s PTSP-om, podijeljeni su prema broju bodova na testu MMSE-a tri skupine:

- osobe s normalnim kognitivnim funkcijama (broj bodova od 26 do 30)
- osobe s blagim poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 21 do 25)
- osobe s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 10 do 20).

Među ispitanicima nije bilo osoba s teškim poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova  $\leq 9$ ), a svi su zdravi kontrolni ispitanici bili u skupini ispitanika s normalnim kognitivnim funkcijama.

Usporedba je napravljena pomoću Kruskal-Wallis testa i rezultati su pokazali da postoji značajna razlika ( $H = 23,60$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,001$ ) u koncentraciji BDNF-a u plazmi između skupina podijeljenih prema razini kognitivnoga oštećenja procijenjenog pomoću testa MMSE

(Slika 5.5.). Razlika proizlazi iz značajno niže koncentracije proteina BDNF-a kod ispitanika s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija određenom MMSE testom ( $p = 0,006$ ; Dunnov test) i ispitanika s blagim poremećajem kognitivnih funkcija ( $p < 0,001$ ; Dunnov test) u odnosu na ispitanike s normalnim kognitivnim funkcijama (Slika 5.5.).

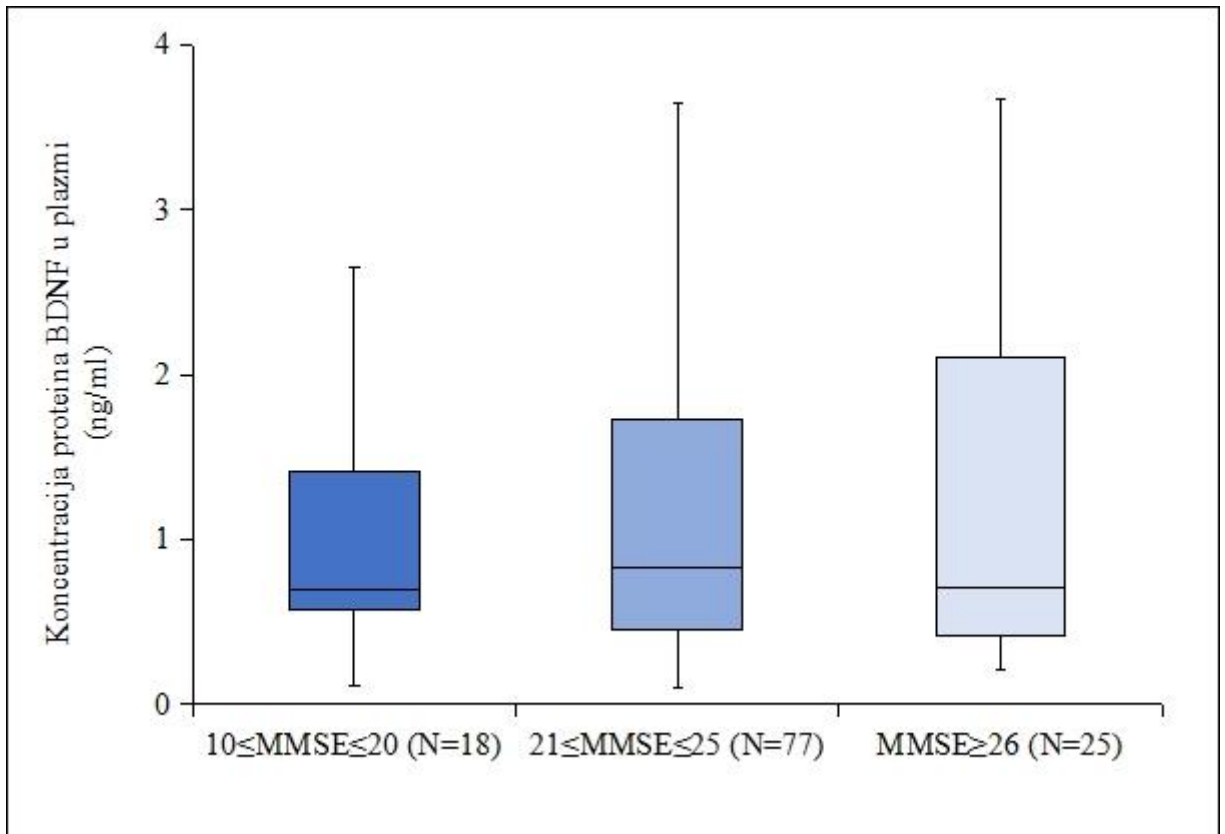


Slika 5.5. Koncentracija proteina BDNF-a u plazmi svih ispitanika zajedno: zdravih kontrolnih ispitanika i ispitanika oboljelih od PTSP-a ( $N = 240$ ), podijeljenih prema broju bodova na testu MMSE na ispitanike s normalnim kognitivnim funkcijama ( $MMSE \geq 26$ ), ispitanike s blagim poremećajem kognitivnih funkcija ( $21 \leq MMSE \leq 25$ ) i ispitanike s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija ( $10 \leq MMSE \leq 20$ ).

Središnji pravokutnik predstavlja vrijednosti od donje do gornje kvartile (od 25. do 75. percentila), a središnja linija predstavlja medijan. Horizontalne linije pružaju se od minimalne do maksimalne vrijednosti; \* $p < 0,050$  vs. ispitanici s blagim ( $21 \leq MMSE \leq 25$ ) ili umjerenim ( $10 \leq MMSE \leq 20$ ) poremećajem kognitivnih funkcija.

Kako bi se provjerila moguća povezanost koncentracije proteina BDNF-a u plazmi i kognicije određene pomoću skale MMSE unutar ispitanika oboljelih PTSP-a ( $N = 120$ ), samo ispitanici

s PTSP-om podijeljeni su prema broju bodova na testu MMSE, i to na ispitanike s normalnim kognitivnim funkcijama ( $MMSE \geq 26$ ), ispitanike s blagim poremećajem kognitivnih funkcija ( $21 \leq MMSE \leq 25$ ) i ispitanike s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija ( $10 \leq MMSE \leq 20$ ), Slika 5.6.



Slika 5.6. Koncentracija proteina BDNF-a u plazmi ispitanika oboljelih od PTSP-a ( $N = 120$ ) podijeljenih prema broju bodova na testu MMSE na ispitanike s normalnim kognitivnim funkcijama ( $MMSE \geq 26$ ), ispitanike s blagim poremećajem kognitivnih funkcija ( $21 \leq MMSE \leq 25$ ) i ispitanike s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija ( $10 \leq MMSE \leq 20$ ).

Središnji pravokutnik predstavlja vrijednosti od donje do gornje kvartile (od 25. do 75. percentila), a središnja linija predstavlja medijan. Horizontalne linije pružaju se od minimalne do maksimalne vrijednosti.

Kako bi se ispitala povezanost kognitivnih simptoma s koncentracijom BDNF-a u plazmi, unutar ispitanika s PTSP-om, ispitanici su podijeljeni prema broju bodova na testu MMSE u tri skupine (Slika 5.6.). Usporedba je napravljena pomoću Kruskal-Wallis testa i rezultati su



pokazali da ne postoji značajna razlika ( $H = 0,25$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,883$ ) u koncentraciji BDNF-a u plazmi između ispitanika s PTSP-om, podijeljenih prema razini kognitivnoga oštećenja procijenjenog pomoću testa MMSE-a (Slika 5.6.).

#### 5.4.2.2. Koncentracija BDNF-a u plazmi i test crtanja sata

Povezanost broja bodova na testu crtanja sata i koncentracije proteina BDNF-a u plazmi ispitanika s dijagnozom PTSP-a ( $N = 120$ ) i zdravih kontrola ( $N = 120$ ) određena je pomoću Spearmanovoga koeficijenta korelacije ( $r_s$ ) jer je raspodjela podataka odstupala od normalne razdiobe. Dodatno je i analizirana korelacija broja bodova na Testu crtanja sata s razinom BDNF-a u plazmi kod svih ispitanika zajedno ( $N = 240$ ).

Rezultati (Tablica 5.11.) pokazuju da nema značajne korelacije između broja bodova na testu crtanja sata i koncentracije BDNF-a u plazmi kod zdravih kontrolnih ispitanika ( $p = 0,586$ ) i ispitanika s PTSP-om ( $p = 0,855$ ). Međutim, kada su promatrani svi ispitanici zajedno (Tablica 5.11.), Spearmanova analiza korelacije pokazala je da broj bodova na testu crtanja sata značajno i pozitivno korelira s razinom BDNF-a na periferiji ( $P < 0,001$ ), što potvrđuje prethodne rezultate i upućuje na to da ispitanici s višom koncentracijom proteina BDNF-a u plazmi imaju manje izražene kognitivne smetnje.

Tablica 5.11. Korelacija broja bodova na testu crtanja sata s koncentracijom proteina BDNF u plazmi kod zdravih kontrolnih ispitanika ( $N = 120$ ), ispitanika s dijagnozom PTSP-a ( $N = 120$ ) i svih ispitanika zajedno ( $N = 240$ ).

| Test crtanja sata                  | $r_s$  | p       |
|------------------------------------|--------|---------|
| <b>zdrave kontrole<br/>(N=120)</b> | 0,050  | 0,586   |
| <b>PTSP<br/>(N=120)</b>            | -0,017 | 0,855   |
| <b>svi zajedno<br/>(N=240)</b>     | 0,302  | < 0,001 |

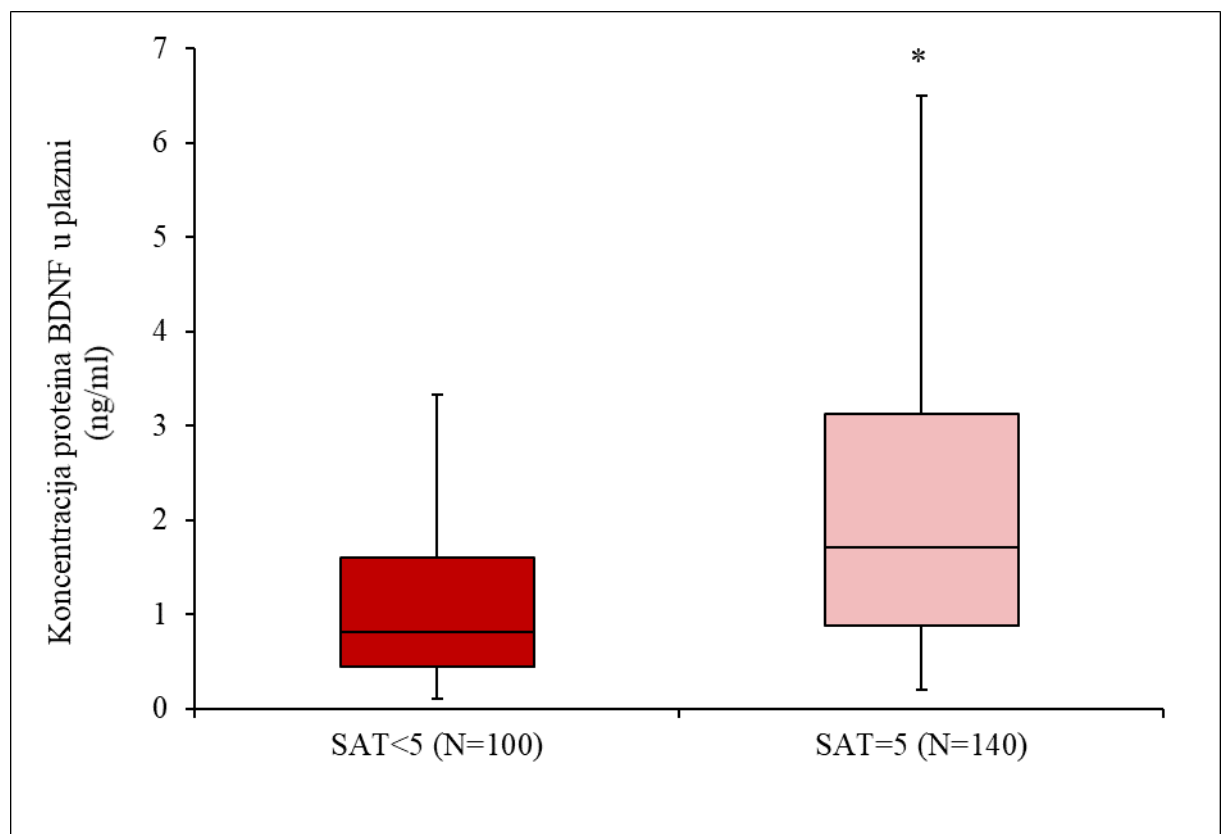
Kratice: PTSP, Posttraumatski stresni poremećaj;  $r_s$ , Spearmanov koeficijent korelacije

Kako bi se dodatno ispitala povezanost kognitivnih simptoma s koncentracijom BDNF-a u plazmi, svi ispitanici, ili samo ispitanici s PTSP-om, podijeljeni su prema broju bodova na testu crtanja sata u dvije skupine:

- osobe s normalnim kognitivnim funkcijama (broj bodova 5)
- osobe s poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 0 do 4).

Svi su zdravi kontrolni ispitanici bili u skupini ispitanika s normalnim kognitivnim funkcijama.

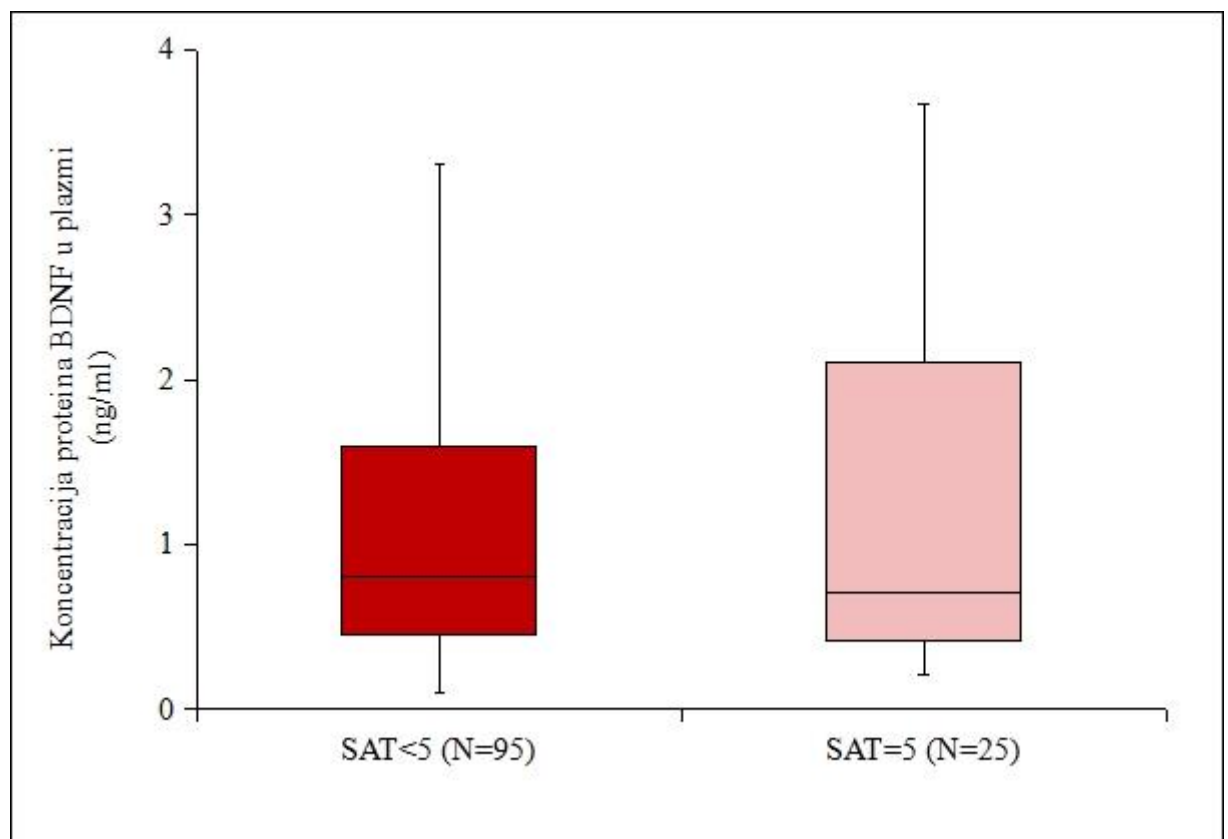
Usporedba je napravljena pomoću Mann-Whitney U testa i rezultati su pokazali da postoji značajna razlika ( $U = 9600,0$ ;  $p < 0,001$ ) u koncentraciji BDNF-a u plazmi između svih ispitanika s normalnim kognitivnim funkcijama i osoba s poremećajem kognitivnih funkcija (Slika 5.7.). Razlika proizlazi iz značajno niže koncentracije proteina BDNF kod svih ispitanika s poremećajem kognitivnih funkcija određenim testom crtanja sata ( $p < 0,001$ ) u odnosu na ispitanike s normalnim kognitivnim funkcijama (Slika 5.7.).



Slika 5.7. Koncentracija proteina BDNF u plazmi svih ispitanika zajedno: zdravih kontrolnih ispitanika i ispitanika oboljelih od PTSP-a (N = 240), podijeljenih prema broju bodova na Testu crtanja sata (SAT) na ispitanike s normalnim kognitivnim funkcijama (SAT = 5) i ispitanike s poremećajem kognitivnih funkcija (SAT < 5).

Središnji pravokutnik predstavlja vrijednosti od donje do gornje kvartile (od 25. do 75. percentila), a središnja linija predstavlja medijan. Horizontalne linije pružaju se od minimalne do maksimalne vrijednosti; \*  $p < 0,050$  vs. ispitanici s poremećajem kognitivnih funkcija (SAT < 5).

Koncentracija BDNF-a u plazmi određena je samo unutar ispitanika s PTSP-om, podijeljenih na kognitivno urušene i s kognitivno normalnim funkcijama prema broju bodova na Testu crtanja sata (Slika 5.8.).



Slika 5.8. Koncentracija proteina BDNF u plazmi ispitanika oboljelih od PTSP-a (N = 120), podijeljenih prema broju bodova na Testu crtanja sata (SAT) na ispitanike s normalnim

kognitivnim funkcijama (SAT = 5) i ispitanike s poremećajem kognitivnih funkcija (SAT < 5).

Središnji pravokutnik predstavlja vrijednosti od donje do gornje kvartile (od 25. do 75. percentila), a središnja linija predstavlja medijan. Horizontalne linije pružaju se od minimalne do maksimalne vrijednosti.

Kako bi ispitala povezanost kognitivnih simptoma s koncentracijom BDNF-a u plazmi ispitanika s PTSP-om, ispitanici su podijeljeni prema broju bodova na Testu crtanja sata u dvije skupine (Slika 5.8.). Usporedba je napravljena pomoću Mann-Whitney U testa i rezultati su pokazali da ne postoji značajna razlika ( $U = 1178,0$ ;  $p = 0,951$ ) u koncentraciji BDNF-a u plazmi između ispitanika s PTSP-om, podijeljenih prema razini kognitivnoga oštećenja procijenjenoga pomoću Testa crtanja sata na one s kognitivnim oštećenjem i one s normalnim kognitivnim funkcioniranjem (Slika 5.8.).

#### **5.4.2.3. Koncentracija BDNF-a u plazmi i Montrealsko kognitivno ocjenjivanje**

Povezanost broja bodova na testu MoCA i koncentracije proteina BDNF u plazmi ispitanika s dijagnozom PTSP-a ( $N = 20$ ) i zdravih kontrola ( $N = 120$ ) određena je pomoću Spearmanovog koeficijenta korelacije ( $r_s$ ) jer je raspodjela podataka odstupala od normalne razdiobe. Dodatno je i analizirana korelacija broja bodova na testu MoCA s razinom BDNF-a u plazmi kod svih ispitanika zajedno ( $N = 240$ ).

Rezultati (Tablica 5.12.) pokazuju da nema značajne korelacije između broja bodova na testu MoCA i koncentracije BDNF-a u plazmi kod zdravih kontrolnih ispitanika ( $p = 0,613$ ) i ispitanika s PTSP-om ( $p = 0,849$ ). Međutim, kada su promatrani svi ispitanici zajedno (Tablica 5.12.), Spearmanova analiza korelacije pokazala je da broj bodova na testu MoCA značajno i pozitivno korelira s razinom BDNF-a na periferiji ( $p < 0,001$ ), što upućuje na to da osobe s višom koncentracijom proteina BDNF-a u plazmi imaju manje izražene kognitivne smetnje.

Tablica 5.12. Korelacija broja bodova na testu MoCA s koncentracijom proteina BDNF-a u plazmi zdravih kontrolnih ispitanika (N =120), ispitanika s dijagnozom PTSP-a (N = 120) i svih ispitanika zajedno (N = 240).

| <b>MoCA</b>                          | <b>r<sub>s</sub></b> | <b>p</b> |
|--------------------------------------|----------------------|----------|
| <b>zdrave kontrole<br/>(N = 120)</b> | - 0,048              | 0,613    |
| <b>PTSP<br/>(N = 120)</b>            | - 0,018              | 0,849    |
| <b>svi zajedno<br/>(N = 240)</b>     | 0,369                | < 0,001  |

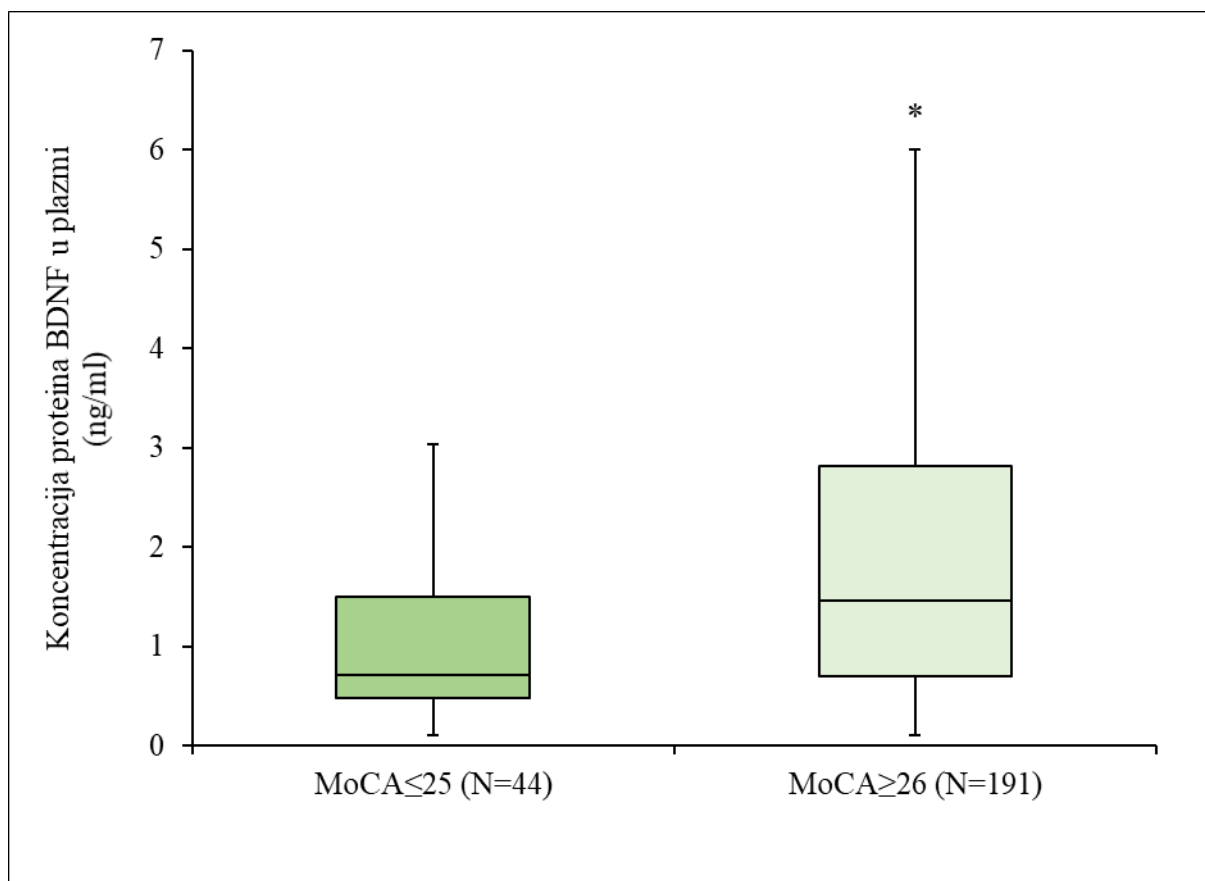
Kratice: MoCA, Montrealsko kognitivno ocjenjivanje (engl. *Montreal Cognitive Assessment*); PTSP, Posttraumatski stresni poremećaj; r<sub>s</sub>, Spearmanov koeficijent korelacije

Kako bi dodatno ispitali povezanost kognitivnih simptoma s koncentracijom BDNF-a u plazmi, svi ispitanici, ili samo ispitanici s PTSP-om, podijeljeni su prema broju bodova na testu MoCA u dvije skupine:

- osobe s normalnim kognitivnim funkcijama (broj bodova od 26 do 30)
- osobe s poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 0 do 25).

Svi su zdravi kontrolni ispitanici bili u skupini ispitanika s normalnim kognitivnim funkcijama.

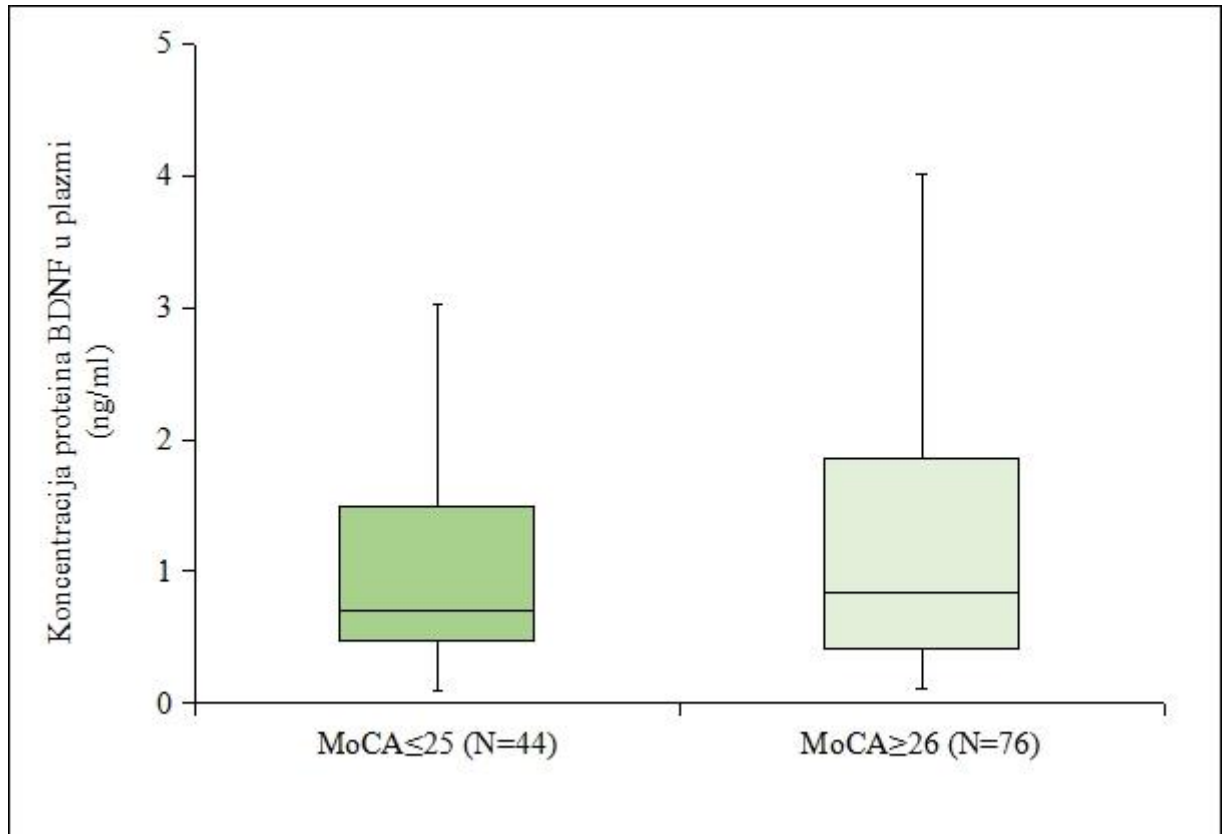
Kod svih ispitanika usporedba je napravljena pomoću Mann-Whitney U testa i rezultati su pokazali da postoji značajna razlika (U = 5564,0; p = 0,001) u koncentraciji BDNF-a u plazmi između ispitanika s normalnim kognitivnim funkcijama određenim testom MoCA i osoba s poremećajem kognitivnih funkcija (Slika 5.9.). Razlika proizlazi iz značajno niže koncentracije proteina BDNF-a kod ispitanika s poremećajem kognitivnih funkcija (p < 0,001) u odnosu na ispitanike s normalnim kognitivnim funkcijama (Slika 5.9.).



Slika 5.9. Koncentracija proteina BDNF u plazmi svih ispitanika zajedno: zdravih kontrolnih ispitanika i ispitanika oboljelih PTSP-a (N = 240), podijeljenih prema broju bodova ostvarenih na testu MoCA na ispitanike s normalnim kognitivnim funkcijama (MoCA  $\geq$  26) i ispitanike s poremećajem kognitivnih funkcija (MoCA  $\leq$  25).

Središnji pravokutnik predstavlja vrijednosti od donje do gornje kvartile (od 25. do 75. percentila), a središnja linija predstavlja medijan. Horizontalne linije pružaju se od minimalne do maksimalne vrijednosti; \*p < 0,050 vs. ispitanici s poremećajem kognitivnih funkcija (MoCA  $\leq$  25).

Koncentracija BDNF-a u plazmi istražena je i unutar ispitanika s PTSP-om koji su bili podijeljeni prema broju bodova na MoCa ljestvici u kognitivno sposobne i one s lošijim kognitivnim funkcioniranjem (Slika 5.10.).



Slika 5.10. Koncentracija proteina BDNF-a u plazmi ispitanika oboljelih od PTSP-a (N = 120) podijeljenih prema broju bodova ostvarenih na testu MoCA na ispitanike s normalnim kognitivnim funkcijama ( $\text{MoCA} \geq 26$ ) i ispitanike s poremećajem kognitivnih funkcija ( $\text{MoCA} \leq 25$ ).

Središnji pravokutnik predstavlja vrijednosti od donje do gornje kvartile (od 25. do 75. percentila), a središnja linija predstavlja medijan. Horizontalne linije pružaju se od minimalne do maksimalne vrijednosti.

Kako bi se ispitala povezanost kognitivnih simptoma s koncentracijom BDNF-a u plazmi ispitanika s PTSP-om, ispitanici su podijeljeni prema broju bodova na testu MoCA u dvije skupine (Slika 5.10.). Usporedba je napravljena pomoću Mann-Whitney U testa i rezultati su pokazali da ne postoji značajna razlika ( $U = 1752,5$ ;  $p = 0,661$ ) u koncentraciji BDNF-a u plazmi između ispitanika s PTSP-om, podijeljenih prema razini kognitivnoga oštećenja

procijenjenoga pomoću testa MoCA na kognitivno sposobne veterane i veterane s lošijim kognitivnim funkcioniranjem (Slika 5.10).

#### 5.4.2.4. Koncentracija BDNF-a u plazmi i kognitivna domena Kliničke ljestvice pozitivnih i negativnih simptoma

Povezanost broja bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS i koncentracije proteina BDNF-a u plazmi ispitanika s dijagnozom PTSP-a (N = 120) i zdravih kontrola (N = 120) određena je pomoću Spearmanovoga koeficijenta korelacije ( $r_s$ ) jer je raspodjela podataka odstupala od normalne razdiobe. Dodatno je i analizirana korelacija broja bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS s razinom BDNF-a u plazmi kod svih ispitanika zajedno (N = 240).

Rezultati (Tablica 5.13.) pokazuju da nema značajne korelacije između broja bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS i koncentracije BDNF-a u plazmi kod zdravih kontrolnih ispitanika ( $p = 0,690$ ) i ispitanika s PTSP-om ( $p = 0,363$ ). Međutim, kada su promatrani svi ispitanici zajedno (Tablica 5.13.), Spearmanova analiza korelacije pokazala je da broj bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS značajno i negativno korelira s razinom BDNF-a na periferiji ( $p < 0,001$ ) što upućuje na to da osobe s višom koncentracijom proteina BDNF-a u plazmi imaju manje izražene kognitivne smetnje, određene brojem bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS.

Tablica 5.13. Korelacija broja bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS s koncentracijom proteina BDNF u plazmi zdravih kontrolnih ispitanika (N = 120), ispitanika s dijagnozom PTSP-a (N = 120) i svih ispitanika zajedno (N = 240).

| <b>PANSS – Kognitivna domena</b> | <b><math>r_s</math></b> | <b>p</b> |
|----------------------------------|-------------------------|----------|
| <b>zdrave kontrole (N=120)</b>   | – 0,014                 | 0,690    |
| <b>PTSP (N=120)</b>              | – 0,084                 | 0,363    |
| <b>svi zajedno (N=240)</b>       | – 0,037                 | < 0,001  |



PANSS, Klinička ljestvica pozitivnih i negativnih simptoma (engl. *Positive and Negative Syndrome Scale*); PTSP, Posttraumatski stresni poremećaj;  $r_s$ , Spearmanov koeficijent korelacije.

#### **5.4.3. Polimorfizmi gena za *BDNF* i kognitivni simptomi u PTSP-u**

Normalna razdioba podataka vezanih za broj bodova na pojedinim psihometrijskim testovima kojima su procjenjivani kognitivni simptomi kod obje skupine ispitanika testirana je Kolmogorov-Smirnovim testom. S obzirom na odstupanja od normalne razdiobe podataka, u svim analizama korišteni su neparametrijski testovi za statističku obradu podataka.

Povezanost broja bodova na pojedinim kognitivnim testovima i polimorfizama gena *BDNF*, Val66Met i C270T, određena je kod svih ispitanika zajedno ( $N = 240$ ). S obzirom na mali broj ispitanika u pojedinim grupama (zdrave kontrole vs. PTSP), i zbog činjenice da unutar zdrave kontrole ne postoji značajna varijacija u broju bodova na kognitivnim testovima, nisu napravljene dodatne i zasebne analize za skupinu zdravih ispitanika i skupinu ispitanika s dijagnozom PTSP-a, već samo za sve ispitanike zajedno. Sve usporedbe napravljene su pomoću Mann-Whitney U testa, odnosno  $\chi^2$ -testa.

##### **5.4.3.1. Polimorfizmi gena za *BDNF* i kratki test za ocjenu kognitivnoga stanja**

Utjecaj genotipova s obzirom na polimorfizme gena *BDNF* na broj bodova na testu MMSE kod svih ispitanika zajedno ( $N = 240$ ) istražen je uspoređujući broj bodova na testu MMSE između nosioca različitih genotipova s obzirom na polimorfizam Val66Met (homozigoti Val/Val vs. nosioci alela Met) i s obzirom na polimorfizam C270T (homozigoti CC vs. nosioci alela T) gena *BDNF* (Tablica 5.14.). Rezultati pokazuju da nema značajnoga utjecaja pojedinih genotipova (Tablica 5.14.) na ukupan broj bodova na testu MMSE gledajući sve ispitanike zajedno, u slučaju polimorfizma Val66Met ( $p = 0,131$ ) i polimorfizma C270T ( $p = 0,931$ ).

Tablica 5.14. Utjecaj genotipova s obzirom na polimorfizme gena *BDNF* na broj bodova na testu MMSE kod svih ispitanika zajedno ( $N = 240$ ).

Svi su podatci prikazani kao medijan (25. – 75. percentil).

| SNP                   | Genotip           | MMSE                  | Mann-Whitney U test |       |
|-----------------------|-------------------|-----------------------|---------------------|-------|
|                       |                   |                       | U                   | p     |
| rs6265<br>(Val66Met)  | Val/Val           | 28,0<br>(25,0 – 30,0) | 5955,5              | 0,131 |
|                       | nosioci alela Met | 30,0<br>(25,0 – 30,0) |                     |       |
| rs56164415<br>(C270T) | CC                | 28,0<br>(25,0 – 30,0) | 3088,0              | 0,931 |
|                       | nosioci alela T   | 29,0<br>(25,0 – 30,0) |                     |       |

MMSE, Kratki test za ocjenu kognitivnog stanja (engl. *Mini-Mental State Examination*); SNP, polimorfizam jedne baze.

Kako bi se dodatno analizirao potencijalni utjecaj polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF* na ozbiljnost kognitivnih simptoma kod svih ispitanika uključenih u istraživanje (N = 240), ili samo kod ispitanika s PTSP-om, ispitanici su dodatno podijeljeni prema broju bodova na testu MMSE u tri skupine:

- osobe s normalnim kognitivnim funkcijama (broj bodova od 26 do 30)
- osobe s blagim poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 21 do 25)
- osobe s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 10 do 20)-

Među ispitanicima nije bilo osoba s teškim poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova  $\leq$  9), a svi su zdravi kontrolni ispitanici bili u skupini ispitanika s normalnim kognitivnim funkcijama.

Rezultati (Tablica 5.15.) potvrdili su da razina kognitivnoga oštećenja u istraživanoj skupini ispitanika nije povezana s polimorfizmima Val66Met (p = 0,575) i C270T (p = 0,185) gena *BDNF*.

Tablica 5.15. Povezanost polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF* kod zdravih kontrolnih ispitanika i ispitanika oboljelih od PTSP-a (N = 240) s brojem bodova na testu MMSE, nakon podjele ispitanika na one s normalnim kognitivnim funkcijama (MMSE  $\geq$  26), ispitanike s blagim poremećajem kognitivnih funkcija ( $21 \leq$  MMSE  $\leq$  25) i ispitanike s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija ( $10 \leq$  MMSE  $\leq$  20).

| SNP                   | Genotip           | MMSE $\geq$ 26                      | 21 $\leq$ MMSE $\leq$ 25 | 10 $\leq$ MMSE $\leq$ 20 |
|-----------------------|-------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                       |                   | N(%)                                | N(%)                     | N(%)                     |
| rs6265<br>(Val66Met)  | Val/Val           | 88<br>(60,7)                        | 52<br>(67,5)             | 12<br>(66,7)             |
|                       | nosioci alela Met | 57<br>(39,3)                        | 25<br>(32,5)             | 6<br>(33,3)              |
|                       | $\chi^2$ -test    | $\chi^2 = 1,11$ ; df = 2; P = 0,575 |                          |                          |
| rs56164415<br>(C270T) | CC                | 128<br>(88,3)                       | 65<br>(84,4)             | 18<br>(100,0)            |
|                       | nosioci alela T   | 17<br>(11,7)                        | 12<br>(15,6)             | 0<br>(0,0)               |
|                       | $\chi^2$ -test    | $\chi^2 = 3,38$ ; df = 2; p = 0,185 |                          |                          |

MMSE, kratki test za ocjenu kognitivnoga stanja (engl. *Mini-Mental State Examination*); SNP, polimorfizam jedne baze.

Kako bi se dodatno provjerilo postoji li povezanost pojedinih polimorfizama gena *BDNF* s razinom kognitivnoga oštećenja procijenjenoga pomoću testa MMSE, uzimajući u obzir i dijagnozu (zdrave kontrole vs. PTSP), korištena je logistička regresija. U slučaju polimorfizma Val66Met, rezultat logističke regresije ( $\chi^2 = 2,73$ ; df = 2; p = 0,255) pokazuje da polimorfizam Val66Meta (zavisna varijabla) nije značajno povezan s brojem bodova na testu MMSE-a (koeficijent = 0,024; SE = 0,063; p = 0,707), uzimajući u obzir i dijagnozu (koeficijent = - 0,574; SE = 0,466; p = 0,217). U slučaju polimorfizma C270T-a, rezultat logističke regresije ( $\chi^2 = 0,17$ ; df = 2; p = 0,918) pokazuje da ni polimorfizam C270T (zavisna varijabla) nije značajno povezan s brojem bodova na testu MMSE (koeficijent = 0,034; SE = 0,095; p = 0,718) uzimajući u obzir i dijagnozu (koeficijent = - 0,120; SE = 0,668; p = 0,858).

Tablica 5.16. Povezanost polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF*, kod ispitanika oboljelih od PTSP-a (N = 120), s brojem bodova na testu MMSE, nakon podjele ispitanika na one s normalnim kognitivnim funkcijama (MMSE ≥ 26), na ispitanike s blagim poremećajem kognitivnih funkcija (21 ≤ MMSE ≤ 25) i ispitanike s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija (10 ≤ MMSE ≤ 20).

| SNP                   | Genotip                   | MMSE ≥ 26                | 21 ≤ MMSE ≤ 25                           | 10 ≤ MMSE ≤ 20 |
|-----------------------|---------------------------|--------------------------|--|----------------|
|                       |                           | N(%)                     | N(%)                                     | N(%)           |
| rs6265<br>(Val66Met)  | <b>Val/Val</b>            | 18<br>(72,0)             | 52<br>(67,5)                             | 12<br>(66,7)   |
|                       |                           | <b>nosioci alela Met</b> |  |                |
|                       | 7<br>(28,0)               | 25<br>(32,5)             | 6<br>(33,3)                              |                |
|                       | <b>χ<sup>2</sup>-test</b> |                          | χ <sup>2</sup> = 0,20; df = 2; p = 0,904 |                |
| rs56164415<br>(C270T) | <b>CC</b>                 | 23<br>(92,0)             | 65<br>(84,4)                             | 18<br>(100,0)  |
|                       |                           | <b>nosioci alela T</b>   |  |                |
|                       | 2<br>(8,0)                | 12<br>(15,6)             | 0<br>(0,0)                               |                |
|                       | <b>χ<sup>2</sup>-test</b> |                          | χ <sup>2</sup> = 3,85; df = 2; p = 0,146 |                |

MMSE, kratki test za ocjenu kognitivnoga stanja (engl. *Mini-Mental State Examination*); SNP, polimorfizam jedne baze.

Kako bi se dodatno potvrdio nedostatak značajne povezanosti polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF* s ozbiljnosti kognitivnih simptoma kod ispitanika s dijagnozom PTSP-a (N = 120), samo su ispitanici s PTSP-om podijeljeni prema broju bodova na testu MMSE u tri skupine (veterani s normalnim kognitivnim funkcijama, veterani s blagim poremećajem kognitivnih funkcija i veterani s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija) i analizirana je raspodjela genotipova s obzirom na istraživane polimorfizme između navedenih skupina. Rezultati (Tablica 5.16.) potvrdili su da razina kognitivnoga oštećenja u istraživanoj skupini ispitanika nije povezana s polimorfizmima Val66Met, p = 0,904) i C270T gena *BDNF* (p = 0,146).

### 5.4.3.2. Polimorfizmi gena za BDNF i Test crtanja sata

Utjecaj genotipova s obzirom na polimorfizme gena *BDNF-a* na broj bodova na Testu crtanja sata kod svih ispitanika zajedno (N = 240) istražen je uspoređujući broj bodova na Testu crtanja sata između nosioca različitih genotipova s obzirom na polimorfizam Val66Met (homozigoti Val/Val vs. nosioci alela Met) i s obzirom na polimorfizam C270T (homozigoti CC vs. nosioci alela T) gena *BDNF* (Tablica 5.17.). Rezultati pokazuju da nema značajnoga utjecaja genotipova (Tablica 5.17.) na ukupan broj bodova na Testu crtanja sata kada se zajednički promatraju svi ispitanici, u slučaju polimorfizma Val66Met (p = 0,150) i polimorfizma C270T (p = 0,881).

Tablica 5.17. Utjecaj genotipova s obzirom na polimorfizme gena *BDNF-a* na broj bodova na Testu crtanja sata kod svih ispitanika zajedno (N = 240).

Svi su podatci prikazani kao medijan (25. – 75. percentil).

| SNP                   | Genotip           | Test crtanja sata  | Mann-Whitney U test |       |
|-----------------------|-------------------|--------------------|---------------------|-------|
|                       |                   |                    | U                   | p     |
| rs6265<br>(Val66Met)  | Val/Val           | 5,0<br>(3,0 – 5,0) | 6022,0              | 0,150 |
|                       | nosioci alela Met | 5,0<br>(3,0 – 5,0) |                     |       |
| rs56164415<br>(C270T) | CC                | 5,0<br>(3,0 – 5,0) | 3012,5              | 0,881 |
|                       | nosioci alela T   | 5,0<br>(3,0 – 5,0) |                     |       |

SNP, polimorfizam jedne baze

Kako bi dodatno ispitali potencijalni utjecaj polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF* na ozbiljnost kognitivnih simptoma kod ispitanika uključenih u istraživanje (N = 240), ili samo kod ispitanika s PTSP-om, ispitanici su dodatno podijeljeni prema broju bodova na Testu crtanja sata u dvije skupine:

- osobe s normalnim kognitivnim funkcijama (broj bodova 5)
- osobe s poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 0 do 4).

Svi su zdravi kontrolni ispitanici bili u skupini ispitanika s normalnim kognitivnim funkcijama.

Rezultati (Tablica 5.18.) potvrdili su da razina kognitivnoga oštećenja kod svih ispitanika nije povezana s polimorfizmima Val66Met ( $p = 0,205$ ) i C270T ( $p = 0,973$ ) gena *BDNF*.

Tablica 5.18. Povezanost polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF* kod zdravih kontrolnih ispitanika i ispitanika oboljelih od PTSP-a ( $N = 240$ ), s brojem bodova na Testu crtanja sata, nakon podjele ispitanika na one s normalnim kognitivnim funkcijama ( $SAT = 5$ ) i ispitanike s poremećajem kognitivnih funkcija ( $SAT < 5$ ).

| SNP                   | Genotip           | SAT=5<br>N (%)                           | SAT<5<br>N (%) |
|-----------------------|-------------------|--|----------------|
| rs6265<br>(Val66Met)  | Val/Val           | 84<br>(60,0)                             | 68<br>(68,0)   |
|                       | nosioci alela Met | 56<br>(40,0)                             | 32<br>(32,0)   |
|                       | $\chi^2$ -test    | $\chi^2 = 1,61$ ; $df = 1$ ; $p = 0,205$ |                |
| rs56164415<br>(C270T) | CC                | 123<br>(87,9)                            | 88<br>(88,0)   |
|                       | nosioci alela T   | 17<br>(12,1)                             | 12<br>(12,0)   |
|                       | $\chi^2$ -test    | $\chi^2 = 0,00$ ; $df = 1$ ; $p = 0,973$ |                |

SAT, Test crtanja sata; SNP, polimorfizam jedne baze.

Kako bi se dodatno provjerilo postoji li povezanost pojedinih polimorfizama gena *BDNF-a* s razinom kognitivnoga oštećenja procijenjenog pomoću Testa crtanja sata, uzimajući u obzir i dijagnozu (zdrave kontrole vs. PTSP), korištena je logistička regresija. U slučaju polimorfizma Val66Met, rezultat logističke regresije ( $\chi^2 = 2,66$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,264$ ) pokazuje da polimorfizam Val66Met (zavisna varijabla) nije značajno povezan s brojem bodova na Testu crtanja sata (koeficijent =  $-0,036$ ;  $SE = 0,134$ ;  $p = 0,791$ ) kada se u obzir uzme i dijagnoza (koeficijent =  $-0,358$ ;  $SE = 0,388$ ;  $p = 0,356$ ). U slučaju polimorfizma C270T rezultat logističke regresije ( $\chi^2 = 0,13$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,937$ ) pokazuje da ni polimorfizam C270T

(zavisna varijabla) nije značajno povezan s brojem bodova na Testu crtanja sata (koeficijent = - 0,058; SE = 0,194; p = 0,764) uzimajući u obzir i dijagnozu ispitanika (koeficijent = 0,204; SE = 0,583; p = 0,726).

Tablica 5.19. Povezanost polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF* kod ispitanika oboljelih od PTSP-a (N = 120) s brojem bodova na Testu crtanja sata, nakon podjele ispitanika na one s normalnim kognitivnim funkcijama (SAT = 5) i ispitanike s poremećajem kognitivnih funkcija (SAT<5).

| SNP                   | Genotip                         | SAT = 5                             | SAT < 5      |
|-----------------------|---------------------------------|-------------------------------------|--------------|
|                       |                                 | N (%)                               | N (%)        |
| rs6265<br>(Val66Met)  | <b>Val/Val</b>                  | 18<br>(72,0)                        | 64<br>(67,4) |
|                       | <b>nosioci alela Met</b>        | 7<br>(28,0)                         | 31<br>(32,6) |
|                       | <b><math>\chi^2</math>-test</b> | $\chi^2=0,20$ ; df=1; P = 0,427     |              |
| rs56164415<br>(C270T) | <b>CC</b>                       | 23<br>(92,0)                        | 83<br>(87,4) |
|                       | <b>nosioci alela T</b>          | 2<br>(8,0)                          | 12<br>(12,6) |
|                       | <b><math>\chi^2</math>-test</b> | $\chi^2 = 0,41$ ; df = 1; p = 0,732 |              |

SAT, Test crtanja sata; SNP, polimorfizam jedne baze.

Kako bi se dodatno istražila potencijalna povezanost polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF* s ozbiljnosti kognitivnih simptoma samo kod ispitanika s dijagnozom PTSP-a (N = 120), ispitanici s PTSP-om podijeljeni su prema broju bodova na Testu crtanja sata u dvije skupine (veterani s normalnim kognitivnim funkcijama i veterani s poremećajem kognitivnih funkcija) i analizirana je raspodjela genotipova s obzirom na istraživane polimorfizme između navedenih skupina. Rezultati su potvrdili (Tablica 5.19.) da razina kognitivnoga oštećenja u istraživanoj skupini ispitanika nije povezana s polimorfizmima Val66Met (p = 0,427) i C270T (P = 0,732) gena *BDNF*.

### 5.4.3.3. Polimorfizmi gena za moždani neurotrofni čimbenik i Montrealsko kognitivno ocjenjivanje

Utjecaj genotipova s obzirom na polimorfizme gena *BDNF* na broj bodova na testu MoCA kod svih ispitanika zajedno (N = 240) istražen je uspoređujući broj bodova na testu MoCA između nosioca različitih genotipova s obzirom na polimorfizam Val66Met (homozigoti Val/Val vs. nosioci alela Met) i s obzirom na polimorfizam C270T (homozigoti CC vs. nosioci alela T) gena *BDNF* (Tablica 5.20.). Rezultati pokazuju da nema značajnoga utjecaja genotipova (Tablica 5.18.) na ukupan broj bodova na testu MoCA gledajući sve ispitanike zajedno, u slučaju polimorfizma Val66Met ( $p = 0,073$ ) i polimorfizma C270T ( $p = 0,480$ ).

Tablica 5.20. Utjecaj genotipova s obzirom na polimorfizme gena *BDNF* na broj bodova na testu MoCA kod svih ispitanika zajedno (N = 240).

Svi su podatci prikazani kao medijani (25. – 75. percentili).

| SNP                   | Genotip           | MoCA                  | Mann-Whitney U test |       |
|-----------------------|-------------------|-----------------------|---------------------|-------|
|                       |                   |                       | U                   | p     |
| rs6265<br>(Val66Met)  | Val/Val           | 29,0<br>(26,5 – 30,0) | 5591,0              | 0,073 |
|                       | nosioci alela Met | 30,0<br>(27,0 – 30,0) |                     |       |
| rs56164415<br>(C270T) | CC                | 29,0<br>(27,0 – 30,0) | 3214,0              | 0,480 |
|                       | nosioci alela T   | 29,0<br>(28,0 – 30,0) |                     |       |

MoCA, Montrealsko kognitivno ocjenjivanje (engl. *Montreal Cognitive Assessment*); SNP, polimorfizam jedne baze.

Kako bi se dodatno ispitaio potencijalni utjecaj polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF* na ozbiljnost kognitivnih simptoma kod ispitanika uključenih u istraživanje (N = 240), ili samo kod ispitanika s PTSP-om, svi su ispitanici dodatno podijeljeni prema broju bodova na testu MoCA u dvije skupine:



- osobe s normalnim kognitivnim funkcijama (broj bodova od 26 do 30)
- osobe s poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 0 do 25).

Svi su zdravi kontrolni ispitanici bili u skupini ispitanika s normalnim kognitivnim funkcijama.

Rezultati su potvrdili (Tablica 5.21.) da razina kognitivnoga oštećenja u istraživanoj skupini ispitanika nije povezana s polimorfizmima Val66Met ( $p = 0,067$ ) i C270T gena *BDNF* ( $p = 0,467$ ).

Tablica 5.21. Povezanost polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF* kod zdravih kontrolnih ispitanika i ispitanika oboljelih od PTSP-a ( $N = 240$ ) s brojem bodova na testu MoCA, nakon podjele na ispitanike s normalnim kognitivnim funkcijama ( $MoCA \geq 26$ ) i ispitanike s poremećajem kognitivnih funkcija ( $MoCA \leq 25$ ).

| SNP                   | Genotip                  | MoCA $\geq 26$                           | MoCA $\leq 25$ |
|-----------------------|--------------------------|--|----------------|
|                       |                          | N (%)                                    | N (%)          |
| rs6265<br>(Val66Met)  | Val/Val                  | 115<br>(60,2)                            | 33<br>(75,0)   |
|                       | <b>nosioci alela Met</b> | 76<br>(39,8)                             | 11<br>(25,0)   |
|                       | $\chi^2$ -test           | $\chi^2 = 3,36$ ; $df = 1$ ; $p = 0,067$ |                |
| rs56164415<br>(C270T) | CC                       | 166<br>(86,9)                            | 40<br>(90,9)   |
|                       | <b>nosioci alela T</b>   | 25<br>(13,1)                             | 4<br>(9,1)     |
|                       | $\chi^2$ -test           | $\chi^2 = 0,53$ ; $df = 1$ ; $p = 0,467$ |                |

MoCA, Montrealsko kognitivno ocjenjivanje (engl. *Montreal Cognitive Assessment*); SNP, polimorfizam jedne baze.

Kako bi dodatno provjerili postoji li povezanost pojedinih polimorfizama gena *BDNF* s razinom kognitivnoga oštećenja procijenjenoga pomoću testa MoCA, uzimajući u obzir dijagnozu (zdrave kontrole vs. PTSP), korištena je logistička regresija. U slučaju polimorfizma Val66Met rezultat logističke regresije ( $\chi^2 = 3,36$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,187$ ) pokazuje da

polimorfizam Val66Met (zavisna varijabla) nije značajno povezan s brojem bodova na testu MoCA (koeficijent = - 0,060; SE = 0,104; p = 0,563) uzimajući u obzir dijagnozu (koeficijent = - 0,255; SE = 0,460; p = 0,579). U slučaju polimorfizma C270T rezultat logističke regresije ( $\chi^2 = 1,48$ ; df = 2; p = 0,477) pokazuje da ni polimorfizam C270T (zavisna varijabla) nije značajno povezan s brojem bodova na testu MoCA (koeficijent = 0,182; SE = 0,160; p = 0,254) uzimajući u obzir i dijagnozu (koeficijent = - 0,492; SE = 0,643; p = 0,444).

Tablica 5.22. Povezanost polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF* kod ispitanika oboljelih od PTSP-a (N = 120), s brojem bodova na testu MoCA, nakon podjele na ispitanike s normalnim kognitivnim funkcijama (MoCA  $\geq$  26) i ispitanike s poremećajem kognitivnih funkcija (MoCA  $\leq$  25).

| SNP                   | Genotip                         | MoCA $\geq$ 26                      | MoCA $\leq$ 25 |
|-----------------------|---------------------------------|-------------------------------------|----------------|
|                       |                                 | N (%)                               | N (%)          |
| rs6265<br>(Val66Met)  | <b>Val/Val</b>                  | 49<br>(64,5)                        | 33<br>(75,0)   |
|                       |                                 | <b>nosioci alela Met</b>            |                |
|                       | 27<br>(35,5)                    | 11<br>(25,0)                        |                |
|                       | <b><math>\chi^2</math>-test</b> | $\chi^2 = 1,43$ ; df = 1; P = 0,309 |                |
| rs56164415<br>(C270T) | <b>CC</b>                       | 66<br>(86,8)                        | 40<br>(90,9)   |
|                       |                                 | <b>nosioci alela T</b>              |                |
|                       | 10<br>(13,2)                    | 4<br>(9,1)                          |                |
|                       | <b><math>\chi^2</math>-test</b> | $\chi^2 = 0,45$ ; df = 1; P = 0,570 |                |

MoCA, Montrealsko kognitivno ocjenjivanje (engl. *Montreal Cognitive Assessment*); SNP, polimorfizam jedne baze

Kako bi se analizirala potencijalna povezanost polimorfizama Val66Meta i C270T gena *BDNF* s ozbiljnosti kognitivnih simptoma samo kod ispitanika s dijagnozom PTSP-a (N = 120), ispitanici su podijeljeni prema broju bodova na testu MoCA u dvije skupine (veterani s normalnim kognitivnim funkcijama i veterani s poremećajem kognitivnih funkcija) i

analizirana je raspodjela genotipova s obzirom na istraživane polimorfizme između navedenih skupina. Rezultati (Tablica 5.22.) potvrdili su da razina kognitivnoga oštećenja u istraživanoj skupini ispitanika s PTSP-om nije povezana s polimorfizmima Val66Met ( $p = 0,309$ ) i C270T ( $p = 0,570$ ) gena *BDNF*.

#### 5.4.3.4. Polimorfizmi gena za *BDNF* i kognitivna domena Kliničke ljestvice pozitivnih i negativnih simptoma

Utjecaj genotipova s obzirom na polimorfizme gena *BDNF* na broj bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS kod svih ispitanika zajedno ( $N = 240$ ) istražen je uspoređujući broj bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS između nosioca različitih genotipova s obzirom na polimorfizam Val66Met (homozigoti Val/Val vs. nosioci alela Met) i s obzirom na polimorfizam C270T (homozigoti CC vs. nosioci alela T) gena *BDNF* (Tablica 5.23.). Rezultati pokazuju da nema značajnoga utjecaja genotipova (Tablica 5.23.) na ukupan broj bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS gledajući sve ispitanike zajedno, u slučaju polimorfizma Val66Met ( $p = 0,073$ ) i polimorfizma C270T ( $p = 0,480$ ).

Tablica 5.23. Utjecaj genotipova s obzirom na polimorfizme gena *BDNF* na broj bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS kod svih ispitanika zajedno ( $N = 240$ ).

Svi su podatci prikazani kao medijan (25. – 75. percentil).

| SNP                   | Genotip           | PANSS<br>Kognitivna<br>domena | Mann-Whitney U test |       |
|-----------------------|-------------------|-------------------------------|---------------------|-------|
|                       |                   |                               | U                   | P     |
| rs6265<br>(Val66Met)  | Val/Val           | 7,0<br>(5,0 – 9,0)            | 7561,0              | 0,073 |
|                       | nosioci alela Met | 5,0<br>(5,0 – 9,0)            |                     |       |
| rs56164415<br>(C270T) | CC                | 7,0<br>(5,0 – 9,0)            | 3099,0              | 0,878 |
|                       | nosioci alela T   | 7,0<br>(5,0 – 8,0)            |                     |       |

PANSS, Klinička ljestvica pozitivnih i negativnih simptoma (engl. *Positive and Negative Syndrome Scale*); SNP, polimorfizam jedne baze.

Kako bi se dodatno provjerilo postoji li povezanost pojedinih polimorfizama gena *BDNF* s razinom kognitivnoga oštećenja procijenjenoag pomoću kognitivne domene ljestvice PANSS, uzimajući u obzir i dijagnozu (zdrave kontrole vs. PTSP), korištena je logistička regresija. U slučaju polimorfizma Val66Met rezultat logističke regresije ( $\chi^2 = 3,25$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,197$ ) pokazuje da polimorfizam Val66Met (zavisna varijabla) nije značajno povezan s brojem bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS (koeficijent = 0,128; SE = 0,158;  $p = 0,418$ ) uzimajući u obzir i dijagnozu (koeficijent = - 0,003; SE = 0,594;  $p = 0,996$ ). U slučaju polimorfizma C270T rezultat logističke regresije ( $\chi^2 = 0,08$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,962$ ) pokazuje da ni polimorfizam C270T (zavisna varijabla) nije značajno povezan s brojem bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS (koeficijent = 0,044; SE = 0,226;  $p = 0,844$ ) uzimajući u obzir i dijagnozu ispitanika (koeficijent = 0,228; SE = 0,860;  $p = 0,791$ ).

## 6. RASPRAVA

Glavni rezultati ove studije potvrdili su važnu uloga BDNF-a u razvoju PTSP-a i u razvoju kognitivnih poremećaja koji se javljaju kod PTSP-a. Istražena je povezanost koncentracije proteina BDNF-a u plazmi i dva polimorfizma gena *BDNF* (Val66Met, C270T) s razvojem PTSP-a te s kognitivnim oštećenjima koja se javljaju u PTSP-u.

Pronađeno je da 120 ispitanika s PTSP-om muškoga spola ima značajno sniženu koncentraciju BDNF proteina u plazmi prema vrijednostima utvrđenim u 120 zdravih kontrolnih muških ispitanika. Nadalje, utvrđeno je na uzorku od 700 ispitanika (350 ispitanika s PTSP-om i 350 kontrolnih zdravih ispitanika) kako BDNF Val66Met polimorfizam nije povezan s dijagnozom PTSP-a jer nije bilo značajne razlike u raspodjeli Val/Val, Val/Met i Met/Met genotipova, Val i Met alela te Met nosioca prema Val/Val homozigotima između ispitanika s PTSP-om i kontrolnih ispitanika. S druge strane, potvrđena je značajna povezanost između dijagnoze PTSP-a i BDNF C270T polimorfizma. Naime, u ovoj je studiji pronađena značajna razlika u raspodjeli CC, CT i TT genotipova, C i T alela, odnosno T nosioca prema CC homozigotima s obzirom na BDNF C270T polimorfizam između ispitanika s PTSP-om i kontrolnih ispitanika. Razlike su bile izazvane češćim prisustvom jednoga ili dvaju T-alela s obzirom na C270T u ispitanika s PTSP-om prema zdravim kontrolnim ispitanicima.

Rezultati kognitivnoga funkcioniranja pokazali su da su ispitanici s PTSP-om imali značajna kognitivna oštećenja na skalama MMSE, na Testu crtanja sata, ljestvici MoCA i na kognitivnoj podljestvici PANSS prema zdravim kontrolnim ispitanicima. Koncentracija BDNF-a u plazmi bila je značajno povezana (u značajnoj korelaciji) s težinom kognitivnoga oštećenja u svih ispitanika i bila je značajno snižena u svih ispitanika s težim kognitivnim deficitima, određenim skalama MMSE, Testom crtanja sata, MoCA-om i kognitivnom podljestvicom PANSS skale prema ispitanicima bez ili s blagim kognitivnim urušavanjem. S druge strane, koncentracija BDNF-a u plazmi nije bila značajno povezana s kognitivnim oštećenjem kod ispitanika s PTSP-om prema kognitivno neoštećenim ispitanicima s PTSP-om. Nadalje, polimorfizmi gena *BDNF* (Val66Met, C270T) nisu bili povezani s razinom kognitivnoga oštećenja kod ispitanika s PTSP-om ili kod svih ispitanika.

Iz tih rezultata proizilazi da se koncentracija zreloga proteina BDNF u plazmi i polimorfizam C270T gena *BDNF* mogu koristiti kao pokazatelji ili biomarkeri PTSP-a, dok je pad kognitivnih sposobnosti bio povezan sa sniženom koncentracijom BDNF-a kod svih ispitanika, ali ne i s polimorfizmima gena *BDNF* (Val66Met, C270T). Također, koncentracija BDNF-a u plazmi nije mogla razlikovati kognitivno oštećenje unutar ispitanika s PTSP-om.

### **6.1. Demografski podatci**

U istraživanje je uključeno ukupno 700 ispitanika muškoga spola koji su podijeljeni na zdrave kontrolne ispitanike (N = 350) i ispitanike s dijagnozom PTSP-a (N = 350). Sukladno ranijim spoznajama i u provedenom istraživanju kontrolirana je dob koja, prema kognitivnim teorijama pamćenja i izvršnoga funkcioniranja, ima značajno djelovanje na kognitivne i intelektualne sposobnosti (297). Pri uključivanju u studiju ispitanici su bili spareni po dobi kako bi se izbjegao potencijalni učinak dobi na dobivene rezultate. Prosječna dob ispitanika bila je 55 godina te nije bilo značajne razlike u dobi ispitanika. Također, kontrolirani su mogući utjecaji razine LDL-kolesterola i triglicerida, te koncentracije enzima AST, ALT i GGT na rezultate. Pronađena je značajna razlika između istraživanih skupina s obzirom na koncentraciju glukoze natašte, s obzirom na razinu ukupnoga kolesterola i s obzirom na razinu HDL-kolesterola jer su navedeni biokemijski parametri bili povišeni kod ispitanika s dijagnozom PTSP-a prema kontrolnim ispitanicima, dok je ITM značajno niži kod ispitanika s PTSP-om u odnosu na zdravu kontrolu. Povišena koncentracija glukoze u krvi u skladu je s podacima da čak i kod civilnih osoba za vrijeme vojnih akcija dolazi do porasta glukoze u krvi (298). Poznato je da ispitanici s PTSP-om imaju značajno povišenu koncentraciju kolesterola prema zdravim ispitanicima, i to je pokazano u metaanalizi koja je uključila 8657 ispitanika (299). Međutim, nalaz da ispitanici s PTSP-om imaju i povišenu koncentraciju HDL kolesterola ne slaže se s literaturnim podacima koji pokazuju suprotne rezultate (299). Razlog tom povišenom HDL kolesterolu u ovih ispitanika s PTSP-om nije jasan. Podatak ovoga istraživanja, vezan za niži ITM kod veterana s PTSP-om, ne slaže se s prijašnjim rezultatima na drugim skupinama hrvatskih ratnih veterana s PTSP-om (300) gdje je pokazano da ITM nije bio različit između veterana s i bez PTSP-a i populacije zdravih kontrolnih ispitanika sparenih po dobi. ITM se nije razlikovao među tim skupinama niti kada su skupine bile podijeljene prema dobnim kategorijama, kategorijama s normalnom, pretjeranom tjelesnom masom ili debljinom, ili prema prisutnosti psihijatrijskih bolesti (300).

Međutim u tom je radu pokazano da su i zdravi ispitanici i veterani s ili bez PTSP-a ulazili u kategoriju osoba s povišenom tjelesnom masom, što upućuje na trend debljanja u hrvatskom društvu. U skladu s time i rezultati ovoga istraživanja pokazali su da su vrijednosti ITM-a kod ispitanika s PTSP-om unutar kategorija osoba s povećanom tjelesnom masom.

Također, rezultati upućuju na to da je udio pušača značajno veći u skupini ispitanika s PTSP-om (69,4 %) u odnosu na kontrolne ispitanike (37,2 %). Taj se nalaz slaže s podacima iz literature, prikazanim u revijalnom radu koji pokazuje dva puta više pušača nego nepušača kod ispitanika s PTSP-om. Pretpostavlja se da ispitanici s PTSP-om puše više od opće populacije jer očekuju smanjenje negativnih učinaka PTSP-a (301).

No, radi nedostataka značajne razlike u koncentraciji BDNF-a u plazmi te u sličnoj raspodjeli pojedinih genotipova vezanih za polimorfizme BDNF Val66Met i C270T između pušača i nepušača, u daljnjim analizama u ovom radu nije uzet u obzir pušački status.

Postoje podatci koje opisuju povezanost PTSP-a i rizika za razvoj metaboličkoga sindroma koji se očituje pretilošću, hipertenzijom, abnormalnim nalazima lipida i glukoze u krvi (302). Prevalencija metaboličkoga sindroma među oboljelima od PTSP-a iznosi 40 %, što je duplo više od prevalencije u općoj populaciji (303). Smatra se da je kolesterol, te kolesterol vezan uz lipoproteine male gustoće (LDL kolesterol), povišen kod osoba s PTSP-om, u odnosu na osobe bez PTSP-a, traumatizirane i netraumatizirane, a utvrđeno je (304) da je to posebno povezano sa simptomima pojačane pobuđenosti (304, 305, 306). Kako u ovoj studiji nisu korelirani traumatski simptomi s komponentama metaboličkoga sindroma, ne mogu se potvrditi ti podatci.

Međutim, studija na hrvatskim ispitanicima s PTSP-om (170), koja je proučavala povezanost polimorfizama BDNF Val66Met i C270T i komponenti metaboličkoga sindroma, pokazala je kako ti polimorfizmi nisu bili povezani s komponentama metaboličkoga sindroma kao što su ITM, totalni kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol ili trigliceridi. Ti su rezultati utvrdili da polimorfizmi BDNF Val66Met i C270T nisu značajno povezani s komponentama metaboličkoga sindroma kod veterana s PTSP-om te da genetičke varijante ne doprinose osjetljivosti veterana na razvoj metaboličkoga sindroma (170).

## **6.2. Biomarkeri PTSP-a**

PTSP je psihijatrijski poremećaj čiji je razvoj usko povezan s iskustvom razornoga traumatskog događaja, a među različitim biološkim sustavima koji su poremećeni kod PTSP-a najviše su promijenjeni neuroendokrini, neurotransitorski, neurotropni i imunološki sustav (307, 308). Za razliku od simptoma koji predstavljaju subjektivni doživljaj bolesti, biomarkeri predstavljaju skupinu objektivnih pokazatelja koji se mogu točno mjeriti i mogu se koristiti kao zdravstveni pokazatelji koji se promatraju izvana. Dakle, biomarkeri su mjere koje pokazuju interakcije između pojedinih bioloških sustava (npr. neurotransitorskih, neurotrofnih, ili imunološkog i neuroendokrinog sustava) i potencijalnih kemijskih, bioloških ili fizikalnih štetnih čimbenika. Teranostički biomarkeri oni su pokazatelji koji se mogu koristiti za dijagnostiku, predviđanje razvoja bolesti, njezinih podtipova, različitih simptoma i poremećaja ponašanja, kao i u odgovoru na liječenje (12). Dakle, biomarker pokazuje interakciju između biološkoga sustava i potencijalnih štetnih čimbenika, uzimajući u obzir učinke intervencija i liječenja (309). Karakterizira ih specifičnost, osjetljivost i mogućnost objektivne evaluacije. Oni su zapravo indikatori normalnih, odnosno patoloških procesa, a koriste se kao lako dostupni pokazatelji bolesti ili simptoma. Biomarkeri su objektivni pokazatelji zdravstvenoga stanja koji se mogu odrediti u lako dostupnim tjelesnim tekućinama i izmjeriti točno i reproducibilno (307). Osim pojedinih biomarkera u današnje se vrijeme traga za panelom biomarkera ili skupnim („omics“) biomarkerima koji su vezani za metode s visokom protočnošću (12, 307, 310, 311).

Budući da je neurotrofin BDNF uključen u sinaptičke procese koji su povezani s odgovorom na strah i traumu, ali i učenje, emocije i pamćenje, ekstinkciju straha putem BDNF/TrkB procesa, a svi su ti procesi poremećeni u PTSP-u, smatra se da je jedan od biomarkera za PTSP i BDNF (312, 313).

## **4.3. Koncentracija BDNF-a u plazmi i PTSP**

U ovom radu utvrđeno je da je koncentracija proteina BDNF u plazmi, koja je bila određena u 120 muških zdravih kontrolnih ispitanika i 120 muških ispitanika s dijagnozom PTSP-a, značajno snižena kod ispitanika s PTSP-om prema vrijednostima BDNF-a u plazmi kod zdravih kontrolnih ispitanika, i to je nedavno i objavljeno (314). Isključen je moguć utjecaj spola na koncentraciju BDNF-a (315) jer su uključeni samo muški ispitanici. Moguć utjecaj



rase (316) također je zanemaren jer su svi sudionici ovoga istraživanja bili bijelci hrvatskoga porijekla.

Ovi rezultati upućuju na nedostatak povezanosti koncentracije proteina BDNF-a u plazmi s dobi, ITM-om, koncentracijom glukoze natašte, razinom ukupnoga kolesterola, LDL- i HDL-kolesterola, razinom triglicerida i koncentracijom enzima AST, ALT i GGT kod obje skupine ispitanika.

Sukladno ovim rezultatima, nedostatak utjecaja dobi kod ispitanika s PTSP-om na koncentraciju BDNF-a utvrdili su i ostali autori (317, 318). S druge strane, prema nekim istraživanjima koncentracija BDNF-a u plazmi značajno se smanjuje povećanjem dobi kod zdravih muškaraca i žena ili kod žena oboljelih od depresije (319, 320), dok druga studija nije pronašla povezanost dobi s BDNF-om (192). Usprkos tim rezultatima, smatra se da je oštećenje kognitivnih funkcija u starosti vjerojatno povezano sa smanjenjem ekspresije BDNF-a u primarnim regijama mozga zahvaćenim starenjem, što dovodi do smanjenja cirkulirajuće koncentracije BDNF-a, što je pak popraćeno smanjenjem ekspresije i/ili aktivacije TrkB receptora i istodobnim povećanjem razina proBDNF i p75NTR i zapravo nedostatka u obradi proBDNF u zreli BDNF (321).

Utjecaj BDNF-a u plazmi na ITM kod ratnih veterana oboljelih od PTSP-a isključen je i u nedavnoj objavljenoj studiji, što je u skladu s ovim rezultatima (322). Iako nedostaju drugi podatci o utjecaju BDNF-a u plazmi na ITM kod ispitanika s PTSP-om, opisan je nedostak utjecaja BDNF Val66Met polimorfizma na ITM kod ratnih veterana oboljelih od PTSP-a (170). Naime, većina studija istražila je povezanost koncentracije proteina BDNF-a u serumu s ITM-om, no povezanost nije utvrđena kod ispitanika s PTSP-om (323) ili kod zdravih kontrola (324).

Kako je poznato je da na razinu proteina BDNF u serumu utječe količina BDNF-a, pohranjena u trombocitima, dok razina BDNF-a u plazmi predstavlja trenutačno stanje organizma i količinu dostupnoga bioaktivnog proteina (325), smatra se da je zbog toga koncentracija proteina BDNF u plazmi objektivniji pokazatelj stanja u organizmu u odnosu na koncentraciju u serumu (325). Zbog toga je u ovoj studiji određena koncentracija BDNF-a u plazmi.

Pronađena je pozitivna korelacija između koncentracije BDNF-a u plazmi i ITM-a kod zdravih žena i žena oboljelih od depresije, no ona nije utvrđena kod zdravih muškaraca (326, 320) što je također u skladu s ovim rezultatima u kojima nije utvrđena povezanost ITM-a i koncentracije BDNF-a u plazmi isključivo muških ispitanika. S time su u skladu i rezultati na hrvatskim ispitanicima oba spola s koronarnom bolesti srca i zdravim kontrolnim ispitanicima gdje nije utvrđena povezanost ITM-a i koncentracije BDNF-a u plazmi (327).

U literaturi nema podataka o odnosu koncentracije BDNF-a u plazmi i o vrijednostima glukoze natašte kod oboljelih od PTSP-a. Zamršen je odnos između BDNF-a i regulacije glukoze. Koncentracija BDNF-a u plazmi snižena je kod bolesnika s dijabetesom tipa 2 (neovisno o pretilosti) i obrnuto je povezana s glukozom u plazmi natašte kod starijih muškaraca (326). U ovoj studiji glukoza u krvi nije utjecala na koncentraciju BDNF-a u plazmi kod svih ispitanika. Pronađena je međusobna povezanost između koncentracije BDNF-a i glukoze u plazmi natašte kod novorođenčadi te negativna korelacija koncentracije BDNF-a i glukoze koja je bila ovisna o koncentraciji glukoze kod majke pri porodu (328), kod zdravih, pretilih i ispitanika oboljelih od dijabetesa, no pronađena je inverzna povezanost BDNF-a u plazmi s glukozom u plazmi mjerenom natašte (329). Budući da su u ovu studiju bili uključeni samo odrasli muški ispitanici, isključen je značajan utjecaj rane dobi ili utjecaj koncentracije glukoze kod majke, a nisu uključeni ni bolesnici s dijabetesom, i ovi se ispitanici s PTSP-om nisu značajno razlikovali u ITM-u zdravih, iako su obje skupine bile osobe s povećanom tjelesnom masom.

Iako nema podataka o povezanosti koncentracije BDNF-a u plazmi i ukupnoga kolesterola, HDL i LDL-kolesterola i triglicerida u PTSP-u, postoje podatci o toj povezanosti za zdravu populaciju. Utvrđena je pozitivna korelacija između ukupnoga kolesterola s koncentracijom BDNF-a u plazmi kod zdrave populacije, kao i kod starijih dobnih skupina, ali taj odnos nije utvrđen kod mlađih ispitanika (330), dok je u zdravih ispitanika pronađena pozitivna korelacija između LDL-a i koncentracije BDNF-a u plazmi (330). Iz literature je poznato da je viša razina kolesterola čimbenik rizika za kardiovaskularnu smrtnost kod mlađih ispitanika (331), dok se čini da su kod starijih osoba iste razine kolesterola povezane s nižom smrtnošću (koncept poznat kao „obrnuta epidemiologija”). To vjerojatno proizlazi iz činjenice da su kod starijih ljudi niže razine ukupnoga kolesterola rezultat kroničnih upalnih stanja, a ne zdravijega načina života, tako da više razine ukupnoga kolesterola zapravo odražavaju bolje opće zdravlje (332). Kod ispitanika s koronarnom bolesti srca utvrđena je značajna

povezanost između niske koncentracije BDNF-a u plazmi i kolesterola (327). U literaturi postoji samo nekoliko studija koje povezuju BDNF s kolesterolom, a većina njih odnosi se na sadržaj kolesterola u mozgu, a ne na razine u plazmi (333, 334, 335). Niske koncentracije BDNF-a u plazmi bile su povezane s povišenim razinama LDL-a i prisutnošću *diabetes mellitus* (326, 336). Negativna korelacija između BDNF-a u serumu i triglicerida, ukupnoga kolesterola i LDL-a pronađena je kod bolesnika s koronarnom bolesti (337). Taj se nalaz objašnjava činjenicom da BDNF sudjeluje u biosintezi apolipoproteina E, koji je usko povezan s metabolizmom triglicerida, kolesterola i LDL-a, stoga se opaža međuodnos između BDNF-a i lipida (338, 339). Smatra se da BDNF potiče oslobađanje unutarstaničnoga kolesterola, stoga je BDNF povezan s trigliceridima, ukupnim kolesterolom i LDL-om u bolesnika s koronarnom bolesti (340, 334). Navedeni rezultati potvrđuju potencijalnu ulogu BDNF deficita u patogenezi aterosklerotskih kardiovaskularnih bolesti. Međutim, kako su tu bili uključeni veterani s PTSP-om i zdravi kontrolni ispitanici, i u studiji su kardiovaskularne bolesti bile isključni kriteriji, u nije pronađena značajna povezanost između koncentracije BDNF-a u plazmi lipida u serumu. Za razliku od rezultata ove studije, koja je uključila muške ispitanike s PTSP-om i zdrave kontrolne ispitanike, kod žena oboljelih od shizofrenije pronađena je korelacija između BDNF-a i lipidnoga profila, kao i težine simptoma – povećanje triglicerida i omjera trigliceridi/HDL i smanjenje HDL-a (341).

U literaturi ne postoje drugi podatci o povezanosti koncentracije BDNF-a u plazmi i jetrenih enzima (AST, ALT, GGT) kod PTSP-a. Također, u literaturi postoji samo nekoliko studija koje povezuju BDNF s AST-om, ALT-om, GGT-om i odnose se na koncentraciju u serumu, a ne u plazmi. Studija na starijim zdravim ženama utvrdila je da je koncentracija BDNF-a u serumu neovisno povezana s aktivnošću enzima ALT i GGT te omjerom AST/ALT-a (342) dok je druga studija na muškarcima ovisnim o alkoholu utvrdila da je koncentracija BDNF-a u serumu u negativnoj korelaciji s GGT-om, dok povezanost s AST-om i ALT-om nije utvrđena (343). Razlike u dijagnostičkim kategorijama i u spolu te koncentraciji BDNF-a određenoj u serumu, a ne u plazmi – mogu objasniti te rezultate.

Zbog toga su ove demografske i kliničke varijable isključene iz svih daljnjih analiza. Iako ispitanici s PTSP-om češće puše nego kontrolni ispitanici (301), nije pronađena razlika u koncentraciji proteina BDNF-a između nepušača i pušača unutar skupine zdravih ispitanika i ispitanika s dijagnozom PTSP-a zbog čega je pušački status izuzet iz svih daljnjih analiza.

Unatoč obilju nalaza o negativnoj korelaciji između BDNF-a i stresa, samo nekoliko kontroliranih studija i prikaza slučaja izvijestili su o nižoj koncentraciji BDNF-a u krvi kod osoba s PTSP-om u odnosu na zdrave ispitanike. Angelucci i suradnici usporedili su 2014. godine serumske razine BDNF-a kod ispitanika koji su bili izloženi traumi, a koji nisu razvili PTSP i kod onih koji su razvili PTSP (261). Otkrili su niže serumske razine BDNF-a kod bolesnika s PTSP-om u usporedbi s pojedincima koji nemaju PTSP nakon traumatskoga iskustva (261). Nasuprot tome, druga je studija pokazala da su pacijenti s PTSP-om imali više koncentracije BDNF-a od kontrolnih ispitanika (262). Te su koncentracije bile više odmah nakon traumatskoga događaja te su bile povišene i nakon šest mjeseci od traume (262), no s vremenom su se smanjivale i nisu se značajno razlikovale od vrijednosti u kontrolnih ispitanika godinu dana nakon izloženosti traumi (263). Postoje i kontradiktorni podatci o sniženoj, nepromijenjenoj ili povećanoj koncentraciji BDNF-a u krvi ispitanika s PTSP-om prema kontrolnim ispitanicima (278). Metaanaliza također nije utvrdila značajnu povezanost između koncentracije BDNF-a u plazmi i PTSP-a (279). Novija metaanaliza (318), koja je uključila velik broj ispitanika (909 ispitanika s PTSP-om i 1679 kontrolnih ispitanika), pokazala je da je koncentracija BDNF-a u plazmi, ali ne u serumu, značajno povišena kod ispitanika s PTSP-om. Taj se nalaz ne slaže s rezultatima ove studije. No valja istaknuti da se ova studija razlikuje od ove metaanalize u brojevima ispitanika koji su uzorkovani i čiji je BDNF određen istom metodom u istom centru, s istim dijagnostičkim postupcima te da je raspon ispitanika uključenih u skupinu s PTSP-om u toj metaanalizi varirao od 10 do 102 ispitanika, a samo jedna studija imala je 332 ispitanika koji nisu bili podijeljeni po spolu, dok je u ovoj studiji bilo uključeno 120 isključivo muških ispitanika. Također, raspon ispitanika u kontrolnoj skupini bio je od 13 do 154, i jedna je studija uključila 601 ispitanika bez podatka o spolu (318). Navedene studije uključile su određivanje BDNF-a i u plazmi i serumu (318). Naime, od svih sudionika uključenih u ovu metaanalizu BDNF u plazmi određen je u samo 136 ispitanika s PTSP-om i 209 kontrolnih ispitanika oba spola. Osim tih razlika, ispitanici s PTSP-om u toj studiji imali su PTSP izazvan različitim traumatskim iskustvima (PTSP koji se razvio nakon porođaja, potresa, prometnih nesreća, ili borbenoga iskustva), dok su ovdje uključeni samo veterani s borbenim iskustvom koji su razvili PTSP. Dodatna razlika jest i u komorbiditetima pa su ispitanici uključeni u tu metaanalizu (318) razvili i druge psihijatrijske poremećaje kao što su depresija, bipolarni afektivni poremećaj, zloraba alkohola, ali i somatske poremećaje kao što je hepatocelularni karcinom. U ovoj studiji kriteriji su

isključivanja isključili depresiju i bipolarni poremećaj, ostale psihijatrijske poremećaje, alkoholizam, ali i bolesti jetre uključujući i hepatocelularni karcinom.

Rezultati ovoga rada upućuju na sniženu koncentraciju proteina BDNF u plazmi pacijenata s dijagnozom PTSP-a u odnosu na zdrave kontrole. Dobiveni rezultati u skladu su s prijašnjim rezultatima (261) koji su istaknuli da se koncentracija BDNF-a može koristiti kao marker u dijagnostici PTSP-a. Naime, zbog snižene koncentracije BDNF-a u krvi ispitanika s PTSP-om može se zaključiti da je BDNF vjerojatno uključen u patofiziologiju nastanka PTSP-a te da bi se, pomoću terapijskih intervencija koje normaliziraju razinu BDNF-a u krvi, mogao postići napredak u liječenju PTSP-a (261). Ovi su rezultati sukladni zaključcima dobivenim u studiji na manjem broju ispitanika gdje je istražena koncentracija BDNF-a u plazmi između 18 zdravih i 18 ispitanika s PTSP-om i pokazano je da je ta koncentracija snižena u PTSP-u, u odnosu na zdrave kontrolne ispitanike (344). Također, snižena koncentracija BDNF-a u plazmi utvrđena je, slično rezultatima ovoga rada, i kod trinaest ispitanika s PTSP-om prema vrijednostima u četrnaest kontrolnih ispitanika, u studiji koja je uključila manji broj ispitanika koji su razvili punu kliničku sliku PTSP-a nakon prirodnih katastrofa (345). I kod sedamnaest bolesnica s depresijom, koje su bile izložene ranom traumatskom iskustvu u djetinjstvu, koncentracija BDNF-a u plazmi bila je niža nego kod sedamnaest depresivnih bolesnica bez rane traume ili kod petnaest kontrolnih ispitanika (346). Također, pokazana je značajna pozitivna korelacija između BDNF-a i pamćenja (346). Međutim, postoje i rezultati koji su suprotni rezultatima u ovome radu. Tako je pronađena povišena koncentracija BDNF-a u serumu, i to kod ratnih veterana (muških i ženskih) s PTSP-om, prema veteranima bez PTSP-a (323). Sličan je nalaz dobiven kod 36 djece koja su bile izvrgnuta traumatskom iskustvu u ranoj dobi prema koncentraciji kod 26 djece bez traumatskoga iskustva (347). Iako su ta djeca bila evaluirana prema DSM-4 kriterijima za PTSP (347), razlike u rezultatima mogu se objasniti razlikama u dobi ispitanika, veličini uzorka, vrsti traume i traumatskoga iskustva (civilnoga prema borbenom u ovoj studiji) i razlike mogu biti i izazvane nedostatnom statističkom snagom zbog premaloga uzorka u toj studiji (347). Kod civilnih kineskih žrtava koje su razvile PTSP nakon prometnih nesreća, kod njih jedanaest s PTSP-om, nisu pronađene razlike u koncentraciji BDNF-a u plazmi, prema devetnaest ispitanika sudionika prometnih nesreća koji nisu razvili PTSP (278). Unutar skupina osoba s PTSP-om koncentracija BDNF-a u plazmi nije se razlikovala kad je bila izmjerena 48 sati nakon prometne nesreće ili šest mjeseci nakon nesreće (278). Koncentracija BDNF-a bila je slična kod osoba koje su razvile

akutni stresni poremećaj (ASP) ili PTSD, šest mjeseci nakon prometnih nesreća (348). I ta je studija uključila također manji broj ispitanika (50 s ASP-om i deset s PTSP-om). I u njoj nije pronađena značajna razlika u koncentraciji BDNF-a u plazmi, povezana s prisutnošću ASP-a ili PTSP-a, ili s težinom simptoma (348). Razlike u odnosu na rezultate u ovome radu mogu se pronaći u različitim etnicitetu, različitom traumatskom iskustvu i znatno manjem broju ispitanika uključenih u te navedene studije.

Poznato je da na razinu proteina BDNF-a u serumu utječe količina BDNF-a koja je pohranjena u trombocitima, dok razina BDNF-a u plazmi predstavlja trenutno stanje organizma i količinu dostupnoga bioaktivnog proteina (325). Smatra se da je iz navedenih razloga koncentracija proteina BDNF-a u plazmi objektivniji pokazatelj stanja u organizmu u odnosu na koncentraciju u serumu (325). Istraživanje na uzorcima krvi i tkivu štakora (349) pokazala su da pri korištenju uzoraka plazme treba obratiti pozornost na to da su uzorci plazme osjetljiviji na temperaturu i stajanje. Upravo iz ovoga razloga uzorci korišteni za ovo istraživanje obrađeni su unutar nekoliko sati od uzorkovanja, a u međuvremenu su bili pohranjeni na 4 °C.

Najveći problem određivanja koncentracije proteina BDNF na periferiji, pomoću metode ELISA, nespecifičnost je korištenih protutijela na proBDNF, odnosno zreli BDNF. Problem predstavljaju i različiti rezultati u slučajevima analize seruma, plazme i pune krvi (350). U slučaju komercijalno dostupnoga ELISA kompleta tvrtke R&D Systems, Inc. (SAD i Kanada), koji je korišten za analizu koncentracije BDNF-a, u sklopu ovoga istraživanja, pokazano je da spomenuti komplet vrlo uspješno detektira zreli BDNF u plazmi, ali ne i proBDNF (351). Podatci proizvođača i podatci iz literature pokazuju da je varijacija/preciznost rezultata unutar istoga kompleta (engl. *intraassay*) od 3,8 do 6,2 %, a između dva kompleta od 7,6 do 11,3 % (engl. *inter-assay*) (349). U ovom istraživanju korištena je koncentracija BDNF-a u plazmi, a ne u serumu kako bi se izbjegao mogući utjecaj proteina BDNF koji otpuštaju trombociti (325) i stanice imunološkoga sustava (352) na dobivene rezultate.

Osim navedenih čimbenika koji mogu utjecati na koncentraciju BDNF-a u krvi ispitanika te na različite rezultate iz literature, te se razlike mogu objasniti i različitim utjecajima drugih neurobioloških sustava (npr. glukokortikoidnih hormona i osi HHN) na BDNF signaliziranje i

funkcije. BDNF ima vrlo značajnu, integralnu, ali kompleksnu ulogu u regulacijskoj mreži koja je uključena u osjetljivost na stres, stresom izazvano formiranje pamćenja i na razvoj stresom izazvanih poremećaja kao što je PTSP (313). Iako se smatra da na koncentraciju BDNF-a u krvi mogu utjecati polimorfizmi gena *BDNF* (313), ovi su rezultati potvrdili, pomoću dvosmjerne ANOVA-e, da je koncentracija BDNF-a u plazmi bila pod značajnim utjecajem isključivo dijagnoze PTSP-a, ali je, s druge strane, izostao značajan učinak BDNF Val66Met ili BDNF C270T genotipova na koncentraciju BDNF-a u plazmi. Taj je nalaz u skladu s prijašnjim rezultatima dobivenim na hrvatskim ispitanicima s koronarnom bolesti srca i kontrolnim zdravim ispitanicima koji su potvrdili da BDNF Val66Met značajno ne utječe na koncentraciju BDNF-a u plazmi (327).

Ova je studija potvrdila hipotezu da ispitanici s PTSP-om imaju sniženu koncentraciju BDNF-a u plazmi.

#### **4.4. Kognitivni simptomi u PTSP-u**

U ovom je radu pokazano da ispitanici s dijagnozom PTSP-a imaju značajno izraženiju kognitivnu disfunkciju koja pokazuje pad kognitivnih sposobnosti u odnosu na zdrave kontrolne ispitanike. Korišteni testovi, kao što su MMSE, Test crtanja sata, MoCA i PANSS-kognitivna domena upućuju na poremećaj kognitivnih funkcija kod pacijenata s dijagnozom PTSP-a koji je značajno izražen i lošiji prema kognitivnim sposobnostima u kontrolnih, dobno sparenih zdravih ispitanika. Taj se nalaz slaže s našim nedavno objavljenim rezultatima o smanjenim kognitivnim sposobnostima kod veterana s PTSP-om prema zdravim ispitanicima (314) te u drugim ispitanicima s PTSP-om iranskoga porijekla (353). Ispitanici s PTSP-om imali su 25 MMSE bodova i to je pokazalo pad kognitivnih sposobnosti prema onima u zdravih ispitanika.

Također, ispitanici s PTSP-om pokazali su značajno manji broj bodova na Testu crtanja sata (3 boda) prema maksimalnom broju bodova u kontrolnoj skupini. Taj test upućuje na funkcionalni poremećaj i pokazano je da je broj bodova na tom testu bio u značajnoj korelaciji s funkcionalnom efikasnosti i kompetencijom kod veterana s PTSP-om, ali i s blagom traumatskom povredom glave (354).

Iako su naši ispitanici s PTSP-om na MoCA testu imali otprilike 27 bodova, što ulazi u bodove koji pokazuju normalne kognitivne sposobnosti, to je bilo značajno manje od broja bodova u kontrolnih ispitanika. Lošije izvedbe na skali MoCa bile su u korelaciji s težinom PTSP simptoma kod ispitanika s PTSP-om koji su bili kognitivno oštećeni (355).

Na kognitivnim simptomima ljestvice PANSS-kognitivne podskale, koja je uključila podljestvice P2 (konceptualnu disorganizaciju), N5 (poteškoće u apstraktnom mišljenju), G10 (dezorijentacija), i G11 (oslabljenu pažnju), ispitanici s PTSP-om postigli su značajno lošije rezultate (9 bodova) prema zdravim ispitanicima. Taj je nalaz u skladu s prijašnjim rezultatima dobivenim na drugim hrvatskim ispitanicima gdje je kognicija istražena putem broja bodova na PANSS podskali za kogniciju te je broj bodova bio značajno veći, odnosno značajno lošiji kod veterana s PTSP-om prema kontrolnim ispitanicima (245). Sve su te razlike bile značajno različite i pokazano je da ispitanici s PTSP-om na različitim kognitivnim testovima ostvaruju značajno lošije rezultate nego zdravi kontrolni ispitanici.

Budući da na kognitivne sposobnosti može utjecati i dob, istražen je i utjecaj dobi na te kognitivne parametre. Dobiveni rezultati pokazali su da unutar skupine zdravih ispitanika i skupine ispitanika s PTSP-a nema značajne korelacije između dobi i razine kognitivnoga oštećenja procijenjenoga pomoću testa MMSE, Testa crtanja sata, MoCA-e te pomoću kognitivne domene ljestvice PANSS. To je potvrđeno i kada su svi ispitanici zajednički promatrani jer nije utvrđena značajna korelacija dobi s razinom kognitivnoga oštećenja. Zbog tih je rezultata dob, kao nezavisna varijabla, isključena iz daljnjih analiza koje se odnose na istraživanje povezanosti razine kognitivnoga oštećenja kod ispitanika s PTSP-om. Taj je nalaz sukladan nedostatku značajnoga utjecaja dobi na kogniciju mjerenu putem PANSS kognitivne podskale kod veterana s PTSP-om i kod zdravih ispitanika (245).

Ključna je značajka PTSP-a oštećenje neurokognitivnih funkcija koje se uglavnom očituje deficitima pažnje i brzine obrade, izvršnih funkcija i verbalnoga učenja i pamćenja (73). Stupanj kognitivnoga oštećenja pozitivno je povezan s težinom simptoma PTSP-a (74). Studije o PTSP-u pokazuju poremećaje pamćenja, dok su nedostatak pažnje, brzina obrade i deficiti izvršnih funkcija evidentirani empirijski kliničkim opservacijama (111). Evidentno je da je veza između PTSP-a i kognitivnih deficita dvosmjerna: kognitivni deficiti mogu biti dio psihopatologije PTSP-a, odnosno mogu biti čimbenici rizika za nastanak PTSP-a (112).



Postoje podatci koji upućuju da su nedostatak pažnje i brzina obrade zadataka usko povezani s progresijom PTSP-a (118). Poznato je i da se izvršne sposobnosti smanjuju s kronološkom dobi pa je potreban dodatan oprez u donošenju zaključaka vezanih uz izvršne sposobnosti zbog djelovanja traume (356). Rezultati istraživanja (356) pokazali su da je radno pamćenje, koje je, među ostalim, povezano i s izvršnim funkcioniranjem, značajno sniženo u oboljelih od PTSP-a, u odnosu na zdravu populaciju. Međutim, kod ispitanika s PTSP-om nije se pokazala razlika u sposobnostima numeričkoga pamćenja, odnosno izvršnim sposobnostima prema skupini zdravih mladih osoba s visokom stručnom spremom (356). Istraživanja koja su uključila primjenu ROCF testa kod veterana Domovinskoga rata, koji jesu ili nisu razvili PTSP, pokazala su (239, 357) da su veterani s PTSP-om imali značajno lošije rezultate na ROCF testu koji istražuje neposredno i prolongirano sjećanje u smislu reprodukcije slike prema veteranima koji nisu razvili PTSP. Ti testovi predstavljaju testove učenja i vizualnoga radnog pamćenja. Ti su podatci pokazali da hrvatski veterani Domovinskog rata s PTSP-om, sakupljeni i uzorkovani u drugim centrima, također pokazuju lošije kognitivne izvedbe (245) i oni su potvrdili naše rezultate koji upućuju na postojanje kognitivnih problema kod veterana Domovinskog rata koji su povezani s dijagnozom PTSP-a (sadašnja studija), a ne sa samim borbenim iskustvom (239, 357).

Kognicija je bila poremećena i kod kineskih ispitanika s PTSP-om prema kontrolnim ispitanicima (240). Naime, različite kognitivne funkcije kao što su inhibicija, ponovno prisjećanje, radna memorija i planiranje bile su poremećene kod PTSP-a, pokazujući da su egzekutivne funkcije urušene, prema onima u zdravim ispitanicima (240).

Razlike u kognitivnim sposobnostima između skupina ispitanika mogu se možda objasniti i razlikama u obrazovnom statusu ispitanika, no taj rezultat ovdje nije moguće potvrditi jer nije kontroliran moguć utjecaj obrazovanja. Naime, moguće je da je više obrazovanje zaštitni čimbenik pri opadanju kognitivnih sposobnosti, na što upućuju istraživanja na skupinama oboljelih od civilnih i ratnih trauma (121, 358, 359, 360).

U skladu s neurobiološkim modelom, po kojem su poremećaj prefrontalne povezanosti i loša izvedba zadataka posredovana prefrontalnim putem povezani s upalom, PTSP se povezuje s nedostacima izvršne funkcije (131). Pacijenti s dijagnosticiranim PTSP-om pokazuju na mjernim skalama lošije izvedbe izvršnih funkcija u usporedbi s pojedincima izloženim traumati,

a koji ne razviju PTSP (132). Nedavna studija istraživala je uzorak pojedinaca izloženih ratnom i političkom nasilju, a rezultati su pokazali da je trenutna razina, odnosno težina simptoma PTSP-a povezana s deficitom izvršnih funkcija, čak i nakon dvadeset godina od izloženosti traumi (133).

Brojne studije o povezanosti deficita pamćenja i PTSP-a izvijestile su o odstupanjima prilikom stjecanja pamćenja i podsjećanja, a što su povezali sa smanjenom sposobnošću konsolidacije pamćenja (149). Najčešće detektirani deficiti u memorijskoj funkciji kod bolesnika s PTSP-om deficiti su u epizodnom pamćenju (150), uz oštećenja vidne memorije (151) i autobiografskoga sjećanja (152). Dodatni je problem u studijama koje su ispitivale memorijske deficite u PTSP-u njihova provedba na skupinama s komorbidnom psihijatrijskim poremećajima. Dok neke studije koje su istraživale komorbiditete pokazuju da PTSP ima neovisan učinak na memoriju (151), drugi su autori došli do rezultata da depresija osobito doprinosi poremećaju pamćenja i sveukupnom kognitivnom deficitu u PTSP-u (158). Kako su u ovoj studiji kriteriji isključivanja isključili komorbiditete tipa mentalnih bolesti i depresije, može se tvrditi da poremećaji pamćenja u ovih veterana nisu bili izazvani komorbidnom depresijom.

Meziab i sur. (361) istraživali su odnos između PTSP-a i demencije te je pronađeno kako je kod ratnih zarobljenika oboljelih od PTSP-a povećan rizik za razvoj demencije za više od 50 % u odnosu na populaciju bez PTSP-a (361). Taj se podatak može objasniti činjenicom da je u PTSP-u pronađen značajno manji volumen mozga i smanjen volumen hipokampusa i frontanih regija (362). Osim toga, osobe s PTSP-om pokazuju značajno veću aktivaciju u strijatumu za vrijeme emocionalnih i kognitivnih procesiranja prema kontrolnim ispitanicima (363). Prema tome, osim poremećaja u kratkotrajnim i dugotrajnim vizualnim pamćenjima (239, 357), i vizualnom prostornom orijentacijom, postoje i poremećaji u socijalnim kognitivnim sposobnostima (364).

Mataanaliza je potvrdila da je PTSP vrlo značajan i važan rizični čimbenik za razvoj demencije (365), dok su longitudinalno praćeni veterani s PTSP-om imali dvostruko veći rizik za razvoj demencije prema veteranima bez PTSP-a (366). Taj je rizik potvrđen i u studiji koja je kontrolirala mogući utjecaj demografskih, somatskih i neuropsihijatrijskih komorbiditeta (367). Iako se ne zna koji je mehanizam koji povezuje PTSP i razvoj demencije, pretpostavlja

se da postoje združeni, zajednički putevi i mehanizmi u PTSP-u koji mogu ubrzati razvoj neuropatoloških promjena u demenciji, dok s druge strane karakteristični simptomi u PTSP-u, kao što su pojačana pobudljivost i ponovno proživljavanje traumatskoga iskustva, mogu izazvati socijalno povlačenje koje je povezano s kognitivnim urušavanjem (368, 369). Smatra se da postoji dvosmjernan odnos između PTSP-a i demencije, tj. kognitivnoga pada jer PTSP povećava rizik za razvoj demencije, a demencija povećava rizik za razvoj PTSP-a (369).

Za razliku od ovoga istraživanja, u istraživanju koje su na drugim ispitanicima proveli Nedić Erjavec i suradnici (2021) uočena je povezanost pušenja i težine psihopatologije ispitanika evaluirane pomoću PANSS ukupnih bodova i bodova na kognitivnoj domeni podskale PANSS. Naime, pušači su ostvarili značajno veći broj bodova u odnosu na nepušače na ukupnom broju bodova skale PANSS i na kognitivnoj domeni podskale PANSS (245). Ti su rezultati suprotni ovdje iznesenim rezultatima, a razlike se mogu objasniti puno većim brojem ispitanika koji su bili uključeni u navedeno istraživanje i različitim skalama za određivanje kognitivnoga urušavanja. Međutim, u tom je istraživanju također pokazano da pušački status nije utjecao na bodove na skali ROCF (245), što je u skladu s ovdje iznesenim podacima da pušenje nije utjecalo na bodove na skalama MMSE, na Testu crtanja sata i skali MoCa. Osim toga, komentirano je da broj bodova na kognitivnoj podljestvici PANSS skale samo nespecifično upućuje na kognitivne sposobnosti (370) koje su često poremećene kod osoba s PTSP-om (73, 110). No, većina simptoma navedenih u cijeloj PANSS ljestvici u znatnoj se mjeri uočava i kod osoba koje boluju od PTSP-a, posebice onih koji boluju od težega oblika koji je karakteriziran pojavom psihotičkih simptoma (289, 371).

Sukladno podacima iz literature (372), ovi rezultati upućuju da se kod veterana s PTSP-om razvijaju kognitivna oštećenja koja mogu dovesti do deficita pažnje i brzine obrade informacija te deficita izvršnih funkcija, verbalnoga učenja i pamćenja. S obzirom na visoku prevalenciju PTSP-a u Republici Hrvatskoj kod veterana Domovinskog rata i s obzirom da na starenje populacije veterana oboljelih od PTSP-a kognitivna oštećenja u navedenoj populaciji (239, 245, 314, 357) postaju sve važniji javnozdravstveni problem, veterani oboljeli od PTSP-a mogu se izdvojiti kao posebno ranjiva skupina kod koje se očekuje sve izraženija potreba za zdravstvenom skrbi.

#### 4.5. PTSP i polimorfizmi gena za BDNF

U ovom radu nije utvrđena značajna povezanost između polimorfizma Val66Met gena *BDNF* i dijagnoze PTSP-a. Naime, raspodjela triju skupina genotipova (Met/Met, Val/Met i Val/Val), ili nosioca alela A (heterozigoti Val/Met i homozigoti Met/Met) prema nosiocima homozigotnog Val/Val genotipa, te raspodjela nosioca alela Val i Met nije se značajno razlikovala između 350 zdravih ispitanika i 350 ispitanika s dijagnozom PTSP-a. Taj je nalaz uputio na zaključak da BDNF Val66Met nije povezan s PTSP-om u ovim skupinama ispitanika. Taj se rezultat slaže s ranijim rezultatima autora ovoga rada koji su dobiveni na potpuno drugim skupinama hrvatskih ratnih veterana s i bez PTSP-a i zdravim muškim kontrolnim ispitanicima (239, 245, 272). Takav je nalaz potvrđen i u metaanalizi koja nije utvrdila značajnu povezanost BDNF Val66Meta i PTSP-a kod 3335 ispitanika iz jedanaest studija (373).

Međutim, ti se rezultati ne slažu s rezultatima starije metaanalize (273) i s rezultatima koji su uključili velik broj hrvatskih veterana (njih 519) s PTSP-om i 918 zdravih kontrolnih muških ispitanika gdje je pokazana značajna razlika u raspodjeli genotipova (Met/Met, Val/Met i Val/Val) s obzirom na BDNF Val66Met između kontrolnih ispitanika i ispitanika s PTSP-om (374). Taj je nalaz bio značajan jer su nosioci Met alela bili češće zastupljeni kod ispitanika s PTSP-om (374). Razlike u rezultatima mogu se objasniti manjim brojem ispitanika uključenih u ovu sadašnju studiju (350 ispitanika s PTSP-om i 350 zdravih ispitanika) prema 1437 ispitanika (519 veterana s PTSP-om i 918 zdravih kontrolnih ispitanika) u navedenoj studiji (374).

Također je pokazano u ovom radu da nema značajnih razlika u raspodjeli Met/Met, Val/Met i Val/Val genotipova između pušača i nepušača, i to se pokazalo i kod zdravih ispitanika i kod ispitanika s PTSP-om. Taj nalaz, tj. nedostatak povezanosti polimorfizma BDNF Val66Met i pušenja, utvrđen je i u većim skupinama ispitanika s PTSP-om (374).

Pitts i suradnici proveli su 2019. godine studiju koja pokazuje da je prisutnost alela Met BDNF Val66Met polimorfizma povezana s većom težinom cjeloživotnih i trenutno prisutnih simptoma PTSP-a kod velikomg broja američkih vojnih veterana (235). Pokazano je da su nositelji Met alela imali pojačan utjecaj negativnoga pamćenja (237), intenzivnije simptome

ponovnoga proživljavanja (235), hiperpobuđenost i pojačanu ekscitabilnost (238) u usporedbi s nositeljima genotipa Val/Val. Budući da u ovoj studiji nije istraživana povezanost intenziteta traumatskih simptoma s prisutnošću BDNF Val66Met genotipova, ne mogu se potvrditi ti podatci.

Ovo istraživanje o povezanosti polimorfizma BDNF C270T i PTSP-a utvrdilo je značajnu povezanost polimorfizma C270T gena *BDNF* s dijagnozom PTSP-a. Naime, u ovoj je studiji pronađena značajna razlika u raspodjeli CC, CT i TT genotipova, C i T alela, odnosno T-nosioca (nosioca TT i TC genotipova) prema CC homozigotima između 350 ispitanika s PTSP-om i 350 kontrolnih ispitanika. Te su značajne razlike bile rezultat češćega prisustva CT genotipa, odnosno jednoga ili dva T-alela s obzirom na C270T kod ispitanika s PTSP-om prema zdravim kontrolnim ispitanicima. Ti su nalazi sukladni nedavnim rezultatima na drugim hrvatskim ispitanicima (245, 374) gdje je također potvrđena značajna povezanost između dijagnoze PTSP-a i BDNF C270T-a. Ovdje prikazani nalaz slaže se s nalazima iz literature (241, 245, 374), u kojima je frekvencija T-alela bila značajno veća kod ispitanika s PTSP-om prema kontrolnim ispitanicima.

Alel T-polimorfizma BDNF C270T opisan je kao čimbenik rizika za PTSP (241), shizofreniju (242), bulimiju nervosu (243) i za amiotrofičnu lateralnu sklerozu (178), dok su podatci za Alzheimerovu bolest neujednačeni (223, 225). Zhang i suradnici (244) nisu pronašli povezanost između polimorfizma BDNF C270T i PTSP-a (244). Razlike u rezultatima vezane za raspodjelu BDNF genotipova i PTSP-a mogu nastati i radi etičkih razlika u raspodjeli BDNF genotipova među bolesnicima (375) ili zdravim ispitanicima (173).

U ovom je radu utvrđeno kako nema značajnih razlika u raspodjeli genotipova s obzirom na polimorfizam BDNF C270T između zdravih kontrolnih ispitanika – pušača i nepušača – i ispitanika s PTSP-om – pušača i nepušača. To upućuje da pušački status kod veterana s PTSP-om nije utjecao na povezanost (s obzirom na polimorfizam C270T) tih genetskih varijanti s dijagnozom PTSP-a. Nasuprot tom nalazu, na puno većem broju hrvatskih ispitanika s različitim dijagnozama i kod zdravih ispitanika, pronađena je značajna povezanost između BDNF C270T-a i pušenja u svih ispitanika (N = 3502) jer su nosioci T-alela bili češće pušači nego nepušači (374). Međutim, u toj istoj studiji unutar ispitanika s PTSP-om (N = 519), nisu utvrđene značajne razlike u raspodjeli BDNF C270T genotipova, alela ili T-nosioca prema

CC homozigotima između pušača i nepušača, već je značajnost utvrđena samo kod 918 zdravih kontrolnih ispitanika (374). Prema tome, ti se rezultati slažu s ovdje iznesenima kako pušenje nije povezano s BDNF C270T polimorfizmom u PTSP-u.

#### **4.6. Kognitivni simptomi i koncentracija BDNF- a u PTSP-u**

Osim smanjenoga kognitivnog funkcioniranja, koje je pokazano u ovom istraživanju, analizirani veterani s PTSP-om imali su i značajno sniženu koncentraciju BDNF-a u plazmi prema kontrolnim zdravim ispitanicima, a kognitivni pad bio je u značajnoj korelaciji sa sniženom koncentracijom BDNF-a u plazmi (314).

U ovom je istraživanju pokazano da nema značajne korelacije između broja bodova na testu MMSE i koncentracije BDNF-a u plazmi kada se pojedinačno promatraju skupine zdravih kontrolnih ispitanika ili ispitanika s PTSP-om. Razlog za nedostatak korelacije može se potražiti u manjem broju ispitanika. Međutim, budući da se željelo istražiti povezanost koncentracije BDNF-a u plazmi s kognitivnim propadanjem, kada su promatrani svi ispitanici zajedno, broj bodova na testu MMSE bio je u značajnoj i pozitivnoj korelaciji s koncentracijom BDNF-a u plazmi, što upućuje na to da osobe s višom koncentracijom proteina BDNF-a u plazmi imaju manje izražene kognitivne smetnje. I obratno – osobe s nižom koncentracijom proteina BDNF-a u plazmi imaju jače izražene kognitivne smetnje.

Uz test MMSE, kognitivne smetnje istražene su i pomoću Testa crtanja sata. Ovi su rezultati pokazali da nema značajne korelacije između broja bodova na Testu crtanja sata i koncentracije BDNF-a u plazmi kod su promatrane pojedinačne skupine zdravih kontrolnih ispitanika ili ispitanika s PTSP-om. Međutim, kod svih ispitanika uočena je značajna i pozitivna korelacija između broja bodova na Testu crtanja sata i koncentracije BDNF-a u plazmi. Taj nalaz potvrđuje prethodne rezultate i upućuje na to da ispitanici s višom koncentracijom proteina BDNF-a u plazmi imaju manje izražene kognitivne smetnje, odnosno da ispitanici s nižom koncentracijom BDNF-a u plazmi imaju jače izražene kognitivne smetnje.

Nadalje su kognitivni simptomi određeni pomoću skale MoCA. Između pojedinačnih skupina ispitanika s dijagnozom PTSP-a ili zdravih kontrolnih ispitanika nije utvrđena značajna

korelacija između broja bodova na testu MoCA i koncentracije BDNF-a u plazmi. No, u svih ispitanika zajedno postoji značajna i pozitivna korelacija između broja bodova na testu MoCA i koncentracije BDNF-a u plazmi. Ti su rezultati dodatno potvrdili dvosmjernan odnos koncentracije BDNF-a i razine kognitivnoga oštećenja u smislu da ispitanici s višom koncentracijom proteina BDNF-a u plazmi imaju manje izraženo kognitivno propadanje, odnosno da ispitanici s nižom koncentracijom BDNF-a u plazmi imaju jače izražen kognitivni pad.

Dodatno je pokazano da nema značajne povezanosti između broja bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS i koncentracije BDNF-a u plazmi kod zdravih kontrolnih ispitanika i ispitanika s PTSP-om kada se promatraju pojedinačne skupine. No, ovi su rezultati za sve ispitanike pokazali da postoji značajna i negativna korelacija između broja bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS i koncentracije BDNF-a u plazmi. Naime, najniži broj bodova na toj skali upućuje na najmanje kognitivno oštećenje te su ispitanici s višom koncentracijom proteina BDNF-a u plazmi imali manje izražene kognitivne poremećaje, određene manjim brojem bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS.

Naši su rezultati sumarno pokazali da je utvrđena značajna i pozitivna korelacija između broja bodova na testu MMSE, Testu crtanja sata i MoCA-i te koncentracije BDNF-a u plazmi i također su pokazali da ispitanici s višom koncentracijom proteina BDNF u plazmi imaju slabije kognitivne smetnje. Također, utvrđeno je da broj bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS značajno i negativno korelira s koncentracijom BDNF-a u plazmi, što potvrđuje da ispitanici s višom koncentracijom BDNF-a u plazmi imaju manje izražene kognitivne poremećaje, određene brojem bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS. To je bio prvi takav nalaz u literaturi i nedavno je objavljen dio tih rezultata (314).

Iako je izostala pojedinačna korelacija među brojevima bodova na skalama MMSE-a, Testa crtanja sata, MoCA-e i bodova na kognitivnoj domeni skale PANSS te koncentracije BDNF-a u plazmi unutar ispitanika s PTSP-om i unutar zdravih ispitanika, vjerojatno zbog manjega broja ispitanika po skupinama, istražujući povezanost između kognitivnoga propadanja s koncentracijom BDNF-a u plazmi, pokazano je da kod svih ispitanika postoji značajno snižena koncentracija BDNF-a u plazmi koja je bila povezana sa smanjenjem kognitivnih

funkcija, odnosno s manjim brojem bodova na skalama MMSE-a, MoCA-e, na Testu crtanja sata i na većem broju bodova na kognitivnoj podskali skale PANSS.

Kako bi se dodatno istražila ta značajna povezanost koncentracije BDNF-a i kognicije, svi su ispitanici, ili samo ispitanici s PTSP-om, bili podijeljeni prema kognitivnim sposobnostima evaluiranim putem MMSE skale na one s normalnim kognitivnim funkcijama (broj bodova od 26 do 30), one s blagim poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 21 do 25) i one s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 10 do 20). U ovom istraživanju nije bilo ispitanika s teškim poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova  $\leq 9$ ). Kod svih ispitanika pronađen je značajan pad koncentracije BDNF-a u plazmi kod ispitanika s blagim i umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija određenom MMSE testom u odnosu na ispitanike s normalnim kognitivnim funkcijama. Ti su rezultati potvrdili da je niža koncentracija BDNF-a u plazmi povezana s oštećenjem kognitivnih funkcija u ovoj studiji kod svih ispitanika, sukladno nedavnim rezultatima (314). S tim su u skladu i rezultati metaanalize petnaest studija (odnosno  $N = 2067$  uključenih ispitanika) kod koje je utvrđena snižena koncentracija BDNF-a u serumu ispitanika s AD-om, prema kontrolnim ispitanicima (376).

Na nižu koncentraciju BDNF-a u serumu utjecali su i MMSE bodovi (376, 377). Kako je ova studija uključila samo muške ispitanike, isključen je značajan utjecaj spola na koncentraciju BDNF-a (378). Razina edukacija, tj. obrazovanja nije utjecala na koncentraciju BDNF-a kod muškaraca, već samo kod žena (378). Prema tome, razina obrazovanja nije mogla biti izvor razlika u koncentraciji BDNF-a među ovim ispitivanim muškim skupinama.

Međutim, samo kod ispitanika s PTSP-om izostala je ta značajna razlika u koncentraciji BDNF-a u plazmi među veterananima s normalnim kognitivnim funkcijama, s blagim poremećajem kognitivnih funkcija i veteranima s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija. Ti su rezultati pokazali da koncentracija BDNF-a u plazmi ne može razlikovati skupine veterana s PTSP-om, s normalnim kognitivnim funkcijama, s blagim poremećajem kognitivnih funkcija i s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija. Razlog je u manjem broju ispitanika s PTSP-om ( $N = 120$ ), i taj je manji broj vjerojatno odgovoran za nedostatak značajne povezanosti koncentracije BDNF-a u plazmi i kognitivnih sposobnosti određenih kategorijama MMSE skale.



Kako bi se potvrdili rezultati, svi su ispitanici, ili samo ispitanici s PTSP-om, dodatno podijeljeni prema broju bodova na Testu crtanja sata u skupinu onih s normalnim kognitivnim funkcijama (broj bodova 5) i u skupinu osobe s poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 0 do 4). U skladu s nedavno objavljenim rezultatima (314), utvrđena je značajno niža koncentracija proteina BDNF kod svih ispitanika s poremećajem kognitivnih funkcija određenim testom crtanja sata prema svim ispitanicima s normalnim kognitivnim funkcijama.

Niži broj bodova na Testu crtanja sata bio je pridružen nižoj koncentraciji BDNF-a u plazmi svih uključenih kognitivno oštećenih ispitanika, i to je potvrđeno nižom koncentracijom BDNF-a u serumu kod ispitanika s značajno poremećenim kognitivnim funkcijama, kao što su ispitanici s AD-om (377) prema zdravim kontrolnim ispitanicima.

S druge strane, ta je značajna povezanost koncentracije BDNF-a u plazmi i kognicije izostala, kada su samo ispitanici s PTSP-om podijeljeni na veterane s normalnim kognitivnim funkcijama i veterane s poremećajem kognitivnih funkcija, određenim pomoću testa crtanja sata. Pretpostavlja se da je manji broj ispitanika s PTSP-om i nedostatak statističke snage uzrok nedostatku značajnih razlika u koncentraciji BDNF-a u plazmi između kognitivno oštećenih i kognitivno neoštećenih ispitanika s PTSP-om.

S time su u skladu i rezultati koji su istražili kognitivno propadanje s MoCA testom. Naime, kada su svi ispitanici podijeljeni prema broju bodova na testu MoCA u skupinu osoba s normalnim kognitivnim funkcijama (broj bodova od 26 do 30) i skupinu osoba s poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 25 i niže), pronađena je također značajno niža koncentracija BDNF-a kod ispitanika s poremećajem kognitivnih funkcija u odnosu na ispitanike s normalnim kognitivnim funkcijama. Taj se nalaz slaže s nedavno objavljenim rezultatima autora ovoga rada (314).

Međutim, kada su samo ispitanici s PTSP-om podijeljeni prema broju bodova na testu MoCA u skupinu s normalnim kognitivnim funkcijama i skupinu s poremećajem kognitivnih funkcija, nije utvrđena značajna razlika u koncentraciji BDNF-a između tih dviju skupina. Ti su rezultati pokazali da se koncentracija BDNF-a značajno ne razlikuje između veterana s i bez kognitivnih oštećenja određenih skalom MoCA. Taj nedostatak razlika vjerojatno je

izazvan manjim brojem uključenih veterana s PTSP-om. Smatra se da bi se u budućim studijama povećanjem skupina ispitanika s PTSP-om omogućila dodatna provjera tih rezultata.

U skladu s ovim rezultatima, na japanskim je starijim ispitanicima pronađeno da je viša razina serumskog BDNF-a povezana sa smanjenim rizikom za kognitivno urušavanje (379), dok su ispitanici s brojem bodova ispod 21 imali značajno nižu koncentraciju BDNF-a i veći rizik za kognitivni pad. Taj je nalaz sukladan s rezultatom koji pokazuje veći broj bodova na skali MoCA, povezanih s višom koncentracijom BDNF-a u plazmi i aktivacijom trombocita u ispitanika s koronarnom bolesti srca (380). Slični su rezultati, dakle pozitivna korelacija između koncentracije BDNF-a i kognitivnoga oštećenja, pronađeni i kod osoba s jakom izloženošću manganu (381), ili u kognitivno oštećenih osoba sa shizofrenijom (382).

Rezultati kognitivnoga testiranja potvrđeni su i brojem bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS jer kada su promatrani svi ispitanici, pronađena je značajna i negativna korelacija s brojem bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS i koncentracije BDNF-a u plazmi, što potvrđuje da je niža koncentracija proteina BDNF-a u plazmi povezana s jače izraženim kognitivnim smetnjama, određene brojem bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS. Taj je nalaz u skladu s prijašnjima gdje su veterani s PTSP-om imali značajno manji broj bodova na podskali PANSS za kogniciju, a prema zdravim ispitanicima (245, 314).

Ti rezultati upućuju na zaključak da BDNF ima protektivnu ulogu u kognitivnom oštećenju te je niža koncentracija BDNF-a u plazmi vezana za lošije kognitivno funkcioniranje i to je pokazano kod svih ispitanika te kod kognitivnoga urušavanja određenim svim mjernim instrumentima koji su bili upotrijebljeni u ovoj studiji.

Smanjenje neurotropne signalizacije jedan je od glavnih uzroka deficita plastičnosti mozga koja se događa fiziološkim procesom starenja. BDNF pripada skupini neurotrofina s utjecajem na plastičnost mozga, a time i na kogniciju. Od kada se uvidjelo da su promjene u neuronskoj aktivnosti uz disfunkciju sinaptičke plastičnosti povezane s lošijim učinkom u različitim kognitivnim zadacima (189), potaknuta su istraživanja koja bi povezala promjene u koncentraciji BDNF-a s promjenama kognicije povezanih sa starenjem i srodnim promjenama u strukturnom i funkcionalnom integritetu neuronskih mreža (190). Budući da

kod ljudi mjerenje koncentracije BDNF-a u mozgu in vivo nije moguće, istraživanje BDNF-a provodi se kod ljudi u krvi ili cerebrospinalnoj tekućini. S obzirom na to da postoje nalazi da BDNF može prijeći krvno-moždanu barijeru (196), pretpostavlja se da je BDNF u krvi približan koncentraciji BDNF-a u mozgu, a to potvrđuju i rezultati dobiveni na štakorima (197). Potencijalni je uzrok nedosljednosti prijavljenih u razinama BDNF-a među studijama i taj mjeri li se pro-oblik (proBDNF) ili zreli oblik BDNF-a jer samo neki testovi mogu razlikovati ta dva oblika BDNF-a, a kako proBDNF i zreli BDNF imaju potpuno suprotne učinke, vrlo je važno biti siguran da se određuje samo jedan oblik BDNF-a (199).

Potvrđena uloga BDNF-a u plastičnosti mozga razlog je za hipotezu da smanjenje koncentracije BDNF-a može biti štetno za normalno funkcioniranje mozga. Njegovi trofički učinci na hipokampalne neurone imaju važnu ulogu u suzbijanju štetnih učinaka neuronske degeneracije (200). Visoka koncentracija BDNF-a u hipokampusu povezana je i s preživljavanjem i s diferencijacijom progenitornih stanica dentalnoga girusa kod odraslih (201), a niske su koncentracije BDNF-a povezane s nedostatnom neurogenezom kod starijih životinja (202).

Mnogi okolišni i hormonalni čimbenici, poput tjelesne vježbe (383), mogu utjecati na razinu BDNF-a, što je dodatni izazov za istraživanja koja povezuju BDNF s oštećenjem pamćenja povezanoga s dobi i hipokampalnom atrofijom. U ovom radu nisu kontrolirani učinci tjelovježbe, no koncentracija BDNF-a bila je snižena kod svih osoba s kognitivnim oštećenjima i kod ispitanika s PTSP-om i zdravih kontrolnih ispitanika te se može pretpostaviti da se mogući učinak tjelovježbe na razinu BDNF-a može zanemariti.

BDNF je jedna od ključnih molekula povezana s plastičnosti neurona i pamćenjem, odnosno s kognitivnim funkcijama. Promjene u izražavanju i regulaciji proteina BDNF-a povezane su s patološkim oštećenjem pamćenja i pojavom kognitivnih simptoma (208). Smanjene koncentracije BDNF-a zabilježene su ne samo kod fiziološkog starenja već i u patološkim stanjima uključujući i Alzheimerovu bolest (AD) (206, 207). Poznato je da veterani oboljeli od PTSP koji imaju ozbiljnije i teže simptome, imaju i smanjene sve aspekte kvalitete života (235). Kada bi se liječenju kognitivnih deficita, koji su jedna od glavnih značajki PTSP-a, pristupilo na vrijeme i prije ozbiljnije progresije, mogla bi se spriječiti daljnji pad kvalitete života.

Sukladno ovim rezultatima, jedna je studija (191) pokazala da postoji povezanost između oštećenja kognitivnih funkcija i smanjene ekspresije BDNF-a u primarnim područjima mozga pogođenim starenjem (191). Međutim, druga studija (192), ali i ova sadašnja studija, nisu potvrdile navedeni utjecaj i povezanost jer u ovoj studiji dob nije značajno utjecala na razinu kognitivnoga oštećenja procijenjenoga pomoću broja bodova na testu MMSE, Testu crtanja sata, MoCA-i te kognitivnoj domeni ljestvice PANSS i nije bilo značajne korelacije između dobi i tih bodova kod svih ispitanika ili unutar skupine zdravih ispitanika i skupine ispitanika s dijagnozom PTSP-a.

Međutim, neke studije opisuju sniženu koncentraciju BDNF-a kod starijih osoba, popraćenu smanjenjem ekspresije i/ili aktivacije TrkB receptora što pak dovodi do povećanje razine proBDNF i p75NTR, a što bi pak upućivalo na prisutnost dodatnih deficita povezanih s dobi u putevima signalizacije BDNF-a procesima sazrijevanja BDNF-a (171), što bi se vjerojatno potvrdilo i u ovoj studiji da ispitanici nisu bili sparni po dobi.

Postoje i studije koje opisuju i porast koncentracije BDNF-a tijekom starenja (193), a što bi moglo uputiti na zaključak da smanjenje koncentracije BDNF-a u hipokampusu nije dio mehanizama koji su uključeni u kognitivne promjene koje se javljaju procesom starenja. Međutim, smrt neuronskih stanica nesumnjivo je važan element kognitivnoga oštećenja povezanoga s dobi, a kao prolazan i kompenzatorni odgovor na opisanu neuronsku degeneraciju upravo bi moglo biti povećanje razine hipokampalnog BDNF-a zabilježeno u nekim studijama (193, 194, 195).

BDNF-a ima potvrđenu ulogu u plastičnosti mozga zbog čega smanjenje koncentracije BDNF-a može biti štetno za normalno funkcioniranje mozga. Trofički učinci BDNF-a na hipokampalne neurone imaju važnu ulogu u suzbijanju štetnih učinaka koje izaziva degeneracija neurona (200). Visoka koncentracija BDNF-a u hipokampusu povezana je i s preživljavanjem i s diferencijacijom progenitornih stanica dentalnoga girusa u odraslih životinja (201), a niske su koncentracije BDNF-a povezane s nedostatnom neurogenezom kod starijih životinja (202).

Upravo je BDNF protein taj koji može pomoći pri uspostavljanju poveznice između molekularnih i biokemijskih promjena i modela nedostatka specijalnoga i prepoznavajućega pamćenja povezanih sa starenjem (171). Preciznije, budući da je optimalna kognitivna funkcija povezana s učinkovitom plastičnošću neurona, moguće je da su ti nedostaci pamćenja povezani s promjenama u izražavanju i regulaciji proteina povezanih s plastičnošću kao što je BDNF, protein čiji izraz utječe na starenje mozga te je ključan za memoriju, a posebno za razlikovanje sličnih sjećanja (171).

Smanjene razine BDNF-a zabilježene su ne samo kod fiziološkog starenja već i u patološkim stanjima uključujući Huntingtonovu (HT), Alzheimerovu bolest (AD) i Parkinsonovu bolest (206, 207). S obzirom na ulogu BDNF-a u plastičnošću mozga, pokazana je povezanost između ekspresije BDNF-a i kognitivnih simptoma povezanih s patološkim oštećenjima pamćenja (208).

Razlike između različitih studija mogu se objasniti nedostatkom statističke snage, heterogenim uzorcima, različitim dijagnozama, ali i različitim skalama za određivanje kognitivnih oštećenja u ispitanika.

Ovo je istraživanje potvrdilo ovdje postavljenu hipotezu da kognitivno urušeni ispitanici imaju nižu koncentraciju BDNF-a u plazmi prema ispitanicima koji ne pokazuju kognitivno urušavanje. Međutim, ovo istraživanje nije potvrdilo početnu hipotezu da će snižena koncentracija BDNF-a u plazmi biti specifično i značajno povezana s kognitivnim urušavanjem unutar PTSP ispitanika.

#### **4.7. Polimorfizmi gena za BDNF i kognicija u PTSP-u**

U ovoj je studiji istražena moguća povezanost kognicije, određena putem broja bodova na pojedinim kognitivnim testovima, i polimorfizama gena BDNF, Val66Met i C270T kod svih ispitanika zajedno (N = 240) ili samo kod ispitanika s PTSP-om (N = 120). Skupni su rezultati pokazali da BDNF Val66Met i C270T polimorfizmi nisu povezani s kognicijom u svih uključenih ispitanika ili u ispitanika s PTSP-om, podijeljenih prema stupnjevima kognitivnoga propadanja. Ti su rezultati sukladni rezultatima ovoga rada na ispitanicima s

AD-om i s blagim kognitivnim poremećajem gdje nije utvrđena značajna povezanost između Val66Meta i C270T-a te kognicije određene pomoću MMSE-a i Testa crtanja sata (384).

Naime, utjecaj BDNF Val66Meta (homozigoti Val/Val prema nosiocima Meta (to su kombinirane skupine nosioca Met/Vala i Met/Met genotipova) genotipova, te utjecaj BDNF C270T genotipova (homozigota CC prema nosiocima alela T (a to su kombinirane skupine nosioca TT i TC-genotipova) na kogniciju određen je prema broju bodova na skalama MMSE, Testa crtanja sata, na testu MoCA i kognitivnoj domeni skale PANSS. Istražena je povezanost BDNF Val66Met i BDNF C270T polimorfizama s kognicijom ili kod svih ispitanika, ili samo unutar ispitanika s PTSP-om podijeljenih u skupine s jače i manje izraženim kognitivnim propadanjem.

Rezultati su pokazali da nema značajnoga utjecaja BDNF Val66Met i BDNF C270T genotipova na ukupan broj bodova na testu MMSE kod svih ispitanika ili unutar ispitanika s PTSP-om. Kako bi se dodatno istražio taj nedostatak značajne povezanosti BDNF Val66Met i C270T polimorfizma i broja bodova na MMSE-u, svi su ispitanici, ili samo ispitanici s PTSP-om, dodatno podijeljeni prema Val66Met genotipovima u nosioce Val/Val i nosioce Met alela, ili u nosioce BDNF C27T CC genotipa prema nosiocima alela T te prema broju bodova na skali MMSE u one s normalnim kognitivnim funkcijama (broj bodova od 26 do 30), osobe s blagim poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 21 do 25), i osobe s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 10 do 20). Međutim, nije pronađena značajna razlika između raspodjele Val/Val genotipova prema Met nosiocima kod svih ispitanika s različitim brojem bodova na MMSE skali, niti između raspodjele CC genotipa prema T-nosiocima kod svih ispitanika s različitim brojem bodova na MMSE skali. Nedostatak povezanosti izabranih polimorfizama s kognitivnim oštećenjem potvrđen je kada se kontrolirao utjecaj dijagnoze na te rezultate. Naime, polimorfizam Val66Met i polimorfizam C270T nisu bili značajno povezani s brojem bodova na testu MMSE kada se u obzir uzme i dijagnoza.

Također, ispitanici s PTSP-om podijeljeni su prema kognitivnom urušavanju na one s normalnim kognitivnim funkcijama, osobe s blagim poremećajem kognitivnih funkcija i osobe s umjerenim poremećajem kognitivnih funkcija prema skali MMSE. Ponovo je utvrđen

nedostatak povezanosti Val66Meta i C270T-a i kognitivnoga pada određenoga brojem bodova na testu MMSE .

U skladu s ovim rezultatima, Mandelman i Grigorenko proveli su metaanalizu s uključenih 7095 ispitanika u kojoj nisu otkrili značajnu povezanost između BDNF-a i Val66Met polimorfizma i nekoliko fenotipova, uključujući opće kognitivne sposobnosti, pamćenje, izvršne funkcije, vizualne sposobnosti obrade i kognitivnu fluentnost, a pretpostavili su i hipotezu za objašnjenje ove nedosljednosti u literaturi te su predložili da umjesto grupiranja po ponašajnim sličnostima, kognitivne fenotipe treba kategorizirati ovisno o uključenim putevima aktivacije mozga (214). Također, ovi su rezultati u skladu s rezultatima o nedostatku utjecaja BDNF Val66Met genotipova (u kombinaciji s epsilon 4 alelom apolipoproteina E) na broj MMSE bodova dobivenim na osobama s amnestičkim blagim kognitivnim poremećajem ili kognitivno neopterećenim starijim osobama (385).

Iako neke studije, sukladno našim rezultatima, nisu mogle potvrditi povezanost između genotipa Val66Meta i memorije skupine ispitanika u kojima su bili i bolesnici sa shizofrenijom, bipolarnim poremećajem, s AD-om i zdravi ispitanici (217), ili kod zdravih ispitanika (217, 218, 219), postoje i suprotni rezultati koji povezuju polimorfizam Val66Met i memoriju (171). Havelka Meštrović i suradnici (239), u studiji koja je uključivala manji broj hrvatskih ratnih veterana s ili bez PTSP-a, otkrili su značajnu povezanost između kognicije (vizualno-prostorna percepcija i funkcija kratkotrajne i dugoročne vizualne memorije) utvrđene pomoću Rey-Osterrieth Complex Figure (ROCF) testa i BDNF Val66Meta kod branitelja s PTSP-om. Naime, nositelji Met alela, s obzirom na Val66Met, pokazali su slabiju kratkotrajnu vizualnu memoriju i pažnju povezanu s izvršnim funkcijama, u usporedbi s nositeljima genotipa Val/Val (239). Razlike u rezultatima mogu se objasniti različitim testovima koji su upotrijebljeni za praćenje kognicije (ROCF test u navedenoj studiji prema testu MMSE u ovoj studiji), iako su obje studije uključile hrvatske ratne veterane, ali uzorkovane iz drugih centara. U neskladu s ovim rezultatima, metaanaliza iz 2018. godine potvrdila je povezanost BDNF Val66Meta i kognicije – rezultati pokazuju da su se homozigoti Val/Val bolje snašli u memorijskim zadacima, dok su nositelji Met alela pokazali poboljšane neurokognitivne performanse u izvršnoj funkciji (216). Studija koja je uključivala kineske ispitanike s PTSP-om otkrila je različite povezanosti između genotipova BDNF Val66Met i kognicije, upućujući da su nositelji jednoga ili dva Met alela imali bolji vokabular

i ocjene znakova, jezičnu inteligenciju, operativnu inteligenciju i sveukupne rezultate inteligencije, veći broj sortiranja i manji broj grešaka (slučajnih i kontinuiranih) u Wisconsin testu razvrstavanja kartica u usporedbi s nositeljima Val/Val genotipa (240). Razlike se mogu objasniti upotrebom različitih mjernih instrumenata za mjerenje kognicije i različitom etničkom pripadnošću jer je pokazano da se raspodjela BDNF Val66Met genotipova značajno razlikuje između azijskih i hrvatskih ispitanika (173). S tim su rezultatima sukladni i rezultati nedavne metaanalize koja je uključila 1244 europsko-američkih veterana s borbenim iskustvom i pokazala da je kod ispitanika s mogućim PTSP-om Met alel bio povezan s lošijom subjektivnom i objektivnom kognicijom, dok je ta povezanost izostala kod veterana bez PTSP-a (372), upućujući da PTSP-a moderira povezanost BDNF Met alela i kognicije. I kod drugih dijagnostičkih kategorija (ispitanika s depresijom i shizofrenijom) i zdravih ispitanika u metaanalizi koja je uključila 5922 ispitanika pokazano je da su nosioci Met alela pokazali lošije izvedbe u pamćenju određenih s ROCT ili testovima verbalnoga pamćenja prema nosiocima Val alela (215).

Test crtanja sata također se često koristi za procjenu kognitivnoga oštećenja kod pacijenata s dijagnozom demencije. Omogućuje procjenu funkcionalnosti frontalnih i temporoparijetalnih regija mozga, trajanje testa je svega nekoliko minuta, a upućuje na ozbiljnost demencije. Svaki od psihometrijskih testova, koji se koriste u obradi pacijenata s demencijom, ima svoja ograničenja. Postoje naznake da je Test crtanja sata precizan samo u slučajevima pacijenata u srednjoj i kasnoj fazi demencije (386) te u populacijama u kojima nema mnogo osoba s vrlo niskim stupnjem obrazovanja (387).

U ovom su istraživanju svi ispitanici, ili samo ispitanici s PTSP-om, bili dodatno podijeljeni prema broju bodova na Testu crtanja sata u dvije skupine – na one s normalnim kognitivnim funkcijama (broj bodova 5) i na one s poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova od 0 do 4), da bi se dodatno ispitaio potencijalni utjecaj polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF* na ozbiljnost kognitivnih simptoma kod ispitanika uključenih u istraživanje. Rezultati su potvrdili da razina kognitivnoga oštećenja u istraživanoj skupini ispitanika nije bila povezana s polimorfizmima Val66Met i C270T gena *BDNF*. Logičku regresiju koristili smo za dodatnu provjeru povezanosti pojedinih polimorfizama gena *BDNF* s razinom kognitivnoga oštećenja procijenjenoga pomoću Testa crtanja sata kada se u obzir uzme i dijagnoza (zdrave kontrole



vs. PTSP). Ta je analiza potvrdila da nema značajne povezanosti polimorfizama Val66Met i C270T s brojem bodova na Testu crtanja sata.

Taj je nalaz potvrđen i samo kod ispitanika s PTSP-om koji su bili podijeljeni na isti način prema rezultatima testa crtanja sata. I tada nije uočena različita raspodjela Val66Met ili C270T genotipova između osoba s PTSP-om, s normalnim kognitivnim funkcijama i osoba s PTSP-om s poremećajem kognitivnih funkcija, što je pokazalo da polimorfizmi Val66Met i C270T nisu povezani s kognicijom određenom s brojem bodova na Testu crtanja sata u ispitanika. Sličan nalaz, tj. nedostatak povezanosti Val66Met i C270T gena *BDNF* s kognicijom određenom pomoću testa crtanja sata pokazan je i kod ispitanika s AD-om i s blagim kognitivnim poremećajem (384).

MoCA test obuhvaća različite skupine pitanja koje testiraju različite aspekte mentalnoga funkcioniranja, koristi za brzu procjenu kognicije, za probir bolesnika s blagim poremećajem kognitivnih funkcija. Utjecaj genotipova s obzirom na polimorfizme gena *BDNF* na broj bodova na testu MoCA kod svih ispitanika zajedno, te samo kod ispitanika s PTSP-om, istražen je uspoređujući broj bodova na testu MoCA između nosioca različitih genotipova s obzirom na polimorfizam Val66Met (homozigoti Val/Val vs. nosioci alela Met) i s obzirom na polimorfizam C270T (homozigoti CC vs. nosioci alela T) gena *BDNF*. Rezultati su pokazali da nema značajnoga utjecaja genotipova na ukupan broj bodova na Testu crtanja sata kada se istražuju svi ispitanici zajedno ili kada se promatraju samo ispitanici s PTSP-om, u slučaju oba istražena polimorfizma.

Kako bi se potvrdio taj nedostatak povezanosti, ispitanici su podijeljeni prema broju bodova na testu MoCA u dvije skupine – osobe s normalnim kognitivnim funkcijama (broj bodova od 26 do 30) i osobe s poremećajem kognitivnih funkcija (broj bodova ispod 26), radi procjene ozbiljnosti kognitivnih oštećenja. Nije potvrđena povezanost polimorfizama Val66Met i C270T gena *BDNF* s razinom kognitivnoga oštećenja ili kod svih ispitanika, ili kada je u obzir uzet i mogući utjecaj dijagnoze (zdrave kontrole vs. PTSP).

U ovoj studiji nije utvrđen značajan utjecaj genotipova s obzirom na polimorfizme gena *BDNF* na broj bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS kod svih ispitanika zajedno. Uspoređen je broj bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS između polimorfizma

Val66Met (homozigoti Val/Val vs. nosioci alela Met) i s obzirom na polimorfizam C270T (homozigoti CC vs. nosioci alela T) gena *BDNF*. Naime, rezultati su pokazali da ta dva polimorfizma (polimorfizam Val66Met i polimorfizam C270T) nisu značajno povezani s brojem bodova na kognitivnoj domeni ljestvice PANSS kada se promatraju svi ispitanici zajedno i kada se u obzir uzme i dijagnoza ispitanika. Taj se nalaz slaže s rezultatima studije koja je uključila velik broj hrvatskih ispitanika i koja je pokazala da nema značajne povezanosti *BDNF* Val66Meta i kognicije kod hrvatskih ratnih veterana s PTSP-om (245).

Međutim, za razliku od ovih rezultata, postoji studija koja je utvrdila značajnu povezanost *BDNF* C270T-a i kognicije kod veterana sa PTSP-om (245). Naime, polimorfizam *BDNF* C270T bio je značajno povezan s padom kognitivnih sposobnosti mjerenih skalom PANSS-kognitivna domena i skalom ROCF kod svih testiranih veterana s PTSP-om (i pušača i nepušača) kao i kod kontrolne skupine ispitanika koji nisu bili pušači (245). To je bilo prvo istraživanje koje je otkrilo značajnu povezanost polimorfizma *BDNF* C270T s kognitivnim padom kod veterana s PTSP-om. Rezultati toga istraživanja pokazali su da je prisutnost jednoga ili dva T-alela *BDNF* C270T bila povezana s kognitivnim urušavanjem u PTSP-u. To se pokazalo u većem broju bodova na podskali za kogniciju PANSS skale koji pokazuju napredno kognitivno pogoršanje, i to se pogoršanje utvrdilo i kod pušača i kod nepušača s PTSP-om (245). Taj je nalaz potvrđen i nižim brojem bodova na skali neposrednoga opoziva kod ROCF skale, što upućuje na lošiju funkciju kratkotrajne vizualne memorije (245). Razlike u rezultatima mogu se opravdati razlikama u broju ispitanika jer je ta studija uključila 643 veterana s PTSP-om, a prema ovoj koja je uključila 120 veterana s PTSP-om koji su ispunili sve kognitivne skale. Suprotno rezultatima ovoga rada, s polimorfizmom *BDNF* C270T i kognicijom u svih ispitanika, kod ispitanika sa shizofrenijom nije pronađena značajna povezanost između T-nosioca i kognicije određene pomoću testova za slaganje karata (eng. *Wisconsin Card Sorting Test*) i testa pravljenja pogrešaka (eng. *The Trail Making Test*), (388).

U ovoj se studiji također očekivalo da će se utvrditi više nosioca Met alela u odnosu na nosioce G alela kod *BDNF* Val66Met polimorfizma te više nosioca T-alela u odnosu na nosioce C-alela kod *BDNF* C270T polimorfizma unutar kognitivno urušenih ispitanika s PTSP-om prema kognitivno normalnim ispitanicima s PTSP-om. Međutim, unutar istraživane skupine s PTSP-om nije se uspjelo pronaći značajna razlika u raspodjeli genotipova s obzirom

na BDNF Val66Met i C270T između ispitanika s PTSP-om koji su bili podijeljeni na one s ili bez kognitivnih oštećenja.

Već je istaknuto da različiti čimbenici iz okoline – poput tjelesne vježbe, dijete, kalorične restrikcije i razine estrogena – mogu utjecati na razinu BDNF-a, što je dodatni izazov za istraživanja koja povezuju BDNF s oštećenjem pamćenja povezanoga s dobi i hipokampalnom atrofijom. Uz to i određene genske varijante gena za *BDNF* mogu modulirati učinak tjelesnih vježbi na epizodnu memoriju i volumen mozga. Istraživanja pokazuju da samo Val homozigoti, s obzirom na Val66Met polimorfizam, imaju koristi od tjelesnih vježbi s većim volumenom medijalnoga temporalnog režnja i hipokampalne sive tvari, dok kod nosioca Met alela takav učinak nije pronađen (203).

Iako neke studije nisu mogle potvrditi povezanost između genotipa Val66Met i memorije (217, 218, 219), postoje i rezultati koji povezuju BDNCF polimorfizam i memoriju (171). Postoji mogućnost da su razlike između utjecaja gena *BDNF* tijekom života i nekontroliranih varijabli poput spola, stresa i fizičke aktivnosti, za koje je poznato da utječu na razine BDNF-a, kod određenih uzoraka dovele do ublažavanja toga utjecaja (171). Nadalje, nosioci Met alela mogli bi kompenzirati sniženu razinu BDNF-a (171). Različite studije upućuju na to da prisutnost Met alela može biti povezana s lošijim kognitivnim funkcijama, a osobito sa slabijim epizodnim pamćenjem (221). Međutim, zna se da se učinci bilo kojega polimorfizma, pa tako i polimorfizama vezanih za gen *BDNF* na složene procese kao što su kognicija, ne mogu svesti na presimplicifiranu ideju jednostavnoga „alela rizika“.

BDNF C270T polimorfizam prvi je puta opisan 2001. godine (222) te je evidentirana njegova značajna povezanost s Alzheimerovom bolesti (223). Alel C, s obzirom na C270T ili C270T, bio je povezan s boljom vizualnom kognitivnom obradom putem mehanizama koji su vjerojatno povezani s volumenom talamusa (224). Iako u metaanalizi nije potvrđeno da je BDNF C270T povezan s Alzheimerovom bolesti (225), bio je povezan s promijenjenom izvršnom funkcijom kod pacijenata s Alzheimerovom bolesti (179) i s redukcijom neurokognitivnih funkcija kod nositelja alela T, s obzirom na BDNF C270T (226).

Dakle, polimorfizmi *BDNF* gena istraživani su kod starijih i kod pacijenata s Alzheimerovom bolesti te je utvrđena njihova jasna povezanost s neurokognitivnim funkcijama, uključujući i pamćenje, no njihova točna uloga u kogniciji još nije u potpunosti razjašnjena.

U našoj smo studiji pokazali značajnu povezanost C270T polimorfizma s dijagnozom PTSP-a jer su nosioci T-alela bili češće prisutni u populaciji veterana s PTSP-om prema kontrolnim ispitanicima sparenim po dobi. Međutim, oba istraživana polimorfizma (Val66Met i C270T) nisu bila povezana s kognitivnim sposobnostima u izabranoj skupini veterana s PTSP-om ili zdravim kontrolnim ispitanicima.

U zaključku, *BDNF* je najčešći neurotrofni čimbenik u mozgu odraslih osoba s vrlo važnim neuromodulatornim ulogama, i to prvenstveno razvoju neurona, neurotransmisiji, neuroplastičnosti te radi toga značajno utječe na procese starenja i kognicije, ali i ponašanja (389). Podatci iz literature utvrdili su povezanost smanjenih *BDNF* koncentracija u SŽS-u i na periferiji s različitim neuropsihijatrijskim bolestima, upućujući na korištenje *BDNF*-a kao biomarkera tih poremećaja (389), dok je naše istraživanje proširilo ta saznanja s neuropsihijatrijskih i na stresom izazvane poremećaje te potvrdilo smanjenu koncentraciju *BDNF*-a u plazmi te veću prisutnost T-alela s obzirom na *BDNF* C270T kod ispitanika s PTSP-om. Studija je potvrdila kognitivno urušavanje kod ispitanika s PTSP-om, u skladu s nalazima da je inhibicija odgovora i selektivna pažnja oštećena u PTSP-u (390). Koncentracija *BDNF*-a u plazmi i polimorfizmi *BDNF* Val66Met i C270T nisu bili značajno povezani s kognitivnim padom unutar ispitanika s PTSP-om podijeljenih na one sa slabije i jače izraženim kognitivnim sposobnostima. Budući da je koncentracija *BDNF*-a u plazmi bila značajno smanjena u svih kognitivno urušenih ispitanika, ova studija nudi biomarkere kognitivnoga propadanja koji bi omogućili što ranije prepoznavanje kognitivnih deficita u okviru PTSP-a.

#### **4.8. Prednost i nedostaci studije**

##### **Nedostaci studije**

S obzirom da su u studiju uključeni samo ratni veterani s borbenim iskustvom muškoga spola, potrebne su i daljnja istraživanja povezanosti koncentracije *BDNF*-a i utjecaja na kogniciju

kod PTSP-a jer se dobiveni rezultati ne mogu primijeniti na ženski spol i civilni PTSP. Drugi nedostatak studije jest relativno manji broj veterana s PTSP-om koji su imali ispunjene sve mjerne instrumente za određivanje kognitivnih poremećaja (N = 120). Iako je analiza snage uputila na dostatan broj ispitanika, za buduća istraživanja treba povećati broj sparenih ispitanika prema dobi te bi povećanje skupina ispitanika s PTSP-om u budućim studijama moglo utvrditi značajnu povezanost koncentracije BDNF-a u plazmi ili BDNF Val66Met i C270T polimorfizama s kognitivnim propadanjem u PTSP-u. Također, ubuduće bi trebalo koristiti i druge kognitivne instrumente za određivanje kognitivnoga urušavanja.

### **Prednosti studije**

Ovo je prva studija koja je istražila povezanost koncentracije BDNF-a u plazmi i kognicije u PTSP-u i dio je tih rezultata nedavno objavljen (314). Kognitivne sposobnosti istražene su pomoću nekoliko mjernih instrumenata (MMSE, Test crtanja sata, MoCA i PANSS kognitivna domena). Prednost je da su svi ispitanici bili istoga spola, slične dobi i iste etničke pripadnosti kako bi se izuzeli potencijalni utjecaji spola, dobi i etniciteta na povezanost koncentracije BDNF-a u plazmi i kognicije te na povezanost BDNF Val66Met i C270T polimorfizama s kognitivnim propadanjem u PTSP-u.

## 7. ZAKLJUČAK

1. Koncentracija BDNF-a u plazmi značajno je snižena u ispitanika s PTSP-om prema koncentraciji BDNF-a u plazmi zdravih kontrolnih ispitanika.
2. Ispitanici s PTSP-om imaju značajno izraženije kognitivne smetnje u odnosu na zdrave kontrolne ispitanike. Korišteni kognitivni testovi (MMSE, Test crtanja sata, MoCA i kognitivna domena ljestvice PANSS) pokazuju poremećaj kognitivnih funkcija kod ispitanika s PTSP-om.
3. Nisu utvrđene značajne razlike u raspodjeli genotipova i alela BDNF Val66Met između zdravih ispitanika i ispitanika s PTSP-om, ti rezultati upućuju da polimorfizam Val66Met gena *BDNF* nije povezan s dijagnozom PTSP-a. No, raspodjela genotipova i alela s obzirom na polimorfizam C270T gena *BDNF* kod zdravih ispitanika i ispitanika s PTSP-om bila je značajno različita jer su ispitanici s PTSP-om bili značajno češće nosioci jednoga ili dva T-alela prema zdravim kontrolnim ispitanicima.
4. Izostala je značajna korelacija dobi s razinom kognitivnoga oštećenja.
5. Postoji značajna razlika u koncentraciji BDNF-a u plazmi između skupina podijeljenih prema razini kognitivnoga oštećenja procijenjenoga prema broju bodova na MMSE-u, MoCA-u i Testu crtanja sata kod svih ispitanika. Naime, pronađene su značajno niže koncentracije BDNF-a kod svih ispitanika s poremećajem kognitivnih funkcija u odnosu na vrijednosti kod ispitanika s normalnim kognitivnim funkcijama. Ti rezultati upućuju da osobe s višom koncentracijom proteina BDNF u plazmi imaju manje izražene kognitivne smetnje. Međutim, unutar ispitanika s PTSP-om nema promjena u koncentraciji BDNF-a između skupina podijeljenih prema razini kognitivnoga oštećenja.
6. Nema značajnoga utjecaja genotipova BDNF Val66Met i C270T na kogniciju određenu brojem bodova na testovima MMSE, Testu crtanja sata, MoCA, i kognitivnoj domeni ljestvice PANSS kod svih ispitanika zajedno, ili samo kod ispitanika s PTSP-om. Dakle, razina kognitivnoga oštećenja nije povezana s polimorfizmima Val66Met i C270T gena *BDNF*.

## 8. SAŽETAK

**CILJ:** Cilj istraživanja bio je istražiti povezanost moždanoga neurotrofnog čimbenika (BDNF-a) s dijagnozom posttraumatskoga stresnog poremećaja (PTSP-a) te s kognitivnim propadanjem koje se javlja kod PTSP-a, na temelju lako dostupnih biokemijskih (koncentracije BDNF-a u plazmi) i genetičkih (*BDNF* Val66Met i *BDNF* C270T genotipova) pokazatelja.

**NACRT STUDIJE:** Studija je opazajno presječna s kontrolom.

**ISPITANICI I METODE:** U istraživanje je uključeno ukupno 700 ispitanika muškoga spola koji su podijeljeni na zdrave kontrolne ispitanike (N = 350) i ispitanike s dijagnozom PTSP-a (N = 350) sparene po dobi. Ispitanicima je utvrđena dijagnoza PTSP-a prema DSM-5 i MKB-10 dijagnostičkim kriterijima te pomoću Kliničke ljestvice za PTSP. Ispitanici su također podijeljeni prema kognitivnim skalama na ispitanike s oštećenjem i ispitanike koji ne pokazuju oštećenje kognitivnih funkcija. Primijenjeni su instrumenti: Mini test procjene mentalnoga stanja, Test crtanja sata, Montrealska procjena kognitivnog stanja, i kognitivna domena Pozitivne i negativne sindromske skale. Izolacija DNA iz uzorka pune krvi izdvojena je metodom isoljavanja. Metodom lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu određeni su genotipovi s obzirom na polimorfizme Val66Met i C270T gena *BDNF* u 700 ispitanika. Koncentracija BDNF-a u plazmi određena je kod 120 zdravih kontrolnih ispitanika i 120 ispitanika s dijagnozom PTSP-a pomoću ELISA metode.

**REZULTATI:** Ispitanici s PTSP-om imaju značajno niže koncentracije BDNF-a u plazmi i različitu raspodjelu *BDNF* C270T genotipova (više T-alela) prema kontrolnim ispitanicima, dok je povezanost između polimorfizma Val66Met gena *BDNF* i PTSP-a izostala. Broj bodova na svim kognitivnim testovima upućuje na kognitivno propadanje kod ispitanika s PTSP-om u odnosu na zdrave ispitanike. Koncentracija BDNF-a u plazmi snižena je kod svih kognitivno oštećenih ispitanika. Broj bodova na kognitivnim testovima značajno korelira s koncentracijom BDNF-a u plazmi kod svih ispitanika. Nije pronađena povezanost polimorfizama gena *BDNF* Val66Met i C270T s kognitivnim propadanjem u ispitanika s

PTSP-om ili kontrolnih ispitanika. Rezultati upućuju da svi ispitanici s višom koncentracijom BDNF-a u plazmi imaju manje izražene kognitivne smetnje.

**ZAKLJUČAK:** Ovo je istraživanje ponudilo nove spoznaje u razumijevanju povezanosti BDNF-a i PTSP-a te kognitivnih poremećaja koji prate PTSP. Nova saznanja mogu ponuditi nove biomarkere, ali i mogućnost novih farmakoterapijskih pristupa.

**KLJUČNE RIJEČI:** posttraumatski stresni poremećaj, moždani neurotrofni čimbenik, kognicija, BDNF genotipovi



## 9. SUMMARY

**AIM:** The aim of the study was to evaluate the association between brain derived neurotrophic factor (BDNF) and diagnosis of PTSD, and with cognitive decline occurring in PTSD, based on the easy available biochemical (concentration of BDNF in plasma) and genetic (*BDNF* Val66Met and *BDNF* C270T genotypes) markers.

**DESIGN OF THE STUDY:** This was observational case/control study.

**PARTICIPANTS AND METHODS:** Study included a total of 700 male participants subdivided into healthy control subjects (N=350) and participants with diagnosis of PTSD (N=350), matched by age. Participants were diagnosed with PTSD according to the DSM-5 and MKB-10 diagnostic criteria, and based on the Clinician Administered PTSD Scale. Subjects were subdivided according to the cognitive scales into those with or without cognitive decline. Administered scales were: Mini Mental Test Examination, Clock Drawing test, Montreal Cognitive Assessment, and cognitive domain of the Positive and Negative Syndrome Scale. DNA was isolated from the peripheral blood samples using the salting out method. Real-time polymerase chain reaction was used to determine the *BDNF* Val66Met and C270T genotypes in 700 participants. The BDNF plasma concentration was determined with ELISA in 120 healthy control subjects and 120 participants with PTSD.

**RESULTS:** Participants with PTSD had significantly lower plasma BDNF concentration and significantly different frequency of the *BDNF* C270T genotypes (more T alleles) vs. control participants, while the association between the *BDNF* Val66Met polymorphism and PTSD was missing. The number of scores in all cognitive scales suggested cognitive deterioration in participants with PTSD vs. control subjects. Plasma BDNF concentration was decreased in all cognitively impaired participants. The number of scores in the cognitive tests was significantly correlated with plasma BDNF concentration in all participants. No association between *BDNF* Val66Met and/or *BDNF* C270T and cognitive decline was detected in participants with PTSD or control subjects. The results suggest that all participants with the higher plasma BDNF concentration had less pronounced cognitive disturbances.

**CONCLUSION:** This study offered novel insights in the understanding of the association between BDNF and PTSD, and cognitive disturbances that follow PTSD. New awareness might offer novel biomarkers but also possibilities of novel pharmacotherapeutic approaches.

**KEY WORDS:** posttraumatic stress disorder, derived neurotrophic factor, cognition, BDNF genotypes

## 10. LITERATURA

1. Kozarić-Kovačić D, Kocijan-Hercigonja D. Assessment of post-traumatic disorder and comorbidity. *Mil Med.* 2001;166:677–80.
2. Keane TM, Marshall AD, Taft CT. Posttraumatic stress disorder: etiology, epidemiology, and treatment outcome. *Annu Rev Clin Psychol.* 2006;2:161–97.
3. Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-4 disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry.* 2005;62:593–602.
4. Kozarić-Kovačić D. PTSD and comorbidity. U: Dekaris D, Sabioncello A, urednici. *New insight in post-traumatic stress disorder (PTSD).* Zagreb, Hrvatska: Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti; 1999. str. 53–6.
5. Kozarić-Kovačić D, Borovečki A. Malingering PTSD. U: Corrales TA, urednik. *Focus on post-traumatic stress disorder research.* Hauppauge, NY: Nova Science Publishers, Inc; 2004. str. 185–208.
6. Reeves RR. Diagnosis and management of posttraumatic stress disorder in returning veterans. *J Am Osteopath Assoc.* 2007;107:181–9.
7. Cozza SJ, Benedek DM, Bradley JC, Grieger TA, Nam TS, Waldrep DA. *Topics specific to the psychiatric treatment of military personnel.* 2. izd. USA: Iraq War Clinician Guide; 2004.
8. De Girolamo G, McFarlane AC. The epidemiology of PTSD: a comprehensive review of the international literature. U: Marsella AJ, Friedman MJ, Gerrity ET, Scurfield RM, urednici. *Ethnocultural Aspects of Posttraumatic Stress Disorder: Issues, Research, and Clinical Applications.* Washington, DC: Am. Psychol. Assoc.; 1996. str. 33–85.
9. De Girolamo G, McFarlane AC. The epidemiology of PTSD: a comprehensive review of the international literature. U: Marsella AJ, Friedman MJ, Gerrity ET, Scurfield RM, urednici. *Ethnocultural Aspects of Posttraumatic Stress Disorder: Issues, Research, and Clinical Applications.* Washington, DC: Am. Psychol. Assoc.; 1996. str. 33–85.
10. Gregurek R, Klain E, ur. *Posttraumatski stresni poremećaj.* Zagreb: Medicinska naklada; 2000.

11. American Psychiatry Association. Diagnostic and statistical manual of mental health disorders. 5. izd. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2013.
12. Pivac N. Theranostic approach to PTSD. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2019;92: 260–262.
13. Sherin JE, Nemeroff CB. Post-traumatic stress disorder: the neurobiological impact of psychological trauma. *Dialogues Clin Neurosci*. 2011;13(3):263–78.
14. Shvil E, Rusch HL, Sullivan GM, Neria Y. Neural, psychophysiological, and behavioral markers of fear processing in PTSD: a review of the literature. *Curr Psychiatry Rep*. 2013;15(5):358.
15. Kellner M, Baker DG, Yehuda R. Salivary cortisol and PTSD symptoms in Persian Gulf War combatants. *Ann NY Acad Sci*. 1997;821:442–3.
16. Maeng LY, Milad MR. Post-Traumatic Stress Disorder: The Relationship Between the Fear Response and Chronic Stress. *Chronic Stress (Thousand Oaks)*. 2017;1:2470547017713297.
17. Averill LA, Averill CL, Kelmendi B, Abdallah CG, Southwick SM. Stress Response Modulation Underlying the Psychobiology of Resilience. *Curr Psychiatry Rep*. 2018;20(4):27.
18. McEwen BS. Neurobiological and Systemic Effects of Chronic Stress. *Chronic Stress (Thousand Oaks)*. 2017;1:1–11.
19. Ozer EJ, Best SR, Lipsey TL, Weiss DS. Predictors of posttraumatic stress disorder and symptoms in adults: a meta-analysis. *Psychol Bull*. 2003;129(1):52–73.
20. Popoli M, Yan Z, McEwen BS, Sanacora G. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nat Rev Neurosci*. 2012;13:22–37.
21. Zoladz PR, Diamond DM. Current status on behavioral and biological markers of PTSD: a search for clarity in a conflicting literature. *Neurosci Biobehav Rev*. 2013;37:860–95.
22. Admon R, Milad MR, Hendler T. A causal model of post-traumatic stress disorder: disentangling predisposed from acquired neural abnormalities. *Trends Cogn Sci*. 2013;17:337–47.
23. Breslau N. Epidemiology of posttraumatic stress disorder in adults. *The Oxford Handbook of Traumatic Stress Disorders*. New York: Oxford University Press; 2012. str. 84–97.

24. Bogic M, Njoku A, Priebe S. Long-term mental health of war-refugees: a systematic literature review. *BMC Int Health Hum Rights*. 2015;15:29.
25. Kuch K, Cox BJ. Symptoms of PTSD in 124 survivors of the Holocaust. *Am J Psychiatry*. 1992;149(3):337–40.
26. Abdallah CG, Averill LA, Akiki TJ, Raza M, Averill CL, Gomaa H, i sur. The Neurobiology and Pharmacotherapy of Posttraumatic Stress Disorder. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2019;59:171–189.
27. Russo SJ, Nestler EJ. The brain reward circuitry in mood disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2013 Sep;14(9):609–25.
28. Abdallah CG, Sanacora G, Duman RS, Krystal JH. The neurobiology of depression, ketamine and rapid-acting antidepressants: Is it glutamate inhibition or activation? *Pharmacol Ther*. 2018;190:148–158.
29. Li SX, Han Y, Xu LZ, Yuan K, Zhang RX, Sun CY, i sur. Uncoupling DAPK1 from NMDA receptor GluN2B subunit exerts rapid antidepressant-like effects. *Mol Psychiatry*. 2018;23(3):597–608.
30. Duman RS, Aghajanian GK, Sanacora G, Krystal JH. Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants. *Nat Med*. 2016;22:238–49.
31. Shin LM, Rauch SL, Pitman RK. Amygdala, medial prefrontal cortex, and hippocampal function in PTSD. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1071:67–79.
32. Lakshminarasimhan H, Chattarji S. Stress leads to contrasting effects on the levels of brain derived neurotrophic factor in the hippocampus and amygdala. *PLoS One*. 2012;7(1):e30481.
33. Mitra R, Jadhav S, McEwen BS, Vyas A, Chattarji S. Stress duration modulates the spatiotemporal patterns of spine formation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(26):9371–6.
34. Mitra R, Sapolsky RM. Acute corticosterone treatment is sufficient to induce anxiety and amygdaloid dendritic hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:5573–8.
35. Radley JJ, Rocher AB, Janssen WG, Hof PR, McEwen BS, Morrison JH. Reversibility of apical dendritic retraction in the rat medial prefrontal cortex following repeated stress. *Exp Neurol*. 2005;196:199–203.

36. Vyas A, Pillai AG, Chattarji S. Recovery after chronic stress fails to reverse amygdaloid neuronal hypertrophy and enhanced anxiety-like behavior. *Neuroscience*. 2004;128:667–73.
37. Coplan JD, Lu D, El Sehamy AM, Tang C, Jackowski AP, i sur. Early Life Stress Associated with Increased Striatal N-acetylaspartate (NAA): Cerebrospinal Fluid (CSF) Corticotropin-Releasing Factor (CRF) Concentrations, Hippocampal Volume, Body Mass and Behavioral Correlates. *Chronic Stress*. 2018;2:15–1.
38. Andreasen NC. What is post-traumatic stress disorder? *Dialogues Clin Neurosci*. 2011;13(3):240–3.
39. Nutt DJ, Malizia AL. Structural and functional brain changes in posttraumatic stress disorder. *J Clin Psychiatry*. 2004;65(1):11–7.
40. Abdallah CG, Jackowski A, Salas R, Gupta S, Sato JR, i sur. The Nucleus Accumbens and Ketamine Treatment in Major Depressive Disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2017;42(8):1739–1746.
41. Abdallah CG, Jackowski A, Sato JR, Mao X, Kang G, i sur. Prefrontal cortical GABA abnormalities are associated with reduced hippocampal volume in major depressive disorder. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2015;25(8):1082–90.
42. Flandreau EI, Toth M. Animal Models of PTSD: A Critical Review. *Curr Top Behav Neurosci*. 2018;38:47–68.
43. Shalev AY, Freedman S, Peri T, Brandes D, Sahar T, i sur. Prospective study of posttraumatic stress disorder and depression following trauma. *Am J Psychiatry*. 1998;155:630–7.
44. Wrocklage KM, Averill LA, Cobb Scott J, Averill CL, Schweinsburg B, i sur. Cortical thickness reduction in combat exposed U.S. veterans with and without PTSD. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2017;27:515–25.
45. Abdallah CG, Averill LA, Krystal JH, Southwick SM, Arnsten AF. Glutamate and norepinephrine interaction: Relevance to higher cognitive operations and psychopathology. *Behav Brain Sci*. 2016;39:e201.
46. Admon R, Lubin G, Stern O, Rosenberg K, Sela L, i sur. Human vulnerability to stress depends on amygdala’s predisposition and hippocampal plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:14120–5.

47. Akiki TJ, Averill CL, Abdallah CG. A Network-Based Neurobiological Model of PTSD: Evidence From Structural and Functional Neuroimaging Studies. *Curr Psychiatry Rep.* 2017;19:81.
48. Menon V. Large-scale brain networks and psychopathology: a unifying triple network model. *Trends Cogn Sci.* 2011;15:483–506.
49. Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL. The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1124:1–38.
50. Akiki TJ, Averill CL, Wrocklage KM, Scott JC, Averill LA, i sur. Default mode network abnormalities in posttraumatic stress disorder: A novel network-restricted topology approach. *Neuroimage.* 2018;176:489–98.
51. Goulden N, Khusnulina A, Davis NJ, Bracewell RM, Bokde AL, i sur. The salience network is responsible for switching between the default mode network and the central executive network: replication from DCM. *Neuroimage.* 2014;99:180–90.
52. Brown VM, LaBar KS, Haswell CC, Gold AL, Mid-Atlantic MW, i sur. Altered resting-state functional connectivity of basolateral and centromedial amygdala complexes in posttraumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2014;39:351–9.
53. Gard T, Hölzel BK, Lazar SW. The potential effects of meditation on age-related cognitive decline: a systematic review. *Ann N Y Acad Sci.* 2014; 1307:89–103.
54. Weiser MJ, Butt CM, Mohajeri MH. Docosahexaenoic Acid and Cognition throughout the Lifespan. *Nutrients.* 2016;8(2):99.
55. Tyng CM, Amin HU, Saad MNM, Malik AS. The Influences of Emotion on Learning and Memory. *Front Psychol.* 2017;8:1454.
56. Vuilleumier P. How brains beware: neural mechanisms of emotional attention. *Trends Cogn. Sci.* 2005;9:585–594.
57. Um E, Plass JL, Hayward EO, Homer BD. Emotional design in multimedia learning. *J. Educ. Psychol.* 2012;104:485–498.
58. Jung N, Wranke C, Hamburger K, Knauff M. How emotions affect logical reasoning: evidence from experiments with mood-manipulated participants, spider phobics, and people with exam anxiety. *Front Psychol.* 2014;5:570.
59. Isen AM, Daubman KA, Nowicki GP. Positive affect facilitates creative problem solving. *J Pers Soc Psychol.* 1987;52(6):1122–31.

60. Schupp HT, Stockburger J, Codispoti M, Junghöfer M, Weike AI, i sur. Selective visual attention to emotion. *J Neurosci.* 2007;27(5):1082–9.
61. Kensinger, EA. Negative emotion enhances memory accuracy: Behavioral and neuroimaging evidence. *Curr.Dir.Psychol.Sci.* 2007;16(4):213–218.
62. Paunovi N, Lundh LG, Ost LG. Attentional and memory bias for emotional information in crime victims with acute posttraumatic stress disorder (PTSD). *J Anxiety Disord.* 2002;16(6):675–92.
63. Acuna-Vargas S, Thibaut F. Cognition in psychiatry. *Dialogues Clin Neurosci.* 2019;21(3):223–224.
64. Kuhn M, Popovic A, Pezawas L. Neuroplasticity and memory formation in major depressive disorder: an imaging genetics perspective on serotonin and BDNF. *Restor Neurol Neurosci.* 2014;32(1):25–49.
65. McGaugh JL. Memory--a century of consolidation. *Science.* 2000;287(5451):248-51.
66. Davis M, Whalen PJ. The amygdala: vigilance and emotion. *Mol Psychiatry.* 2001 Jan;6(1):13–34.
67. Jones JL, Esber GR, McDannald MA, Gruber AJ, Hernandez A, i sur. Orbitofrontal cortex supports behavior and learning using inferred but not cached values. *Science.* 2012;338(6109):953–6.
68. Sheth SA, Mian MK, Patel SR, Asaad WF, Williams ZM, i sur. Human dorsal anterior cingulate cortex neurons mediate ongoing behavioural adaptation. *Nature.* 2012;488(7410):218–21.
69. Price JL, Drevets WC. Neural circuits underlying the pathophysiology of mood disorders. *Trends Cogn Sci.* 2012;16(1):61–71.
70. Arnsten AF, Raskind MA, Taylor FB, Connor DF. The Effects of Stress Exposure on Prefrontal Cortex: Translating Basic Research into Successful Treatments for Post-Traumatic Stress Disorder. *Neurobiol Stress.* 2015;1:89–99.
71. Shalev A, Liberzon I, Marmar C. Post-Traumatic Stress Disorder. *N Engl J Med.* 2017 Jun 22;376(25):2459–2469.
72. Steiger F, Nees F, Wicking M, Lang S, Flor H. Behavioral and central correlates of contextual fear learning and contextual modulation of cued fear in posttraumatic stress disorder. *Int J Psychophysiol.* 2015;98(3 Pt 2):584–93.



73. Scott JC, Matt GE, Wrocklage KM, Crnich C, Jordan J, Southwick SM, i sur. A quantitative meta-analysis of neurocognitive functioning in posttraumatic stress disorder. *Psychol Bull.* 2015;141(1):105–140.
74. Qureshi SU, Long ME, Bradshaw MR, Pyne JM, Magruder KM, i sur. Does PTSD impair cognition beyond the effect of trauma? *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2011 Winter;23(1):16–28.
75. Hofmann SG. Cognitive processes during fear acquisition and extinction in animals and humans: implications for exposure therapy of anxiety disorders. *Clin Psychol Rev.* 2008;28(2):199–210.
76. Selemón LD, Young KA, Cruz DA, Williamson DE. Frontal Lobe Circuitry in Posttraumatic Stress Disorder. *Chronic Stress (Thousand Oaks).* 2019;3:1–17.
77. Jergović M, Bendelja K, Savić Mlakar A, Vojvoda V, Aberle N, i sur. Circulating levels of hormones, lipids, and immune mediators in post-traumatic stress disorder - a 3-month follow-up study. *Front Psychiatry.* 2015;6:49.
78. Lee CH, Giuliani F. The Role of Inflammation in Depression and Fatigue. *Front Immunol.* 2019;10:1696.
79. Passos IC, Vasconcelos-Moreno MP, Costa LG, Kunz M, Brietzke E, i sur. Inflammatory markers in post-traumatic stress disorder: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Lancet Psychiatry.* 2015;2(11):1002–12.
80. Roozendaal B, McEwen BS, Chattarji S. Stress, memory and the amygdala. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10(6):423–33.
81. Linnman C, Zeffiro TA, Pitman RK, Milad MR. An fMRI study of unconditioned responses in post-traumatic stress disorder. *Biol Mood Anxiety Disord.* 2011;1(1):8.
82. Stein MB, Jain S, Giacino JT, Levin H, Dikmen S, i sur. Risk of Posttraumatic Stress Disorder and Major Depression in Civilian Patients After Mild Traumatic Brain Injury: A TRACK-TBI Study. *JAMA Psychiatry.* 2019;76(3):249–258.
83. Akiki TJ, Averill CL, Wrocklage KM, Schweinsburg B, Scott JC, i sur. The Association of PTSD Symptom Severity with Localized Hippocampus and Amygdala Abnormalities. *Chronic Stress (Thousand Oaks).* 2017;1:1–10.
84. Davidson RJ, Irwin W. The functional neuroanatomy of emotion and affective style. 1999;3(1):11–21.
85. Young L, Bechara A, Tranel D, Damasio H, Hauser M, i sur. Damage to ventromedial prefrontal cortex impairs judgment of harmful intent. *Neuron.* 2010;65(6):845–851.

86. Kühn S, Gallinat J. Gray matter correlates of posttraumatic stress disorder: a quantitative meta-analysis. *Biol Psychiatry*. 2013;73(1):70–4.
87. Milad MR, Pitman RK, Ellis CB, Gold AL, Shin LM, i sur. Neurobiological basis of failure to recall extinction memory in posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*. 2009;66(12):1075–82.
88. Rougemont-Bucking A, Linnman C, Zeffiro TA, Zeidan MA, Lebron-Milad K, i sur. Altered processing of contextual information during fear extinction in PTSD: An fMRI study. *CNS Neurosci Ther*. 2011;17(4):227–36.
89. Quinones MM, Gallegos AM, Lin FV, Heffner K. Dysregulation of inflammation, neurobiology, and cognitive function in PTSD: an integrative review. *Cogn Affect Behav Neurosci*. 2020;20(3):455–480.
90. Hughes KC, Shin LM. Functional neuroimaging studies of post-traumatic stress disorder. *Expert Rev Neurother*. 2011;11(2):275–85.
91. Fani N, Jovanovic T, Ely TD, Bradley B, Gutman D, i sur. Neural correlates of attention bias to threat in post-traumatic stress disorder. *Biol Psychol*. 2012;90(2):134–42.
92. Bromis K, Calem M, Reinders AATS, Williams SCR, Kempton MJ. Meta-Analysis of 89 Structural MRI Studies in Posttraumatic Stress Disorder and Comparison With Major Depressive Disorder. *Am J Psychiatry*. 2018;175(10):989–998.
93. Shin LM, Bush G, Milad MR, Lasko NB, Brohawn KH, Hughes KC, i sur.. Exaggerated activation of dorsal anterior cingulate cortex during cognitive interference: a monozygotic twin study of posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry*. 2011;168(9):979–85.
94. Judaš M, Kostović I. *Temelji neuroznanosti*. 1. izd. Zagreb, Hrvatska: MD; 1997.
95. Yehuda R. Post-traumatic stress disorder. *N Engl J Med*. 2002;346(2):108–14.
96. Acheson DT, Gresack JE, Risbrough VB. Hippocampal dysfunction effects on context memory: possible etiology for posttraumatic stress disorder. *Neuropharmacology*. 2012;62(2):674–85.
97. Bremner JD, Elzinga B, Schmahl C, Vermetten E. Structural and functional plasticity of the human brain in posttraumatic stress disorder. *Prog Brain Res*. 2008;167:171–86.
98. Zhang J, Tan Q, Yin H, Zhang X, Huan Y, i sur. Decreased gray matter volume in the left hippocampus and bilateral calcarine cortex in coal mine flood disaster survivors with recent onset PTSD. *Psychiatry Res*. 2011;192(2):84–90.

99. Logue MW, van Rooij SJH, Dennis EL, Davis SL, Hayes JP, i sur. Smaller Hippocampal Volume in Posttraumatic Stress Disorder: A Multisite ENIGMA-PGC Study: Subcortical Volumetry Results From Posttraumatic Stress Disorder Consortia. *Biol Psychiatry*. 2018;83(3):244–253.
100. Rubin M, Shvil E, Papini S, Chhetry BT, Helpman L, i sur. Greater hippocampal volume is associated with PTSD treatment response. *Psychiatry Res Neuroimaging*. 2016;252:36–39.
101. VanElzakker MB, Dahlgren MK, Davis FC, Dubois S, Shin LM. From Pavlov to PTSD: The extinction of conditioned fear in rodents, humans, and in anxiety disorders. *Neurobiol Learn Mem*. 2014;113:3–18.
102. Phelps EA, Delgado MR, Nearing KI, LeDoux JE. Extinction learning in humans: role of the amygdala and vmPFC. *Neuron*. 2004;16;43(6):897–905.
103. Hayes J, Hayes SM, Mikedis AM. Quantitative metaanalysis of neural activity in posttraumatic stress disorder. *Biol Mood Anxiety Disord*. 2012;9:1–13.
104. Stevens JS, Jovanovic T, Fani N, Ely TD, Glover EM, Bradley B, i sur. Disrupted amygdala-prefrontal functional connectivity in civilian women with posttraumatic stress disorder. *J Psychiatr Res*. 2013;47(10):1469–78.
105. Linnman C, Zeidan MA, Furtak SC, Pitman RK, Quirk GJ, Milad MR. Resting amygdala and medial prefrontal metabolism predicts functional activation of the fear extinction circuit. *Am J Psychiatry*. 2012;169(4):415–23.
106. Sadeh N, Spielberg JM, Warren SL, Miller GA, Heller W. Aberrant Neural Connectivity during Emotional Processing Associated with Posttraumatic Stress. *Clin Psychol Sci*. 2014;2(6):748–755.
107. Baeuchl C, Meyer P, Hoppstädter M, Diener C, Flor H. Contextual fear conditioning in humans using feature-identical contexts. *Neurobiol Learn Mem*. 2015;121:1–11.
108. Garfinkel SN, Abelson JL, King AP, Sripada RK, Wang X, Gaines LM, i sur. Impaired contextual modulation of memories in PTSD: an fMRI and psychophysiological study of extinction retention and fear renewal. *J Neurosci*. 2014;34(40):13435–43.
109. Sheynin J, Liberzon I. Circuit dysregulation and circuit-based treatments in posttraumatic stress disorder. *Neurosci Lett*. 2017;649:133–138.

110. Hayes JP, Vanelzakker MB, Shin LM. Emotion and cognition interactions in PTSD: a review of neurocognitive and neuroimaging studies. *Front Integr Neurosci.* 2012;6:89.
111. Latack JA, Moyer A, Simon VA, Davila J. Attentional Bias for Sexual Threat Among Sexual Victimization Survivors: A Meta-Analytic Review. *Trauma Violence Abuse.* 2017;18(2):172–184.
112. Sumner JA, Hagan K, Grodstein F, Roberts AL, Harel B, Koenen KC. Posttraumatic stress disorder symptoms and cognitive function in a large cohort of middle-aged women. *Depress Anxiety.* 2017;34(4):356–366.
113. Walker KA, Gottesman RF, Wu A, Knopman DS, Gross AL, Mosley TH Jr, et al. Systemic inflammation during midlife and cognitive change over 20 years: The ARIC Study. *Neurology.* 2019;92(11):e1256-e1267.
114. Charlton RA, Lamar M, Zhang A, Ren X, Ajilore O, Pandey GN, et al. Associations between pro-inflammatory cytokines, learning, and memory in late-life depression and healthy aging. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2018;33(1):104–112.
115. Yirmiya R, Goshen I. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain Behav Immun.* 2011;25(2):181–213.
116. Lisboa SF, Niraula A, Resstel LB, Guimaraes FS, Godbout JP, Sheridan JF. Repeated social defeat-induced neuroinflammation, anxiety-like behavior and resistance to fear extinction were attenuated by the cannabinoid receptor agonist WIN55,212-2. *Neuropsychopharmacology.* 2018;43(9):1924–1933.
117. Imai R, Hori H, Itoh M, Lin M, Niwa M, Ino K, et al. Inflammatory markers and their possible effects on cognitive function in women with posttraumatic stress disorder. *J Psychiatr Res.* 2018;102:192–200.
118. Aupperle RL, Melrose AJ, Stein MB, Paulus MP. Executive function and PTSD: disengaging from trauma. *Neuropharmacology.* 2012;62(2):686–94.
119. Beydoun MA, Weiss J, Obhi HK, Beydoun HA, Dore GA, Liang H, et al. Cytokines are associated with longitudinal changes in cognitive performance among urban adults. *Brain Behav Immun.* 2019;80:474–487.
120. Dutra SJ, Marx BP, McGlinchey R, DeGutis J, Esterman M. Reward Ameliorates Posttraumatic Stress Disorder-Related Impairment in Sustained Attention. *Chronic Stress (Thousand Oaks).* 2018;2:2470547018812400.

121. Vasterling JJ, Duke LM, Brailey K, Constans JI, Allain AN Jr, Sutker PB. Attention, learning, and memory performances and intellectual resources in Vietnam veterans: PTSD and no disorder comparisons. *Neuropsychology*. 2002;16(1):5–14.
122. Esterman M, DeGutis J, Mercado R, Rosenblatt A, Vasterling JJ, Milberg W, i sur. Stress-related psychological symptoms are associated with increased attentional capture by visually salient distractors. *J Int Neuropsychol Soc*. 2013;19(7):835–40.
123. Brownlow JA, Brown TS, Mellman TA. Relationships of posttraumatic stress symptoms and sleep measures to cognitive performance in young-adult African Americans. *J Trauma Stress*. 2014;27(2):217–23.
124. Ashley V, Honzel N, Larsen J, Justus T, Swick D. Attentional bias for trauma-related words: exaggerated emotional Stroop effect in Afghanistan and Iraq war veterans with PTSD. *BMC Psychiatry*. 2013;13:86.
125. Combs HL, Berry DT, Pape T, Babcock-Parziale J, Smith B, Schleenbaker R, i sur. The Effects of Mild Traumatic Brain Injury, Post-Traumatic Stress Disorder, and Combined Mild Traumatic Brain Injury/Post-Traumatic Stress Disorder on Returning Veterans. *J Neurotrauma*. 2015;32(13):956–66.
126. Twamley EW, Allard CB, Thorp SR, Norman SB, Hami Cissell S, Hughes Berardi K, i sur. Cognitive impairment and functioning in PTSD related to intimate partner violence. *J Int Neuropsychol Soc*. 2009;15(6):879–87.
127. DePrince AP, Freyd JJ. Forgetting trauma stimuli. *Psychol Sci*. 2004;15(7):488–92.
128. Bryant RA, Felmingham KL, Kemp AH, Barton M, Peduto AS, Rennie C, i sur. Neural networks of information processing in posttraumatic stress disorder: a functional magnetic resonance imaging study. *Biol Psychiatry*. 2005;58(2):111–8.
129. Zhu H, Li Y, Yuan M, Ren Z, Yuan C, Meng Y, i sur. Increased functional segregation of brain network associated with symptomatology and sustained attention in chronic post-traumatic stress disorder. *J Affect Disord*. 2019;247:183–191.
130. Leong YC, Radulescu A, Daniel R, DeWoskin V, Niv Y. Dynamic Interaction between Reinforcement Learning and Attention in Multidimensional Environments. *Neuron*. 2017;93(2):451–463.
131. Polak AR, Witteveen AB, Reitsma JB, Olf M. The role of executive function in posttraumatic stress disorder: a systematic review. *J Affect Disord*. 2012;141(1):11–21.

132. Hart J Jr, Kimbrell T, Fauver P, Cherry BJ, Pitcock J, Booe LQ, i sur. Cognitive dysfunctions associated with PTSD: evidence from World War II prisoners of war. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2008;20(3):309–16.
133. Blanchette I, Rutembesa E, Habimana E, Caparos S. Long-term cognitive correlates of exposure to trauma: Evidence from Rwanda. *Psychol Trauma.* 2019;11(2):147–155.
134. Eren-Koçak E, Kiliç C, Aydın I, Hizli FG. Memory and prefrontal functions in earthquake survivors: differences between current and past post-traumatic stress disorder patients. *Acta Psychiatr Scand.* 2009;119(1):35–44.
135. Jurick SM, Crocker LD, Sanderson-Cimino M, Keller AV, Trenova LS, Boyd BL, i sur. Contributions to Executive Dysfunction in Operation Enduring Freedom/Operation Iraqi Freedom Veterans With Posttraumatic Stress Disorder and History of Mild Traumatic Brain Injury. *J Head Trauma Rehabil.* 2018;33(2):E41-E52.
136. Peters AT, Ren X, Bessette KL, Goldstein BI, West AE, Langenecker SA, i sur. Interplay between pro-inflammatory cytokines, childhood trauma, and executive function in depressed adolescents. *J Psychiatr Res.* 2019;114:1–10.
137. Baune BT, Malhi GS, Morris G, Outhred T, Hamilton A, Das P, i sur. Cognition in depression: Can we THINK-it better? *J Affect Disord.* 2018;225:559–562.
138. Park SM, Choi JS, Lee JS, Lee JY, Lee S, Jung HY. Impaired Executive Functioning of Sexual Assault Survivors with Acute Stress Disorder. *J Clin Med.* 2018;7(10):362.
139. Stein MB, Kennedy CM, Twamley EW. Neuropsychological function in female victims of intimate partner violence with and without posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry.* 2002;52(11):1079–88.
140. Clausen AN, Francisco AJ, Thelen J, Bruce J, Martin LE, McDowd J, i sur. PTSD and cognitive symptoms relate to inhibition-related prefrontal activation and functional connectivity. *Depress Anxiety.* 2017;34(5):427–436.
141. Swick D, Honzel N, Larsen J, Ashley V, Justus T. Impaired response inhibition in veterans with post-traumatic stress disorder and mild traumatic brain injury. *J Int Neuropsychol Soc.* 2012;18(5):917–26.

142. Swick D, Honzel N, Larsen J, Ashley V. Increased response variability as a marker of executive dysfunction in veterans with post-traumatic stress disorder. *Neuropsychologia*. 2013;51(14):3033–40.
143. Jak AJ, Aupperle R, Rodgers CS, Lang AJ, Schiehser DM, Norman SB, i sur. Evaluation of a hybrid treatment for Veterans with comorbid traumatic brain injury and posttraumatic stress disorder: Study protocol for a randomized controlled trial. *Contemp Clin Trials*. 2015;45(Pt B):210–216.
144. Pimontel MA, Rindskopf D, Rutherford BR, Brown PJ, Roose SP, Sneed JR. A Meta-Analysis of Executive Dysfunction and Antidepressant Treatment Response in Late-Life Depression. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2016;24(1):31–41.
145. Pimontel MA, Culang-Reinlieb ME, Morimoto SS, Sneed JR. Executive dysfunction and treatment response in late-life depression. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2012;27(9):893–9.
146. Gałecki P, Mossakowska-Wójcik J, Talarowska M. The anti-inflammatory mechanism of antidepressants - SSRIs, SNRIs. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2018;80(Pt C):291–294.
147. Donzis EJ, Tronson NC. Modulation of learning and memory by cytokines: signaling mechanisms and long term consequences. *Neurobiol Learn Mem*. 2014;115:68–77.
148. Wolf OT. The influence of stress hormones on emotional memory: relevance for psychopathology. *Acta Psychol (Amst)*. 2008;127(3):513–31.
149. Golier JA, Harvey PD, Legge J, Yehuda R. Memory performance in older trauma survivors: implications for the longitudinal course of PTSD. *Ann N Y Acad Sci*. 2006 Jul;1071:54–66.
150. Zlomuzica A, Woud ML, Machulska A, Kleimt K, Dietrich L, Wolf OT, i sur. Deficits in episodic memory and mental time travel in patients with post-traumatic stress disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2018;83:42–54.
151. Sierk A, Manthey A, King J, Brewin CR, Bisby JA, Walter H, i sur. Allocentric spatial memory performance predicts intrusive memory severity in posttraumatic stress disorder. *Neurobiol Learn Mem*. 2019;166:107093.
152. Dalgleish T, Rolfe J, Golden AM, Dunn BD, Barnard PJ. Reduced autobiographical memory specificity and posttraumatic stress: exploring the

- contributions of impaired executive control and affect regulation. *J Abnorm Psychol.* 2008;117(1):236–41.
153. Wild J, Gur RC. Verbal memory and treatment response in post-traumatic stress disorder. *Br J Psychiatry.* 2008;193(3):254–5.
154. Cohen BE, Neylan TC, Yaffe K, Samuelson KW, Li Y, Barnes DE. Posttraumatic stress disorder and cognitive function: findings from the mind your heart study. *J Clin Psychiatry.* 2013;74(11):1063–70.
155. Lagarde G, Doyon J, Brunet A. Memory and executive dysfunctions associated with acute posttraumatic stress disorder. *Psychiatry Res.* 2010;177(1-2):144–9.
156. Sampath D, Sathyanesan M, Newton SS. Cognitive dysfunction in major depression and Alzheimer's disease is associated with hippocampal-prefrontal cortex dysconnectivity. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2017;13:1509–1519.
157. Yehuda R, Golier JA, Tischler L, Stavitsky K, Harvey PD. Learning and memory in aging combat veterans with PTSD. *J Clin Exp Neuropsychol.* 2005;27(4):504–15.
158. Burriss L, Ayers E, Ginsberg J, Powell DA. Learning and memory impairment in PTSD: relationship to depression. *Depress Anxiety.* 2008;25(2):149–57.
159. Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors.* 2004;22(3):123–31.
160. Kuhn M, Popovic A, Pezawas L. Neuroplasticity and memory formation in major depressive disorder: an imaging genetics perspective on serotonin and BDNF. *Restor Neurol Neurosci.* 2014;32(1):25–49.
161. Chen WG, West AE, Tao X, Corfas G, Szentirmay MN, Sawadogo M, et al. Upstream stimulatory factors are mediators of Ca<sup>2+</sup>-responsive transcription in neurons. *J Neurosci.* 2003;23(7):2572–81.
162. Timmusk T, Palm K, Metsis M, Reintam T, Paalme V, Saarma M, et al. Multiple promoters direct tissue-specific expression of the rat BDNF gene. *Neuron.* 1993;10(3):475–89.
163. Liu QR, Walther D, Drgon T, Polesskaya O, Lesnick TG, Strain KJ, et al. Human brain derived neurotrophic factor (BDNF) genes, splicing patterns, and assessments of associations with substance abuse and Parkinson's Disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2005;134B(1):93–103.



164. Hayes VY, Towner MD, Isackson PJ. Organization, sequence and functional analysis of a mouse BDNF promoter. *Brain Res Mol Brain Res.* 1997;45(2):189–98.
165. Lessmann V, Gottmann K, Malcangio M. Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Prog Neurobiol.* 2003;69(5):341–74.
166. Mowla SJ, Farhadi HF, Pareek S, Atwal JK, Morris SJ, Seidah NG, i sur. Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. *J Biol Chem.* 2001;276(16):12660–6.
167. Zagrebelsky M, Holz A, Dechant G, Barde YA, Bonhoeffer T, Korte M. The p75 neurotrophin receptor negatively modulates dendrite complexity and spine density in hippocampal neurons. *J Neurosci.* 2005;25(43):9989–99.
168. Pruunsild P, Kazantseva A, Aid T, Palm K, Timmusk T. Dissecting the human BDNF locus: bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. *Genomics.* 2007;90(3):397–406.
169. Gabriele B, Enrico T. BDNF splice variants from the second promoter cluster support cell survival of differentiated neuroblastoma upon cytotoxic stress. *J Cell Sci.* 2009;122(Pt 1):36–43.
170. Tudor L, Konjevod M, Nikolac Perkovic M, Svob Strac D, Nedic Erjavec G, Uzun S, i sur. Genetic Variants of the Brain-Derived Neurotrophic Factor and Metabolic Indices in Veterans With Posttraumatic Stress Disorder. *Front Psychiatry.* 2018;9:637.
171. Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, i sur. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell.* 2003;112(2):257–69.
172. Chen ZY, Patel PD, Sant G, Meng CX, Teng KK, Hempstead BL, i sur. Variant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wild-type BDNF in neurosecretory cells and cortical neurons. *J Neurosci.* 2004;24(18):4401–11.
173. Pivac N, Kim B, Nedić G, Joo YH, Kozarić-Kovacic D, Hong JP, i sur. Ethnic differences in brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism in Croatian and Korean healthy participants. *Croat Med J.* 2009;50(1):43–8.
174. Momose Y, Murata M, Kobayashi K, Tachikawa M, Nakabayashi Y, Kanazawa I, i sur. Association studies of multiple candidate genes for Parkinson's disease using single nucleotide polymorphisms. *Ann Neurol.* 2002;51(1):133–6.

175. Ventriglia M, Bocchio Chiavetto L, Benussi L, Binetti G, Zanetti O, Riva MA, Gennarelli M. Association between the BDNF 196 A/G polymorphism and sporadic Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry*. 2002;7(2):136–7.
176. Notaras M, Hill R, van den Buuse M. The BDNF gene Val66Met polymorphism as a modifier of psychiatric disorder susceptibility: progress and controversy. *Mol Psychiatry*. 2015;20(8):916–30.
177. Tsai SJ. Critical Issues in *BDNF* Val66Met Genetic Studies of Neuropsychiatric Disorders. *Front Mol Neurosci*. 2018;11:156.
178. Xu L, Tian D, Li J, Chen L, Tang L, Fan D. The Analysis of Two BDNF Polymorphisms G196A/C270T in Chinese Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Front Aging Neurosci*. 2017;9:135.
179. Nagata T, Shinagawa S, Nukariya K, Ochiai Y, Kawamura S, Agawa-Ohta M, i sur. Association between brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene polymorphisms and executive function in Japanese patients with Alzheimer's disease. *Psychogeriatrics*. 2011;11(3):141–9.
180. Pezawas L, Verchinski BA, Mattay VS, Callicott JH, Kolachana BS, Straub RE, i sur. The brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and variation in human cortical morphology. *J Neurosci*. 2004;24(45):10099–102.
181. Murray PS, Holmes PV. An overview of brain-derived neurotrophic factor and implications for excitotoxic vulnerability in the hippocampus. *Int J Pept*. 2011;2011:654085.
182. Lin SY, Wu K, Levine ES, Mount HT, Suen PC, Black IB. BDNF acutely increases tyrosine phosphorylation of the NMDA receptor subunit 2B in cortical and hippocampal postsynaptic densities. *Brain Res Mol Brain Res*. 1998;55(1):20–7.
183. Schinder AF, Poo M. The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity. *Trends Neurosci*. 2000;23(12):639–45.
184. Tanaka J, Horiike Y, Matsuzaki M, Miyazaki T, Ellis-Davies GC, Kasai H. Protein synthesis and neurotrophin-dependent structural plasticity of single dendritic spines. *Science*. 2008;319(5870):1683–7.
185. Bramham CR, Messaoudi E. BDNF function in adult synaptic plasticity: the synaptic consolidation hypothesis. *Prog Neurobiol*. 2005;76(2):99–125.

186. Rex CS, Lin CY, Kramár EA, Chen LY, Gall CM, Lynch G. Brain-derived neurotrophic factor promotes long-term potentiation-related cytoskeletal changes in adult hippocampus. *J Neurosci.* 2007;27(11):3017–29.
187. Lee SH, Kim YJ, Lee KM, Ryu S, Yoon BW. Ischemic preconditioning enhances neurogenesis in the subventricular zone. *Neuroscience.* 2007;146(3):1020–31.
188. Heldt SA, Stanek L, Chhatwal JP, Ressler KJ. Hippocampus-specific deletion of BDNF in adult mice impairs spatial memory and extinction of aversive memories. *Mol Psychiatry.* 2007;12(7):656–70.
189. Lynch G, Rex CS, Gall CM. Synaptic plasticity in early aging. *Ageing Res Rev.* 2006;5(3):255–80.
190. Tapia-Arancibia L, Aliaga E, Silhol M, Arancibia S. New insights into brain BDNF function in normal aging and Alzheimer disease. *Brain Res Rev.* 2008 Nov;59(1):201–20.
191. Mattson MP, Maudsley S, Martin B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci.* 2004;27(10):589–94.
192. Driscoll I, Martin B, An Y, Maudsley S, Ferrucci L, Mattson MP, et al. Plasma BDNF is associated with age-related white matter atrophy but not with cognitive function in older, non-demented adults. *PLoS One.* 2012;7(4):e35217.
193. Newton IG, Forbes ME, Legault C, Johnson JE, Brunso-Bechtold JK, Riddle DR. Caloric restriction does not reverse aging-related changes in hippocampal BDNF. *Neurobiol Aging.* 2005;26(5):683–8.
194. Lapchak PA, Araujo DM, Beck KD, Finch CE, Johnson SA, Hefti F. BDNF and trkB mRNA expression in the hippocampal formation of aging rats. *Neurobiol Aging.* 1993;14(2):121–6.
195. Narisawa-Saito M, Nawa H. Differential regulation of hippocampal neurotrophins during aging in rats. *J Neurochem.* 1996;67(3):1124–31.
196. Pan W, Banks WA, Fasold MB, Bluth J, Kastin AJ. Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology.* 1998;37(12):1553–61.

197. Sartorius A, Hellweg R, Litzke J, Vogt M, Dormann C, Vollmayr B, i sur. Correlations and discrepancies between serum and brain tissue levels of neurotrophins after electroconvulsive treatment in rats. *Pharmacopsychiatry*. 2009;42(6):270–6.
198. Di Lazzaro V, Profice P, Pilato F, Dileone M, Florio L, Tonali PA, i sur. BDNF plasma levels in acute stroke. *Neurosci Lett*. 2007;422(2):128–30.
199. Polacchini A, Metelli G, Francavilla R, Baj G, Florean M, Mascaretti LG, i sur. A method for reproducible measurements of serum BDNF: comparison of the performance of six commercial assays. *Sci Rep*. 2015 Dec;5:17989.
200. Almeida RD, Manadas BJ, Melo CV, Gomes JR, Mendes CS, Grãos MM, i sur. Neuroprotection by BDNF against glutamate-induced apoptotic cell death is mediated by ERK and PI3-kinase pathways. *Cell Death Differ*. 2005 Oct;12(10):1329–43.
201. Shetty AK, Rao MS, Hattiangady B, Zaman V, Shetty GA. Hippocampal neurotrophin levels after injury: Relationship to the age of the hippocampus at the time of injury. *J Neurosci Res*. 2004;78(4):520–32.
202. Apple DM, Solano-Fonseca R, Kokovay E. Neurogenesis in the aging brain. *Biochem Pharmacol*. 2017;141:77–85.
203. Brown BM, Bourgeat P, Peiffer JJ, Burnham S, Laws SM, Rainey-Smith SR, i sur. AIBL Research Group. Influence of BDNF Val66Met on the relationship between physical activity and brain volume. *Neurology*. 2014;83(15):1345–52.
204. Verhaeghen P, Marcoen A, Goossens L. Facts and fiction about memory aging: a quantitative integration of research findings. *J Gerontol*. 1993;48(4):P157–71.
205. Old SR, Naveh-Benjamin M. Differential effects of age on item and associative measures of memory: a meta-analysis. *Psychol Aging*. 2008;23(1):104–18.
206. Hock C, Heese K, Hulette C, Rosenberg C, Otten U. Region-specific neurotrophin imbalances in Alzheimer disease: decreased levels of brain-derived neurotrophic factor and increased levels of nerve growth factor in hippocampus and cortical areas. *Arch Neurol*. 2000;57(6):846–51.
207. Zuccato C, Marullo M, Conforti P, MacDonald ME, Tartari M, Cattaneo E. Systematic assessment of BDNF and its receptor levels in human cortices affected by Huntington's disease. *Brain Pathol*. 2008;18(2):225–38.

208. Autry AE, Monteggia LM. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol Rev.* 2012;64(2):238–58.
209. Hill WD, Arslan RC, Xia C, Luciano M, Amador C, Navarro P, i sur. Genomic analysis of family data reveals additional genetic effects on intelligence and personality. *Mol Psychiatry.* 2018;23(12):2347–2362.
210. Kleim JA, Chan S, Pringle E, Schallert K, Procaccio V, Jimenez R, i sur. BDNF val66met polymorphism is associated with modified experience-dependent plasticity in human motor cortex. *Nat Neurosci.* 2006;9(6):735–7.
211. Hariri AR, Goldberg TE, Mattay VS, Kolachana BS, Callicott JH, Egan MF, i sur. Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. *J Neurosci.* 2003;23(17):6690–4.
212. Montag C, Weber B, Fliessbach K, Elger C, Reuter M. The BDNF Val66Met polymorphism impacts parahippocampal and amygdala volume in healthy humans: incremental support for a genetic risk factor for depression. *Psychol Med.* 2009;39(11):1831–9.
213. Goldberg TE, Iudicello J, Russo C, Elvevåg B, Straub R, Egan MF, i sur. BDNF Val66Met polymorphism significantly affects d' in verbal recognition memory at short and long delays. *Biol Psychol.* 2008;77(1):20–4.
214. Mandelman SD, Grigorenko EL. BDNF Val66Met and cognition: all, none, or some? A meta-analysis of the genetic association. *Genes Brain Behav.* 2012;11(2):127–36.
215. Kambeitz JP, Bhattacharyya S, Kambeitz-Ilankovic LM, Valli I, Collier DA, McGuire P. Effect of BDNF val(66)met polymorphism on declarative memory and its neural substrate: a meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev.* 2012;36(9):2165–77.
216. Toh YL, Ng T, Tan M, Tan A, Chan A. Impact of brain-derived neurotrophic factor genetic polymorphism on cognition: A systematic review. *Brain Behav.* 2018;8(7):e01009.
217. Tsai S-J, Gau Y-TA, Liu M-E, Hsieh C-H, Liou Y-J, Hong C-J. Association study of brain-derived neurotrophic factor and apolipoprotein E polymorphisms and cognitive function in aged males without dementia. *Neurosci Lett.* 2008;433:158–162.

218. Houlihan LM, Harris SE, Luciano M, Gow AJ, Starr JM, Visscher PM, i sur. Replication study of candidate genes for cognitive abilities: the Lothian Birth Cohort 1936. *Genes Brain Behav.* 2009;8:238–247.
219. Karnik MS, Wang L, Barch DM, Morris JC, Csernansky JG. BDNF polymorphism rs6265 and hippocampal structure and memory performance in healthy control subjects. *Psychiatry Res.* 2010;178:425–429.
220. Dennis NA, Cabeza R, Need AC, Waters–Metenier S, Goldstein DB, LaBar KS. Brain–derived neurotrophic factor val66met polymorphism and hippocampal activation during episodic encoding and retrieval tasks. *Hippocampus.* 2011;21(9):980–9.
221. Bath KG, Lee FS. Variant BDNF (Val66Met) impact on brain structure and function. *Cogn Affect Behav Neurosci.* 2006;6(1):79–85.
222. Kunugi H, Ueki A, Otsuka M, Isse K, Hirasawa H, Kato N, i sur. A novel polymorphism of the brain–derived neurotrophic factor (BDNF) gene associated with late–onset Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry.* 2001;6(1):83–6.
223. Olin D, MacMurray J, Comings DE. Risk of late–onset Alzheimer's disease associated with BDNF C270T polymorphism. *Neurosci Lett.* 2005;381(3):275–8.
224. Weinstock–Guttman B, Benedict RH, Tamaño–Blanco M, Ramasamy DP, Stosic M, Polito J, i sur. The rs2030324 SNP of brain–derived neurotrophic factor (BDNF) is associated with visual cognitive processing in multiple sclerosis. *Pathophysiology.* 2011;18(1):43–52.
225. Shovit R, Praveen KS. Association of Brain–Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Gene Snps G196A and C270T with Alzheimer's Disease: A Meta–Analysis. *J Alzheimers Dis Parkinsonism.* 2017;7:323.
226. Desai P, Nebes R, DeKosky ST, Kamboh MI. Investigation of the effect of brain–derived neurotrophic factor (BDNF) polymorphisms on the risk of late–onset Alzheimer's disease (AD) and quantitative measures of AD progression. *Neurosci Lett.* 2005;379(3):229–34.
227. Svob Strac D, Nikolac Perkovic M, Nedic Erjavec G, Uzun S, Sagud M, Zivkovic M, i sur. The role of brain–derived neurotrophic factor (BDNF) in cognition and treatment response. U: Bennet C, urednik. *Brain–Derived Neurotrophic Factor (BDNF): Therapeutic Approaches, Role in Neuronal Development and Effects on Cognitive Health.* New York: Nova Sci.Publ.;2015. str. 67–146.

228. Sim MS, Mohamed Z, Hatim A, Rajagopal VL, Habil MH. Association of brain-derived neurotrophic factor (Val66Met) genetic polymorphism with methamphetamine dependence in a Malaysian population. *Brain Res.* 2010;1357:91–6.
229. Ribeiro L, Busnello JV, Cantor RM, Whelan F, Whittaker P, Deloukas P, i sur. The brain-derived neurotrophic factor rs6265 (Val66Met) polymorphism and depression in Mexican-Americans. *Neuroreport.* 2007;18(12):1291–3.
230. Ilchibaeva TV, Tsybko AS, Kozhemyakina RV, Kondaurova EM, Popova NK, Naumenko VS. Genetically defined fear-induced aggression: Focus on BDNF and its receptors. *Behav Brain Res.* 2018;343:102–110.
231. Eisch AJ, Bolaños CA, de Wit J, Simonak RD, Pudiak CM, Barrot M, i sur. Brain-derived neurotrophic factor in the ventral midbrain–nucleus accumbens pathway: a role in depression. *Biol Psychiatry.* 2003;54(10):994–1005.
232. Tsai SJ. Increased central brain-derived neurotrophic factor activity could be a risk factor for substance abuse: Implications for treatment. *Med Hypotheses.* 2007;68(2):410–4.
233. Tsai SJ. Is autism caused by early hyperactivity of brain-derived neurotrophic factor? *Med Hypotheses.* 2005;65(1):79–82.
234. Papaleo F, Silverman JL, Aney J, Tian Q, Barkan CL, Chadman KK, i sur. Working memory deficits, increased anxiety-like traits, and seizure susceptibility in BDNF overexpressing mice. *Learn Mem.* 2011;18(8):534–44.
235. Pitts BL, Whealin JM, Harpaz–Rotem I, Duman RS, Krystal JH, Southwick SM, i sur. BDNF Val66Met polymorphism and posttraumatic stress symptoms in U.S. military veterans: Protective effect of physical exercise. *Psychoneuroendocrinology.* 2019;100:198–202.
236. Miller JK, McDougall S, Thomas S, Wiener J. The Impact of the Brain-Derived Neurotrophic Factor Gene on Trauma and Spatial Processing. *J Clin Med.* 2017;6(12):108.
237. Hori H, Itoh M, Yoshida F, Lin M, Niwa M, Hakamata Y, i sur. The BDNF Val66Met polymorphism affects negative memory bias in civilian women with PTSD. *Sci Rep.* 2020;10(1):3151.
238. Zhang L, Li XX, Hu XZ. Post-traumatic stress disorder risk and brain-derived neurotrophic factor Val66Met. *World J Psychiatry.* 2016;6(1):1–6.

239. Havelka Mestrovic A, Tudor L, Nedic Erjavec G, Nikolac Perkovic M, Svob Strac D, Kovacic Petrovic Z, i sur. The impact of BDNF Val66Met on cognitive skills in veterans with posttraumatic stress disorder. *Neurosci Lett.* 2020;735:135235.
240. Guo JC, Li X, Guo M, Gao YS, Fu LQ, Jiang XL, i sur. Association of BDNF gene polymorphism with endophenotypes in posttraumatic stress disorder. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2020;66(5):615–622.
241. Guo JC, Yang YJ, Guo M, Wang XD, Juan Y, Gao YS, i sur. Correlations of Four Genetic Single Nucleotide Polymorphisms in Brain-Derived Neurotrophic Factor with Posttraumatic Stress Disorder. *Psychiatry Investig.* 2018;15(4):407–412.
242. Watanabe Y, Nunokawa A, Someya T. Association of the BDNF C270T polymorphism with schizophrenia: updated meta-analysis. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2013;67(2):123–5.
243. Ribasés M, Gratacòs M, Fernández-Aranda F, Bellodi L, Boni C, Anderluh M, i sur. Association of BDNF with anorexia, bulimia and age of onset of weight loss in six European populations. *Hum Mol Genet.* 2004;13(12):1205–12.
244. Zhang H, Ozbay F, Lappalainen J, Kranzler HR, van Dyck CH, Charney DS, i sur. Brain derived neurotrophic factor (BDNF) gene variants and Alzheimer's disease, affective disorders, posttraumatic stress disorder, schizophrenia, and substance dependence. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2006;141B(4):387–93.
245. Nedic Erjavec G, Nikolac Perkovic M, Tudor L, Uzun S, Kovacic Petrovic Z, Konjevod M, i sur. Moderating Effects of BDNF Genetic Variants and Smoking on Cognition in PTSD Veterans. *Biomolecules.* 2021;11(5):641.
246. Guo X.J., Hang W.H., Guo L.Y. A family based association study of BDNF C270T polymorphism with schizophrenia. *J. Nerv. Ment. Dis.* 2011;37:568–570.
247. Wilson RS, Schneider JA, Boyle PA, Arnold SE, Tang Y, Bennett DA. Chronic distress and incidence of mild cognitive impairment. *Neurology.* 2007;68(24):2085–92.
248. Kim EJ, Pellman B, Kim JJ. Stress effects on the hippocampus: a critical review. *Learn Mem.* 2015;22(9):411–6.
249. Artola A, von Frijtag JC, Fermont PC, Gispen WH, Schrama LH, Kamal A, i sur. Long-lasting modulation of the induction of LTD and LTP in rat hippocampal



- CA1 by behavioural stress and environmental enrichment. *Eur J Neurosci.* 2006;23(1):261–72.
250. Hoffman AN, Krigbaum A, Ortiz JB, Mika A, Hutchinson KM, Bimonte–Nelson HA, i sur. Recovery after chronic stress within spatial reference and working memory domains: correspondence with hippocampal morphology. *Eur J Neurosci.* 2011;34(6):1023–30.
251. Radecki DT, Brown LM, Martinez J, Teyler TJ. BDNF protects against stress–induced impairments in spatial learning and memory and LTP. *Hippocampus.* 2005;15(2):246–53.
252. Radahmadi M, Hosseini N, Alaei H, Sharifi MR. The Effect of Preventive, Therapeutic and Protective Exercises on Hippocampal Memory Mediators in Stressed Rats. *Malays J Med Sci.* 2016;23(5):29–37.
253. Shafia S, Vafaei AA, Samaei SA, Bandegi AR, Rafiei A, Valadan R, i sur. Effects of moderate treadmill exercise and fluoxetine on behavioural and cognitive deficits, hypothalamic–pituitary–adrenal axis dysfunction and alternations in hippocampal BDNF and mRNA expression of apoptosis – related proteins in a rat model of post–traumatic stress disorder. *Neurobiol Learn Mem.* 2017;139:165–178.
254. Miller RM, Marriott D, Trotter J, Hammond T, Lyman D, Call T, i sur. Running exercise mitigates the negative consequences of chronic stress on dorsal hippocampal long–term potentiation in male mice. *Neurobiol Learn Mem.* 2018;149:28–38.
255. Rogers J, Renoir T, Hannan AJ. Gene–environment interactions informing therapeutic approaches to cognitive and affective disorders. *Neuropharmacology.* 2019;145(Pt A):37–48.
256. Gallo FT, Kathe C, Morici JF, Medina JH, Weisstaub NV. Immediate Early Genes, Memory and Psychiatric Disorders: Focus on c–Fos, Egr1 and Arc. *Front Behav Neurosci.* 2018;12:79.
257. Tural Ü, Aker AT, Önder E, Sodan HT, Ünver H, Akansel G. Neurotrophic factors and hippocampal activity in PTSD. *PLoS One.* 2018;13(5):e0197889.

258. Pitman RK, Shin LM, Rauch SL. Investigating the pathogenesis of posttraumatic stress disorder with neuroimaging. *J Clin Psychiatry*. 2001;62:47–54.
259. Osuch EA, Benson B, Geraci M, Podell D, Herscovitch P, McCann UD, i sur. Regional cerebral blood flow correlated with flashback intensity in patients with posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*. 2001;50(4):246–53.
260. Calabrese F, Molteni R, Racagni G, Riva MA. Neuronal plasticity: a link between stress and mood disorders. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34:208–16.
261. Angelucci F, Ricci V, Gelfo F, Martinotti G, Brunetti M, Sepede G, i sur. BDNF serum levels in subjects developing or not post-traumatic stress disorder after trauma exposure. *Brain Cogn*. 2014;84(1):118–22.
262. Matsuoka Y, Nishi D, Noguchi H, Kim Y, Hashimoto K. Longitudinal changes in serum brain-derived neurotrophic factor in accident survivors with posttraumatic stress disorder. *Neuropsychobiology*. 2013;68(1):44–50.
263. Hauck S, Kapczinski F, Roesler R, de Moura Silveira E Jr, Magalhães PV, Kruel LR, i sur. Serum brain-derived neurotrophic factor in patients with trauma psychopathology. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2010;34(3):459–62.
264. Brandes D, Ben-Schachar G, Gilboa A, Bonne O, Freedman S, Shalev AY. PTSD symptoms and cognitive performance in recent trauma survivors. *Psychiatry Res*. 2002;110(3):231–8.
265. Thomaes K, Dorrepaal E, Draijer N, de Rooter MB, Elzinga BM, Sjoerds Z, i sur. Increased anterior cingulate cortex and hippocampus activation in Complex PTSD during encoding of negative words. *Soc Cogn Affect Neurosci*. 2013;8(2):190–200.
266. Bisby JA, Horner AJ, Hørlyck LD, Burgess N. Opposing effects of negative emotion on amygdalar and hippocampal memory for items and associations. *Soc Cogn Affect Neurosci*. 2016;11(6):981–90.
267. Smith KV, Burgess N, Brewin CR, King JA. Impaired allocentric spatial processing in posttraumatic stress disorder. *Neurobiol Learn Mem*. 2015;119:69–76.

268. Kaur M, Murphy D, Smith KV. An adapted imaginal exposure approach to traditional methods used within trauma-focused cognitive behavioural therapy, trialled with a veteran population. *Cogn Behav Therap.* 2016;9:e10.
269. Pitman RK, Rasmusson AM, Koenen KC, Shin LM, Orr SP, Gilbertson MW, i sur. Biological studies of post-traumatic stress disorder. *Nat Rev Neurosci.* 2012;13(11):769–87.
270. Zhang L, Benedek DM, Fullerton CS, Forsten RD, Naifeh JA, Li XX, i sur. PTSD risk is associated with BDNF Val66Met and BDNF overexpression. *Mol Psychiatry.* 2014;19(1):8–10.
271. Bruenig D, Lurie J, Morris CP, Harvey W, Lawford B, Young RM, i sur. A Case-Control Study and Meta-Analysis Reveal BDNF Val66Met Is a Possible Risk Factor for PTSD. *Neural Plast.* 2016;2016:6979435.
272. Pivac N, Kozaric-Kovacic D, Grubisic-Ilic M, Nedic G, Rakos I, Nikolac M, i sur. The association between brain-derived neurotrophic factor Val66Met variants and psychotic symptoms in posttraumatic stress disorder. *World J Biol Psychiatry.* 2012;13(4):306–11.
273. Wang T. Does BDNF Val66Met Polymorphism Confer Risk for Posttraumatic Stress Disorder? *Neuropsychobiology.* 2015;71(3):149–53.
274. Zhang Y, Fang X, Fan W, Tang W, Cai J, Song L, i sur. Brain-derived neurotrophic factor as a biomarker for cognitive recovery in acute schizophrenia: 12-week results from a prospective longitudinal study. *Psychopharmacology (Berl).* 2018;235(4):1191–1198.
275. Komulainen P, Pedersen M, Hänninen T, Bruunsgaard H, Lakka TA, Kivipelto M, i sur. BDNF is a novel marker of cognitive function in ageing women: the DR's EXTRA Study. *Neurobiol Learn Mem.* 2008;90(4):596–603.
276. Miyajima F, Ollier W, Mayes A, Jackson A, Thacker N, Rabbitt P, i sur. Brain-derived neurotrophic factor polymorphism Val66Met influences cognitive abilities in the elderly. *Genes Brain Behav.* 2008;7(4):411–7.

277. Pitts BL, Wen V, Whealin JM, Fogle BM, Southwick SM, Esterlis I, i sur. Depression and Cognitive Dysfunction in Older U.S. Military Veterans: Moderating Effects of BDNF Val66Met Polymorphism and Physical Exercise. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2020;28(9):959–967.
278. Su S, Xiao Z, Lin Z, Qiu Y, Jin Y, Wang Z. Plasma brain–derived neurotrophic factor levels in patients suffering from post–traumatic stress disorder. *Psychiatry Res*. 2015;229(1–2):365–9.
279. Suliman S, Hemmings SM, Seedat S. Brain–Derived Neurotrophic Factor (BDNF) protein levels in anxiety disorders: systematic review and meta–regression analysis. *Front Integr Neurosci*. 2013;7:55.
280. Stein MB, Torres K, Aiello AE, Almli LM, Amstadter AB, Andersen SB, i sur. International meta–analysis of PTSD genome–wide association studies identifies sex– and ancestry–specific genetic risk loci. *Nat Commun*. 2019;10(1):4558.
281. Stein MB, Levey DF, Cheng Z, Wendt FR, Harrington K, Pathak GA, Cho K, i sur. Genome–wide association analyses of post–traumatic stress disorder and its symptom subdomains in the Million Veteran Program. *Nat Genet*. 2021;53(2):174–184.
282. First MB, Williams J, Smith Benjamin L, Spitzer RL. Structured Clinical Interview for DSM–5. Washington, DC: American Psychiatric Publishing; 2016.
283. World health organisation: International statistical classification of diseases and related health problems, 10th revision (ICD-10). Geneva: WHO; 2010.
284. MKB–10 klasifikacija mentalnih poremećaja i poremećaja ponašanja. Klinički opisi i dijagnostičke smjernice. Folnegović–Šmalc V, ur. Zagreb: Medicinska naklada; 1999.
285. Weathers FW, Keane TM, Davidson JR. Clinician–administered PTSD scale: a review of the first ten years of research. *Depress Anxiety* 2001;13:132–56.
286. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull* 1987;13:261–76.

287. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Mini-mental state. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.* 1975;12(3):189-98.
288. Nasreddine ZS, Phillips NA, Bédirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, i sur. "The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment". *J Am Geriatr Soc.* 2005; 53 (4): 695-9.
289. Pivac N, Kozaric-Kovacic D, Muck Seler D. Biological markers in Croatian war veterans with combat related posttraumatic stress disorder. U: M Ray (ur.). *Novel approaches to the diagnosis and treatment of posttraumatic stress disorder.* Amsterdam: IOS Press, 2006. str. 3-12.
290. Tombaugh TN, McIntyre NJ. The mini-mental state examination: a comprehensive review. *J Am Geriatr Soc.* 1992;40(9):922-35.
291. Engedal K, Haugen P, Gilje K, Laake P. Efficacy of short mental tests in the detection of mental impairment in old age. *Compr Gerontol A.* 1988;2(2):87-93.
292. Galasko D, Hansen LA, Katzman R, Wiederholt W, Masliah E, Terry R, i sur. Clinical-neuropathological correlations in Alzheimer's disease and related dementias. *Arch Neurol.* 1994;51(9):888-95.
293. Nelson A, Fogel BS, Faust D. Bedside cognitive screening instruments. A critical assessment. *J Nerv Ment Dis.* 1986;174(2):73-83.
294. Folstein MF, Folstein SE, White T, Messer MA. *Mini-Mental State Examination*, 2. izd. Florida: Psychological Assessment Resources; 2010.
295. Nagata T, Shinagawa S, Nukariya K, Ochiai Y, Kawamura S, Agawa-Ohta M, i sur. Association between brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene polymorphisms and executive function in Japanese patients with Alzheimer's disease. *Psychogeriatrics.* 2011;11(3):141-9.
296. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics.* 2005;21(2):263-5.
297. Zarevski P. *Psihologija pamćenja i učenja.* 5. izd. Jastrebarsko: Naklada Slap; 2007.
298. Yitshak-Sade M, Mendelson N, Novack V, Codish S, Liberty IF. The association between an increase in glucose levels and armed conflict-related stress: A population-based study. *Sci Rep.* 2020;10(1):1710.

299. Bharti V, Bhardwaj A, Elias DA, Metcalfe AWS, Kim JS. A Systematic Review and Meta-Analysis of Lipid Signatures in Post-traumatic Stress Disorder. *Front Psychiatry*. 2022;13:847310.
300. Kozaric-Kovacic D, Ilic MG, Romic Z, Vidovic A, Jendricko T, Pivac N. Body mass index in male Caucasian veterans with or without posttraumatic stress disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2009;33(8):1447–50.
301. Kearns NT, Carl E, Stein AT, Vujanovic AA, Zvolensky MJ, Smits JAJ, Powers MB. Posttraumatic stress disorder and cigarette smoking: A systematic review. *Depress Anxiety*. 2018;35(11):1056–1072.
302. Bartoli F, Carrà G, Crocamo C, Carretta D, Clerici M. Metabolic syndrome in people suffering from posttraumatic stress disorder: a systematic review and meta-analysis. *Metab Syndr Relat Disord*. 2013;301–8.
303. Rosenbaum S, Stubbs B, Ward PB, Steel Z, Lederman O, Vancampfort D. The prevalence and risk of metabolic syndrome and its components among people with posttraumatic stress disorder: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism*. 2015;64(8):926–33.
304. Karlović D, Martinac M, Buljan D, Zorčić Z. Relationship between serum lipid concentrations and posttraumatic stress disorder symptoms in soldiers with combat experiences. *Acta Med Okayama*. 2004;58(1):23–7.
305. Trief PM, Ouimette P, Wade M, Shanahan P, Weinstock RS. Post-traumatic stress disorder and diabetes: co-morbidity and outcomes in a male veterans sample. *J Behav Med*. 2006;29(5):411–8.
306. Solter V, Thaller V, Karlović D, Crnković D. Elevated serum lipids in veterans with combat-related chronic posttraumatic stress disorder. *Croat Med J*. 2002 Dec;43(6):685–9.
307. Pivac N, Konjevod M, Sagud M, Uzun S, Kozumplik O. Neuroendocrine and immune biomarkers of posttraumatic stress disorder in combat veterans. U: Updesh K, urednik. *The Routledge International Handbook of Military Psychology and Mental Health*. London: Routledge Taylor & Francis Group; 2020. str. 483–497.
308. Nedic Erjavec G, Nikolac Perkovic M, Tudor L, Svob Strac D, Pivac N. Neurotransmitter and neurotrophic biomarkers in combat related PTSD. U: Updesh K, urednik. *The Routledge International Handbook of Military Psychology and Mental Health*. London: Routledge Taylor & Francis Group; 2020. str. 467–481.

309. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 2010;5(6):463–6.
310. Tudor L, Nedic Erjavec G, Nikolac Perkovic M, Konjevod M, Svob Strac D, Uzun S, i sur. N-glycomic Profile in Combat Related Post-Traumatic Stress Disorder. *Biomolecules*. 2019;9(12):834.
311. Konjevod M, Tudor L, Svob Strac D, Nedic Erjavec G, Barbas C, Zarkovic N, i sur. Metabolomic and glycomic findings in posttraumatic stress disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019;88:181–193.
312. Andero R, Ressler KJ. Fear extinction and BDNF: translating animal models of PTSD to the clinic. *Genes Brain Behav*. 2012;11(5):503–12.
313. Notaras M, van den Buuse M. Neurobiology of BDNF in fear memory, sensitivity to stress, and stress-related disorders. *Mol Psychiatry*. 2020;25(10):2251–2274.
314. Domitrovic Spudic S, Nikolac Perkovic M, Uzun S, Nedic Erjavec G, Kozumplik O, Svob Strac D, i sur. Reduced plasma BDNF concentration and cognitive decline in veterans with PTSD. *Psychiatry Res*. 2022;316:114772.
315. Williams MS, Ngongang CK, Ouyang P, Betoudji F, Harrer C, Wang NY, i sur. Gender differences in platelet brain derived neurotrophic factor in patients with cardiovascular disease and depression. *J Psychiatr Res*. 2016;78:72–7.
316. Christian LM, Mitchell AM, Gillespie SL, Palettas M. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) across pregnancy and postpartum: Associations with race, depressive symptoms, and low birth weight. *Psychoneuroendocrinology*. 2016;74:69–76.
317. Martinotti G, Sepede G, Brunetti M, Ricci V, Gambi F, Chillemi E, i sur. BDNF concentration and impulsiveness level in post-traumatic stress disorder. *Psychiatry Res*. 2015;229(3):814–8.
318. Mojtabavi H, Saghazadeh A, van den Heuvel L, Bucker J, Rezaei N. Peripheral blood levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with post-traumatic stress disorder (PTSD): A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2020;15(11):e0241928.
319. Lommatzsch M, Zingler D, Schuhbaeck K, Schloetcke K, Zingler C, Schuff-Werner P, i sur. The impact of age, weight and gender on BDNF levels in human platelets and plasma. *Neurobiol Aging*. 2005;26(1):115–23.

320. Pillai A, Bruno D, Sarreal AS, Hernando RT, Saint-Louis LA, Nierenberg J, i sur. Plasma BDNF levels vary in relation to body weight in females. *PLoS One*. 2012;7(7):e39358.
321. Miranda M, Morici JF, Zanoni MB, Bekinschtein P. Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Key Molecule for Memory in the Healthy and the Pathological Brain. *Front Cell Neurosci*. 2019;13:363.
322. Sher L, Bierer LM, Flory J, Makotkine I, Yehuda R. Brain-derived neurotrophic factor in war veterans with or without a history of suicide attempt. *J Affect Disord*. 2022;308:160–165.
323. Wu GWY, Wolkowitz OM, Reus VI, Kang JI, Elnar M, Sarwal R, i sur. Serum brain-derived neurotrophic factor remains elevated after long term follow-up of combat veterans with chronic post-traumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology*. 2021;134:105360.
324. Kronenberg G, Gertz K, Schöner J, Bertram L, Liman T, Steinhagen-Thiessen E, i sur. BDNF serum concentrations in 2053 participants of the Berlin Aging Study II. *Neurobiol Aging*. 2021;101:221–223.
325. Fujimura H, Altar CA, Chen R, Nakamura T, Nakahashi T, Kambayashi J, i sur. Brain-derived neurotrophic factor is stored in human platelets and released by agonist stimulation. *Thromb Haemost*. 2002;87(4):728–34.
326. Golden E, Emiliano A, Maudsley S, Windham BG, Carlson OD, Egan JM, i sur. Circulating brain-derived neurotrophic factor and indices of metabolic and cardiovascular health: data from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *PLoS One*. 2010;5(4):e10099.
327. Sustar A, Perkovic MN, Erjavec GN, Strac DS, Pivac N. Association between reduced brain-derived neurotrophic factor concentration & coronary heart disease. *Indian J Med Res*. 2019;150(1):43–49.
328. Guzzardi MA, Sanguinetti E, Bartoli A, Kemeny A, Panetta D, Salvadori PA, i sur. Elevated glycemia and brain glucose utilization predict BDNF lowering since early life. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2018;38(3):447–455.
329. Krabbe KS, Nielsen AR, Krogh-Madsen R, Plomgaard P, Rasmussen P, Erikstrup C, i sur. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2007;50(2):431–8.



330. Soavi C, Marušič U, Sanz JM, Morieri ML, Dalla Nora E, Šimunič B, i sur. Age-related differences in plasma BDNF levels after prolonged bed rest. *J Appl Physiol* (1985). 2016;120(10):1118–23.
331. Eckel RH, Cornier MA. Update on the NCEP ATP-III emerging cardiometabolic risk factors. *BMC Med*. 2014;12:115.
332. Ahmadi SF, Streja E, Zahmatkesh G, Streja D, Kashyap M, Moradi H, i sur. Reverse Epidemiology of Traditional Cardiovascular Risk Factors in the Geriatric Population. *J Am Med Dir Assoc*. 2015;16(11):933–9.
333. Lee BH, Kim YK. Potential peripheral biological predictors of suicidal behavior in major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;35(4):842–7.
334. Suzuki S, Kiyosue K, Hazama S, Ogura A, Kashihara M, Hara T, i sur. Brain-derived neurotrophic factor regulates cholesterol metabolism for synapse development. *J Neurosci*. 2007;27(24):6417–27.
335. Suzuki S, Numakawa T, Shimazu K, Koshimizu H, Hara T, Hatanaka H, i sur. BDNF-induced recruitment of TrkB receptor into neuronal lipid rafts: roles in synaptic modulation. *J Cell Biol*. 2004;167(6):1205–15.
336. Jin H, Chen Y, Wang B, Zhu Y, Chen L, Han X, i sur. Association between brain-derived neurotrophic factor and von Willebrand factor levels in patients with stable coronary artery disease. *BMC Cardiovasc Disord*. 2018;18(1):23.
337. Xia F, Zeng Q, Chen J. Circulating brain-derived neurotrophic factor dysregulation and its linkage with lipid level, stenosis degree, and inflammatory cytokines in coronary heart disease. *J Clin Lab Anal*. 2022;36(7):e24546.
338. Colardo M, Martella N, Pensabene D, Siteni S, Di Bartolomeo S, Pallottini V, i sur. Neurotrophins as Key Regulators of Cell Metabolism: Implications for Cholesterol Homeostasis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):5692.
339. Shaya GE, Leucker TM, Jones SR, Martin SS, Toth PP. Coronary heart disease risk: Low-density lipoprotein and beyond. *Trends Cardiovasc Med*. 2022;32(4):181–194.
340. Spagnuolo MS, Donizetti A, Iannotta L, Aliperti V, Cupidi C, Bruni AC, i sur. Brain-derived neurotrophic factor modulates cholesterol homeostasis and Apolipoprotein E synthesis in human cell models of astrocytes and neurons. *J Cell Physiol*. 2018;233(9):6925–6943.

341. Skibinska M, Kapelski P, Rajewska–Rager A, Szczepankiewicz A, Narozna B, Duda J, i sur. Elevated brain–derived neurotrophic factor (BDNF) serum levels in an acute episode of schizophrenia in polish women: Correlation with clinical and metabolic parameters. *Psychiatry Res.* 2019;271:89–95.
342. Yokokawa T, Sasaki S, Sase K, Yoshii N, Yasuda J, Hayashi T, i sur. Association of serum brain–derived neurotrophic factor with hepatic enzymes, AST/ALT ratio, and FIB–4 index in middle–aged and older women. *PLoS One.* 2022;17(8):e0273056.
343. Sönmez MB, Görgülü Y, Köse Çınar R, Kılıç EK, Ünal A, Vardar ME. Alterations of BDNF and GDNF serum levels in alcohol–addicted patients during alcohol withdrawal. *Eur. J. Psychiat.* 2016;30(2).
344. Dell'Osso L, Carmassi C, Del Debbio A, Catena Dell'Osso M, Bianchi C, da Pozzo E, i sur. Brain–derived neurotrophic factor plasma levels in patients suffering from post–traumatic stress disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2009;33(5):899–902.
345. Stratta P, Sanità P, Bonanni RL, de Cataldo S, Angelucci A, Rossi R, i sur. Clinical correlates of plasma brain–derived neurotrophic factor in post–traumatic stress disorder spectrum after a natural disaster. *Psychiatry Res.* 2016;244:165–70.
346. Grassi–Oliveira R, Stein LM, Lopes RP, Teixeira AL, Bauer ME. Low plasma brain–derived neurotrophic factor and childhood physical neglect are associated with verbal memory impairment in major depression—a preliminary report. *Biol Psychiatry.* 2008;64(4):281–5.
347. Bückner J, Fries GR, Kapczinski F, Post RM, Yatham LN, Vianna P, i sur. Brain–derived neurotrophic factor and inflammatory markers in school–aged children with early trauma. *Acta Psychiatr Scand.* 2015;131(5):360–8.
348. van den Heuvel L, Suliman S, Malan–Müller S, Hemmings S, Seedat S. Brain–derived neurotrophic factor Val66met polymorphism and plasma levels in road traffic accident survivors. *Anxiety Stress Coping.* 2016;29(6):616–29.
349. Elfving B, Plougmann PH, Wegener G. Detection of brain–derived neurotrophic factor (BDNF) in rat blood and brain preparations using ELISA: pitfalls and solutions. *J Neurosci Methods.* 2010;187(1):73–7.

350. Karege F, Schwald M, Cisse M. Postnatal developmental profile of brain-derived neurotrophic factor in rat brain and platelets. *Neurosci Lett.* 2002;328(3):261–4.
351. Yoshida T, Ishikawa M, Niitsu T, Nakazato M, Watanabe H, Shiraishi T, i sur. Decreased serum levels of mature brain-derived neurotrophic factor (BDNF), but not its precursor proBDNF, in patients with major depressive disorder. *PLoS One.* 2012;7(8):e42676.
352. Kerschensteiner M, Gallmeier E, Behrens L, Leal VV, Misgeld T, Klinkert WE, i sur.. Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation? *J Exp Med.* 1999;189(5):865–70.
353. Fayyazi-Bordbar M, Talaei A, Heydari A, Dastgheib M, Rezaei-Ardani A. Cognitive Deficits and Memory Disturbances in Patients with Chronic Post-Traumatic Stress Disorder. *Zahedan J Res Med Sci.* 2012;14(10):e93197.
354. Writer BW, Schillerstrom JE, Regwan HK, Harlan BS. Executive clock drawing correlates with performance-based functional status in people with combat-related mild traumatic brain injury and comorbid posttraumatic stress disorder. *J Rehabil Res Dev.* 2010;47(9):841–50.
355. Prieto S, Moody JN, Valerio KE, Hayes JP. Posttraumatic stress disorder symptom severity is associated with reduced Montreal Cognitive Assessment scores in a sample of Vietnam War Veterans. *J Trauma Stress.* 2022;35(4):1282–1290.
356. Havelka Meštrović A, Kozarčić-Kovačić D. Radno pamćenje i izvršne funkcije kod osoba oboljelih od ratnog posttraumatskog stresnog poremećaja. *Socijalna psihijatrija [Internet].* 2014 [pristupljeno 03.10.2022.];42(4). Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/157164>.
357. Havelka Mestrovic A, Tudor L, Nikolac Perkovic M, Nedic Erjavec G, Kovacic Petrovic Z, Svob Strac D, i sur. Significant association between catechol-O-methyltransferase (COMT) Val<sup>158/108</sup>Met polymorphism and cognitive function in veterans with PTSD. *Neurosci Lett.* 2018;666:38–43.
358. Bremner JD, Vythilingam M, Vermetten E, Southwick SM, McGlashan T, Nazeer A, i sur. MRI and PET study of deficits in hippocampal structure and function in women with childhood sexual abuse and posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry.* 2003;160(5):924–32.

359. Neylan TC, Lenoci M, Rothlind J, Metzler TJ, Schuff N, Du AT, i sur. Attention, learning, and memory in posttraumatic stress disorder. *J Trauma Stress*. 2004;17(1):41–6.
360. Dalgleish T, Power MJ. Emotion-specific and emotion-non-specific components of posttraumatic stress disorder (PTSD): implications for a taxonomy of related psychopathology. *Behav Res Ther*. 2004;42(9):1069–88.
361. Meziab O, Kirby KA, Williams B, Yaffe K, Byers AL, Barnes DE. Prisoner of war status, posttraumatic stress disorder, and dementia in older veterans. *Alzheimers Dement*. 2014;10(3 Suppl):S236–41.
362. Karl A, Schaefer M, Malta LS, Dörfel D, Rohleder N, Werner A. A meta-analysis of structural brain abnormalities in PTSD. *Neurosci Biobehav Rev*. 2006;30(7):1004–31.
363. Lee KH, Lee HY, Park I, Lee YJ, Kim N, Jeon S, i sur. Neural correlates of emotional reactivity and regulation in traumatized North Korean refugees. *Transl Psychiatry*. 2021;11(1):452.
364. Couette M, Mouchabac S, Bourla A, Nuss P, Ferreri F. Social cognition in post-traumatic stress disorder: A systematic review. *Br J Clin Psychol*. 2020;59(2):117–138.
365. Günak MM, Billings J, Carratu E, Marchant NL, Favarato G, Orgeta V. Post-traumatic stress disorder as a risk factor for dementia: systematic review and meta-analysis. *Br J Psychiatry*. 2020;217(5):600–608.
366. Kang B, Xu H, McConnell ES. Neurocognitive and psychiatric comorbidities of posttraumatic stress disorder among older veterans: A systematic review. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2019;34(4):522–538.
367. Yaffe K, Vittinghoff E, Lindquist K, Barnes D, Covinsky KE, Neylan T, i sur. Posttraumatic stress disorder and risk of dementia among US veterans. *Arch Gen Psychiatry*. 2010;67(6):608–13.
368. Bryant RA. Post-traumatic stress disorder: a state-of-the-art review of evidence and challenges. *World Psychiatry*. 2019;18(3):259–269.
369. Desmarais P, Weidman D, Wassef A, Bruneau MA, Friedland J, Bajsarowicz P, i sur. The Interplay Between Post-traumatic Stress Disorder and Dementia: A Systematic Review. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2020;28(1):48–60.

370. Nielsen RE, Lindström E, Telléus GK, Levander S. Is the PANSS cognitive scale measuring cognition? *Nord J Psychiatry*. 2014;68(8):573–8.
371. Compean E, Hamner M. Posttraumatic stress disorder with secondary psychotic features (PTSD–SP): Diagnostic and treatment challenges. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019;88:265–275.
372. Rippey CS, Pietrzak RH, Maruff P, Adams TG. Interactive effects of the BDNF Val66Met polymorphism and posttraumatic stress disorder on cognition in U.S. military veterans. *Psychoneuroendocrinology*. 2022;142:105820.
373. Bountress KE, Bacanu SA, Tomko RL, Korte KJ, Hicks T, Sheerin C, i sur. The Effects of a BDNF Val66Met Polymorphism on Posttraumatic Stress Disorder: A Meta–Analysis. *Neuropsychobiology*. 2017;76(3):136–142.
374. Pivac N, Nedic Erjavec G, Sagud M, Nikolac Perkovic M, Tudor L, Uzun S, i sur. The association between BDNF C270T genetic variants and smoking in patients with mental disorders and in healthy controls. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2022;113:110452.
375. Luo L, Guo J, Li X, Guo M, Huang P. (2019) A Review of Studies on Ethnic Differences of Brain–Derived Neurotrophic Factor Genes in Patients with Post–Traumatic Stress Disorder. *World J Neurosci*. 2013;9:229–242.
376. Ng TKS, Ho CSH, Tam WWS, Kua EH, Ho RC. Decreased Serum Brain–Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Levels in Patients with Alzheimer's Disease (AD): A Systematic Review and Meta–Analysis. *Int J Mol Sci*. 2019;20(2):257.
377. Siuda J, Patalong–Ogiewa M, Żmuda W, Targosz–Gajniak M, Niewiadomska E, Matuszek I, i sur. Cognitive impairment and BDNF serum levels. *Neurol Neurochir Pol*. 2017;51(1):24–32.
378. Shimada H, Makizako H, Doi T, Yoshida D, Tsutsumimoto K, Anan Y, i sur. A large, cross–sectional observational study of serum BDNF, cognitive function, and mild cognitive impairment in the elderly. *Front Aging Neurosci*. 2014;6:69.
379. Fujiwara Y, Ihara K, Hachisu M, Suzuki H, Kawai H, Sakurai R, i sur. Higher Serum Brain–Derived Neurotrophic Factor Levels Are Associated With a Lower Risk of Cognitive Decline: A 2–Year Follow Up Study in Community–Dwelling Older Adults. *Front Behav Neurosci*. 2021;15:641608.
380. Bélanger JC, Bouchard V, Le Blanc J, Starnino L, Welman M, Chabot–Blanchet M, i sur. Brain–Derived Neurotrophic Factor Mitigates the Association

- Between Platelet Dysfunction and Cognitive Impairment. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8:739045.
381. Zou Y, Qing L, Zeng X, Shen Y, Zhong Y, Liu J, i sur. Cognitive function and plasma BDNF levels among manganese–exposed smelters. *Occup Environ Med.* 2014;71(3):189–94.
382. Utami N, Effendy E, Amin M. The Relation of Brain–Derived Neurotropic Factor (BDNF) Serum Level to Sub–Domain Cognitive Functions of Indonesian Schizophrenia Patients Measured by MoCA–Ina. *Open Access Maced J Med Sci.* 2019;7(23):4053–4058.
383. de Assis GG, de Almondes KM. Exercise–dependent BDNF as a Modulatory Factor for the Executive Processing of Individuals in Course of Cognitive Decline. A Systematic Review. *Front Psychol.* 2017;8:584.
384. Nikolac Perkovic M, Borovečki F, Klepac N, Hajnšek S, Muck–Šeler D, Pivac N. The association of BDNF polymorphisms and cognitive function in patients with Alzheimer’s disease and mild cognitive impairment. U: Jeran J, Koritnik B, urednici. SiNAPSA Neuroscience Conference ‘13 Book of Abstracts. Ljubljana: SiNAPSA, Slovenian Neuroscience Association; 2013. str. 67.
385. Laczó J, Cechova K, Parizkova M, Lerch O, Andel R, Matoska V, i sur. The Combined Effect of APOE and BDNF Val66Met Polymorphisms on Spatial Navigation in Older Adults. *J Alzheimers Dis.* 2020;78(4):1473–1492.
386. Nishiwaki Y, Breeze E, Smeeth L, Bulpitt CJ, Peters R, Fletcher AE. Validity of the Clock–Drawing Test as a screening tool for cognitive impairment in the elderly. *Am J Epidemiol.* 2004;160(8):797–807.
387. Ainslie NK, Murden RA. Effect of education on the clock–drawing dementia screen in non–demented elderly persons. *J Am Geriatr Soc.* 1993;41(3):249–52.
388. Zhai J, Zhao J, Chen M, Li J, Su Z. Relationship between brain–derived neurotrophic factor gene C270T polymorphisms and the psychotic symptoms and cognitive functioning of patients with schizophrenia. *Shanghai Arch Psychiatry.* 2012;24(6):328–34.
389. Bazzari AH, Bazzari FH. BDNF Therapeutic Mechanisms in Neuropsychiatric Disorders. *Int J Mol Sci.* 2022;23(15):8417.

390. Dossi G, Delvecchio G, Prunas C, Soares JC, Brambilla P. Neural Bases of Cognitive Impairments in Post-Traumatic Stress Disorders: A Mini-Review of Functional Magnetic Resonance Imaging Findings. *Front Psychiatry*. 2020;11:176.

## 11. ŽIVOTOPIS

Ime i prezime: Sandra Domitrović Spudić

Datum i mjesto rođenja: 11. lipnja 1982. godine, Zagreb, Hrvatska

Kućna adresa: Nikole Pavića 26 a, Zagreb

Adresa radnog mjesta: Opća bolnica Karlovac, Andrije Štampara 3, Karlovac

e-mail: [sandra\\_domitrovic@yahoo.com](mailto:sandra_domitrovic@yahoo.com)

mob: 098 760 444

### Obrazovanje

Stalni sudski vještak iz područja psihijatrije (2022. – danas )

Uža specijalizacija iz područja biologijske psihijatrije (2017.–2019.)

Poslijediplomski doktorski studij biomedicina i zdravstvo, Medicinski fakultet u Osijeku (2012.– danas )

Specijalizacija iz područja psihijatrije (2010. – 2014.)

Doktor medicine, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu (2001. – 2007.)

### Radno iskustvo

Naslovni predavač znanstveno područje biomedicina i zdravstvo, polje kliničke medicinske znanosti, znanstvena grana psihijatrija, Fakultet zdravstvenih studija Rijeka, Sveučilište u Rijeci, dislocirani stručni studij Sestrinstvo u Karlovcu (2022. – danas )

Odjel psihijatrije, Opća bolnica Karlovac (2010. – danas )

Liječnik opće medicine, Zatvor Remetinec, Zagreb (2009. – 2010.)

Prodajni predstavnik laboratorijske i liječničke opreme, Labena d.o.o., Zagreb (2008. – 2009.)



## Nagrade

Dekanova nagrada, Dani doktoranada 2019. g., poster „The association between brain derived neurotrophic factor and cognition in veterans with posttraumatic stress disorder“

## Publikacije:

**Domitrović Spudić S**, Nikolac Perković M, Uzun S, Nedić Erjavec G, Kozumplik O, Svob Strac D, Mimica N, Pivac N. Reduced plasma BDNF concentration and cognitive decline in veterans with PTSD. *Psychiatry Res.* 2022;316:114772. doi:10.1016/j.psychres.2022.114772. Epub 2022 Aug 5. PMID: 35961151.

Rožman J, **Domitrović Spudić S**, Klokočki M. Primjena mjera prisile prema psihijatrijskim bolesnicima. *Acta medica Carolostadii.* 2019;7:41–46.

## Kongresna priopćenja

Domitrović, Sandra; del Vechio–Hlevištan, Ivana; Staver, Dijana; Kozumplik, Oliver; Uzun, Suzana. Zypadhera u terapiji nesuradljivih bolesnika.

Knjiga sažetaka 2. Seminara iz kreativne psihoterapije shizofrenije i 4. hrvatskog kongresa o nuspojavama psihofarmaka s međunarodnim sudjelovanjem. U: Uzun S, Kozumplik O, urednici. Zagreb: Medicinska naklada; 2012. str. 91–92 (poster, domaća recenzija, sažetak, znanstveni)

Domitrović, Sandra; Arbanas, Goran

Novi DSM 5 kriteriji – perzistentno kompleksno žalovanje ili veliki depresivni poremećaj.

Knjiga sažetaka 6. hrvatskog psihijatrijskog kongresa s međunarodnim sudjelovanjem Hrvatska psihijatrija u kontekstu etičko–pravnih i društvenih propitivanja. U: Jukić V, urednik. Zagreb: Hrvatsko psihijatrijsko društvo, 2014. str. 56–56 (poster, domaća recenzija, sažetak, znanstveni)

Mijaljica, Goran; Domitrović, Sandra; Britvić, Dolores

Anoreksija nervosa – prikaz slučaja.

Zbornik sažetaka, 12. Psihijatrijski dani. U: Jukić V, urednik. Zagreb: HPD, 2015. (poster, domaća recenzija, sažetak, stručni)

Domitrović, Sandra; Dujam–Vine, Kata

Anksioznost ili psihotični poremećaj

Pfizerov skup u Beogradu, 2015. (predavanje, neobjavljeni rad, ostalo)

Domitrović, Sandra; Salopek, Igor

Maligni neuroleptički sindrom.

38. Svibanjski zdravstveni dani, Karlovac, Hrvatska, 2016. (predavanje, neobjavljeni rad, znanstveni)

Domitrović, Sandra; Salopek, Igor; Oštrek, Jasminka

Uloga poremećaja spavanja u razumijevanju demencija

Neurologica Croatica, 65(Suppl. 2). U: Hajnšek S, urednik. Tučepi, Croatia, 2016. str. 41 (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

Domitrović, Sandra; Salopek, Igor

Depresija i bolni sindrom.

39. Svibanjski zdravstveni dani, Karlovac, Hrvatska, 2017. (predavanje, neobjavljeni rad, znanstveni)