

Małgorzata Maciukiewicz

**Analiza wymiarów i asocjacji genetycznych
w schizofrenii oraz chorobie afektywnej
dwubiegunowej na przykładzie populacji
Wielkopolskiej**

PRACA DOKTORSKA

PROMOTOR: dr hab. Wojciech Karłowski, prof. UAM

Laboratorium Genomiki Obliczeniowej - Pracownia Bioinformatyki, Instytut
Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Biologii Uniwersytetu im
Adama Mickiewicza w Poznaniu

Poznań 2013

Spis treści

1.	Wstęp.....	5
1.1.	Schizofrenia.....	5
1.2.	Zaburzenie afektywne dwubiegunowe.....	6
1.3.	Genetyczne podłoże i patogeneza schizofrenii oraz zaburzenia afektywnego dwubiegunowego.....	8
1.3.1.	Etiologia i patogeneza schizofrenii.....	8
1.3.2.	Genetyczne podłoże schizofrenii.....	10
1.3.3.	Patogeneza zaburzenia afektywnego dwubiegunowego.....	12
1.3.4.	Genetyczne podłoże zaburzenia afektywnego dwubiegunowego.....	13
1.4.	Geny kandydujące analizowane w poniższej pracy.....	14
1.4.1.	Gen DISC1.....	14
1.4.2.	Gen FAT1.....	15
1.4.3.	Gen PDE4B.....	15
1.4.4.	Gen MTNR1A.....	15
1.5.	Analizy asocjacyjne.....	15
1.5.1.	Markery używane w analizach asocjacyjnych: SNP oraz CNVs.....	16
1.5.2.	Badanie genów kandydujących typu <i>case-control</i>	17
1.5.3.	Analizy asocjacyjne na poziomie genomu.....	17
1.5.4.	Statystyczne wyzwania analiz asocjacyjnych.....	20
1.5.5.	Zalety i ograniczenia metod.....	20
1.6.	Kwestionariusz OPCRIT.....	21
1.7.	Wymiary kliniczne.....	22
1.7.1.	Wymiary kliniczne schizofrenii.....	22
1.7.2.	Wymiary kliniczne schorzenia afektywnego dwubiegunowego.....	23
2.	Cel pracy i hipotezy.....	24
3.	Materiały i metody.....	25
3.1.	Grupa badana.....	25
3.2.	SNP analizowane w ramach analiz asocjacji.....	26
3.3.	Metody poszukiwania wymiarów klinicznych.....	29
3.3.1.	Analiza głównych składowych (PCA).....	29
3.3.2.	Analiza czynnikowa (FA).....	30
3.4.	Przygotowanie danych do poszukiwania wymiarów klinicznych.....	31
3.4.1.	Wybór matrycy danych do analiz metody oceny jakości matrycy.....	31
3.5.	Metody korekcji na wielkokrotne testowanie.....	33
3.6.	Klasyfikatory uczenia maszynowego z nadzorem.....	34
3.6.1.	Klasyfikator k-najbliższych sąsiadów.....	35
3.6.2.	Naiwny klasyfikator Bayesa.....	36
3.6.3.	Drzewa decyzyjne.....	37
3.6.4.	Maszyna wektorów nośnych (SVM).....	38
3.7.	Metody oceny działania klasyfikatorów.....	39
3.7.1.	Walidacja krzyżowa.....	40

3.7.2.	Proste wskaźniki procentowe	40
3.7.3.	Wartość AUC oraz krzywa ROC	41
3.8.	Definiowanie klas w zbiorze trenującym	42
3.8.1.	Wykorzystanie wiedzy eksperckiej	42
3.8.2.	Statystyczne określanie klas	43
3.9.	Analizy asocjacyjne	44
3.9.1.	Użyte testy oraz programy w analizach genetycznej asocjacji cechy ilościowej. 44	
3.9.2.	Metody oraz programy użyte w analizach asocjacji z wymiarami.	45
3.9.3.	Wymiar kliniczny jako cecha ilościowa.....	45
3.10.	Metody znajdowania i sprawdzania mocy zależności między czynnikami klinicznymi i demograficznymi a wymiarami.	45
3.10.1.	Regresja.	45
3.10.2.	Użyte modele regresji	47
3.11.	Wykorzystanie programy	47
3.11.1.	Baza danych MySQL.....	47
3.11.2.	Wykorzystane programy, pakiety R oraz skrypty.	49
4.	Wyniki.....	51
4.1.	Skalowanie OPCRIT	51
4.2.	Struktura czynnikowa schizofrenii	52
4.2.1.	Porównanie modeli w zależności od użytej skali/metody.....	52
4.2.2.	Stabilność uzyskanej struktury	56
4.3.	Struktura czynnikowa schorzenia afektywnego dwubiegunowego.....	57
4.3.1.	Porównanie modeli w zależności od użytej skali/metody.....	57
4.3.2.	Stabilność uzyskanej struktury.....	60
4.4.	Struktura czynnikowa grupy połączonej	61
4.4.1.	Porównanie modeli w zależności od użytej skali/metody.....	61
4.4.2.	Stabilność uzyskanej struktury	64
4.5.	Asocjacje z wymiarami	66
4.5.1.	Asocjacje cechy ilościowej z genem <i>MTNRIA</i>	66
4.5.2.	Asocjacje z genem <i>DISC1</i>	68
4.6.	Przewidywanie i klasyfikacja obecności wymiarów klinicznych w wynikach badania testu OPCRIT w oparciu o klasyfikatory statystyczne.....	68
4.6.1.	Przewidywanie obecności wymiarów klinicznych w grupie schizofrenii	69
4.6.1.1.	Wymiar depresji	69
4.6.1.2.	Podwymiar pozytywny 2	70
4.6.1.3.	Podwymiar pozytywny 1	71
4.6.1.4.	Wymiar dezorganizacji.....	72
4.6.1.5.	Domena psychotyczna	73
4.6.1.6.	Wymiar manii	73
4.7.	Predykcja obecności wymiarów w grupie dwubiegunowej.....	74

4.7.1.	Wymiar depresji	74
4.7.2.	Wymiar psychotyczny	76
4.7.3.	Wymiar manii.....	77
4.8.	Predykcja obecności wymiarów w grupie połączonej.....	77
4.8.1.	Podwymiar depresji.....	78
4.8.2.	Wymiar psychotyczny	79
4.8.3.	Domena dezorganizacji	80
4.8.4.	Podwymiar pozytywny 2.....	81
4.8.5.	Podwymiar pozytywny 1.....	82
4.8.6.	Wymiar manii.....	84
4.9.	Rozróżnianie schorzeń na podstawie testu OPCRIT i wymiarów klinicznych.	85
4.9.1.	Wymiar depresji	85
4.9.2.	Wymiar psychotyczny	86
4.9.3.	Wymiar manii.....	88
4.10.	Czynniki demograficzne i kliniczne jako predykatory wystąpienia poszczególnych wymiarów klinicznych.	89
5.	Dyskusja	91
6.	Podsumowanie	98
7.	Spis tabel i rycin	99
8.	Wykaz skrótów.....	104
9.	Narzędzia informatyczne wykorzystane w pracy.....	105
9.1.	Redukcja wymiarowości.....	105
9.2.	Asocjacje genetyczne	105
9.3.	Klasyfikacja	105
9.4.	Modele regresji	105
10.	Piśmiennictwo	106

1. Wstęp

1.1. Schizofrenia

Pierwsze próby zdefiniowania jednostki chorobowej, znanej jako schizofrenia (SCH), podjęto w XIX wieku. W roku 1899 niemiecki psychiatra, Emil Krapelin wprowadził pojęcie „*dementia praecox*” (z łac. otępienie wczesne) w odniesieniu do grupy schorzeń o wczesnym początku psychozy. W 1908 roku Eugen Beuler wprowadził pojęcie schizofrenia (łac. *schizis* = rozszczepianie), wskazując dezintegrację psychiczną jako wspólną cechę psychoz [1]. W 1911 roku Beuler opublikował monografię „*Dementia praecox albo grupa schizofrenii*”, gdzie opisał objawy chorobowe oraz wprowadził podział na podstawowe i dodatkowe symptomy. Wśród pierwszych wymienił: zaburzenia asocjacji myślenia, zaburzenia afektu, ambiwalencję, autystyczne wycofanie [2], a wśród objawów wtórnych złudzenia, omamy, urojenia, objawy katatoniczne, zaburzenia mowy i osobowości [1]. W 1950 roku Kurt Schneider wyróżnił grupę objawów o dużym znaczeniu diagnostycznym, określanych od jego nazwiska jako pierwszorzędowe symptomy Schneidera: nagłośnienie myśli, głosy dyskutujące, głosy komentujące, przeżycia oddziaływania cielesnego, odciąganie myśli, odsłonięcie myśli, spostrzeżenia urojeniowe, inne przeżycia oddziaływania na uczucia, dążenia i wolę [3]. Wówczas sądzono, że są to objawy wystarczające do zdiagnozowania schizofrenii, jednak późniejsze badania wykazały, że powyższe symptomy występują nie tylko w przebiegu schizofrenii, ale także innych schorzeń [4, 5]. Od tego czasu definicja schizofrenii przeszła dużą ewolucję. Podejmowano próby wyznaczenia granic choroby i dokładnego zdefiniowania jej podtypów. Duże postępy osiągnięto w wyniku wprowadzenia podziału na objawy pozytywne, zwane też wytwórczymi oraz objawy negatywne.

Schizofrenia (ang. *schizophrenia*, SCH) jest poważnym, przewlekłym zaburzeniem psychicznym występującym u 0,5-1% populacji [6], zaliczanym do chorób złożonych [7] o skomplikowanym podłożu genetycznym i fenotypie. Dokładna etiopatogeneza schizofrenii nie została w pełni poznana. Współczesne klasyfikacje wyróżniają kilka podtypów choroby, ale najczęściej występuje postać paranoidalna. Dotychczas przeprowadzone badania sugerują wspólny udział czynników genetycznych oraz środowiskowych-

Obraz kliniczny choroby charakteryzuje duża złożoność oraz heterogenność objawów, które zmieniają się w czasie przebiegu choroby i w trakcie poszczególnych epizodów. Wśród typowych symptomów wyróżnia się: urojenia, omamy, dziwaczne i niespójne zachowanie,

wycofanie społeczne i apatia. W trakcie trwania choroby osobowość ulega rozpadowi, co powoduje brak spójności pomiędzy poszczególnymi sferami życia psychicznego człowieka (emocjonalną, wolicjonalną i intelektualną) [8]. Ponadto w przebiegu choroby może wystąpić również epizod depresyjny [9, 10].

Pierwsze objawy schizofrenii pojawiają się zwykle w okresie dojrzewania lub u młodych osób dorosłych. Początek choroby przypada u mężczyzn pomiędzy 15 a 24 r.ż., a u kobiet od 25 do 34 r.ż. [3]. Pomimo różnic wieku zachorowania, częstość występowania schizofrenii u mężczyzn i kobiet jest zbliżona. Ze względu na swój wczesny początek, choroba ma duże konsekwencje społeczne. Ponadto osoby dotknięte schizofrenią zwykle żyją krócej, co wynika między innymi z wyższego niż w populacji ogólnej (10%) ryzyka popełnienia samobójstwa [11].

Współczesne kryteria diagnostyczne schizofrenii zostały opublikowane w podręczniku „Diagnostyka i Statystyka Zaburzeń Psychiczych” (DSM-IV) w 1994 roku [13]. Równolegle stosowane są również kryteria systemu ICD-10 [14]. Według systemu ICD-10 wyróżniane są następujące podtypy schizofrenii: paranoidalny, katatoniczny, hebefreniczny (zdezorganizowany wg DSM-IV), nieodróżniony, rezydualny oraz prosty (bez odpowiednika według DSM-IV).

1.2. Zaburzenie afektywne dwubiegunowe

Pierwsze opisy depresji zawarte są w dziełach Hipokratesa, twórcy terminu „melancholia”. Jednostka chorobowa została po raz pierwszy opisana przez Aretajosa z Kapadocji. Charakterystyka schorzenia przedstawiona w wydanej w 1621 roku „Anatomii melancholii” jest zgodna z dzisiejszymi opisami osobowości pacjentów z zaburzeniem afektywnym jednobiegunowym (depresją nawracającą). Za prekursora nowoczesnej klasyfikacji chorób afektywnych uważany jest J.P. Falret, twórca szczegółowego opisu depresji, stanów mieszanych oraz pojęcia „*folie circularire*” (schorzenie z naprzemiennym występowaniem zespołów maniakalnych i depresyjnych) [1]. Jednocześnie E. Kraepelin, stworzył podstawy współczesnych koncepcji chorób afektywnych jako zaburzeń o przyczynach endogennych. Był także twórcą koncepcji psychozy maniakalno-depresyjnej jako jednostki nozologicznej. K. Leonhard wykazał w swoich badaniach, że cechy osobowości u osób z dwubiegunowym przebiegiem choroby różnią się w istotny sposób od cech osób z przebiegiem jednobiegunowym [1]. Dopiero w latach 60-tych XX wieku J. Angst i C. Perris niezależnie wprowadzili rozróżnienie zaburzeń afektywnych jedno- i

dwubiegunowych oraz wykazali istotne różnice genetyczne między nimi. Zaburzenia afektywne nie są jednorodnymi schorzeniami, ale grupami zaburzeń o różnym przebiegu, rokowaniu i prawdopodobnie odmiennej, złożonej patogenezie oraz przyczynach [1].

Zaburzenie afektywne dwubiegunowe (ang. *bipolar affective disorder*, BP), nazywane także psychozą maniakalno-depresyjną oraz chorobą afektywną dwubiegunową, charakteryzują cykliczne, następujące po sobie zmiany w nastroju, od depresji po epizody patologicznie podwyższonej aktywności (manii/hipomanii). Schorzenie występuje u 0,5-1,5% populacji [12]. W przebiegu choroby u niektórych pacjentów obserwuje się obecność objawów psychotycznych [13]. Na podstawie ciężkości przebiegu epizodów podwyższonego nastroju wyróżniono dwa podtypy choroby [12]. U osób, u których występują ciężkie i poważne epizody manii, rozpoznaje się typ I. Z kolei w typie II faza maniakalna ma łagodniejszy przebieg i nazywana jest hipomanią. Prócz stanów depresji i manii (hipomanii) u niektórych pacjentów mogą występować stany mieszane. W stanie mieszanym chorzy doświadczają równocześnie objawów typowych dla obu biegunów. Przykładowo, obserwowany jest obniżony nastrój przy jednoczesnej dużej aktywności. Występowanie stanów mieszanych uważane jest za szczególnie dokuczliwe dla pacjenta, trudne w leczeniu oraz jest najbardziej niebezpieczne dla życia [1, 14].

Schorzenie zwykle rozpoczyna się epizodem depresyjnym, co obserwowane jest zwłaszcza u kobiet. Epizod maniakalny może pojawić się dopiero po kilku latach. Nieleczony epizod depresyjny trwa około pół roku, natomiast maniakalny około czterech miesięcy. Nielezione schorzenie powoduje znaczące skutki społeczne oraz ekonomiczne. Niekorzystne efekty obejmują: samobójstwa, rozpad małżeństwa, utratę pracy, bankructwo, nadużywanie oraz stopniowe uzależnienie od substancji psychoaktywnych [3].

Postawienie diagnozy zaburzeń afektywnych dwubiegunowych jest skomplikowanym procesem. Główne utrudnienie stanowi występowanie obu biegunów w różnych proporcjach i sekwencji w przebiegu choroby. Co więcej, epizod hipomanii nietrudno pomylić z poprawą stanu zdrowia oraz zwiększeniem aktywności po epizodzie depresji. Przeoczenie tego faktu skutkuje błędną diagnozą depresji nawracającej, co uniemożliwia prawidłowe leczenie oraz profilaktykę drugiego biegunu, aż do wystąpienia objawów maniakalnych u pacjenta [15].

1.3. Genetyczne podłoże i patogeneza schizofrenii oraz zaburzenia afektywnego dwubiegunowego

1.3.1. Etiologia i patogeneza schizofrenii

Przyczyny schizofrenii nie zostały w pełni poznane. Dotychczas wykazano, że na wystąpienie schizofrenii wpływają zarówno czynniki genetyczne jak i środowiskowe. Można w tym przypadku mówić o genetycznej skłonności [6] do wystąpienia choroby.

Wśród czynników ryzyka, które nie ulegają dziedziczeniu wyróżnia się przedwczesne urodzenie oraz niską wagę urodzeniową [16], infekcje matki w okresie ciąży [17], niedotlenienie w okresie neurorozwoju [18], ekspozycję na promieniowanie jonizujące w dzieciństwie [19], urodzenie w okresie zimowym [20], niektóre rodzaje leków przyjmowanych przez matkę w okresie ciąży oraz podaż witaminy D [21]. Inni autorzy stwierdzili powiązanie między wystąpieniem schizofrenii a urodzeniem w określonej porze roku, temperamentem i charakterem [22]. Do środowiskowych zagrożeń zalicza się także niestabilną sytuację rodzinną oraz traumę w okresie dzieciństwa [23] a także emigrację [24, 25].

Znane są hipotezy wiążące zachorowanie na schizofrenię z wirusami oraz innymi czynnikami infekcyjnymi. Istnieje możliwość obecności wirusa w organizmie gospodarza w sposób bezobjawowy (latentny) przez całe lata. Następuje wówczas integracja wirusowego genomu z genomem jądrowym, powodując jednocześnie zmiany w komórkach bez ich uszkodzenia. Dodatkowo na powierzchni wirusowego kapsydu znajdują się receptory wspólne z niektórymi neuroregulatorami. Przebieg w postaci remisji i zaostrzeń oraz sezonowość występowania stanowią wspólne cechy schizofrenii oraz chorób wirusowych. Neurowirusy, jak wirus grypy, cytomegalii, Borna, czy ludzkie endogenne retrowirusy HERV (ang. *human endogenous retroviruses*) [1] mogą stanowić potencjalne czynniki zakaźne zaangażowane w rozwój SCH. Wyniki analiz z ostatnich lat wskazują na rolę HERV w patogenezie schizofrenii i zaburzeń afektywnych dwubiegunowych [26]. Proces chorobowy związany jest prawdopodobnie z agregacją białek kodowanych przez wspomniane wirusy w regionie hipokampa. Co więcej, niektóre leki, na przykład klozapina, hamują replikację retrowirusów *in vivo* [27]. Przeprowadzono analizy asocjacji między markerami *CD48* a pacjentami z diagnozą SCH oraz cukrzycy typu B w schizofrenii. Nie otrzymano statystycznie istotnych wyników, ale u młodszych pacjentów u których prócz schizofrenii występowała cukrzyca,

zaobserwowano pewien trend statystyczny, który może wskazywać dalsze kierunki badań [28].

Uważa się, że wśród neuroprzekaźników związanych z patogenezą schizofrenii dominującą rolę pełni dopamina (DA). Nasilenie, a niekiedy pojawienie się objawów psychotycznych, związane jest z obecnością agonistów receptorów DA, takich jak pochodne amfetaminy [8]. Natomiast klasyczne leki neuroleptyczne są antagonistami dopaminergicznymi. Na podstawie powyższych obserwacji sformułowano hipotezę dopaminową, która wiąże wystąpienie objawów schizofrenii z nadczynnością dopaminergiczną w układzie limbicznym. Ze względu na ograniczoną skuteczność neuroleptyków w leczeniu objawów negatywnych, współcześnie jedynie objawy pozytywne łączone są z nadmiarem DA w innych obszarach mózgu, takich jak kora przedczołowa. Z kolei obecność objawów negatywnych wiązana jest z obniżoną aktywnością dopaminy. Oprócz dopaminy innymi istotnymi neuroprzekaźnikami mogą być kwas gamma-aminomasłowy (GABA) i kwas glutaminowy (glutaminian). W schizofrenii zaobserwowano zmniejszoną aktywność GABA-ergiczną. Glutaminian jest obecny w szlakach istotnych dla schizofrenii, łączących hipokamp z neuronami piramidowymi kory mózgowej [3].

Istnieją również inne hipotezy powstawania schizofrenii niż dopaminowa. W 1977 roku zaproponowano tzw. model uwrażliwienia (ang. *vulnerability*). Jego twórca, Joseph Zubin, zakładał istnienie zwiększonej wrażliwości w okresie przedchorobowym, powstałej głównie na skutek działania składowych genetycznych, środowiskowych oraz osobniczych. Koncepcja ta wskazuje na istnienie czynników prowokujących i ochronnych [3, 29]. W późniejszych latach model uwrażliwienia został wykorzystany przez Neuchterlina i Dawsona w koncepcji uwrażliwienia i stresu oraz przez Ciompięgo (1994) w modelu biopsychospołecznym [30]. Wzajemne relacje między uwrażliwieniem, stresem i mediatorami (zdarzeniami losowymi, leczeniem, zdobywaniem umiejętności) decydują o wystąpieniu i przebiegu choroby [3].

W latach 80-tych sformułowano tzw. neurorozwojową koncepcję powstawania schizofrenii [31, 32], która sugerowała związek procesów zakłócających prawidłowy rozwój mózgu w okresie życia płodowego oraz bezpośrednio po urodzeniu, z późniejszym wystąpieniem choroby. Zgodnie z tymi założeniami procesy patogenetyczne poprzedzają pojawienie się pierwszych objawów nawet o kilkanaście lat [33, 34]. Czynnikiem niekorzystnie wpływającym na rozwój w okresie prenatalnym są: ekspozycja płodu na zakażenia bakteryjne i wirusowe matki (grypa, polio, różyczka, opryszczka), niedożywienie oraz traumatyczne przeżycia. Wpływ niedożywienia matki na ryzyko wystąpienia schizofrenii

analizowano badając liczbę przypadków choroby wśród osób urodzonych w Holandii w latach 1944-5, w czasie wielkiego głodu [33]. Niedotlenienie płodu wpływa na ekspresję genów *AKT1*, *BDNF*, *DTNBP1*, *GRM3*, *NOTCH4*, *PRODH*, *RGS4* i *NRG1*, które zaangażowane są w rozwój mózgu. Dlatego też wymienione geny stanowią potencjalne czynniki odpowiedzialne za pojawianie się objawów schizofrenii [35, 36]. Dzieci w okresie przed wystąpieniem objawów schizofrenii cierpiały z powodu zaburzeń zachowania, deficytów poznawczych, neuromotorycznych i językowych [34].

W latach 90-tych powstała koncepcja neurogenetyczno-lingwistyczna. Zaproponowany przez Crowa model wiązał dane filogenetyczne, neurolingwistyczne, genetyczne oraz kliniczne [37]. Zwrócił on uwagę, że zapadalność na schizofrenię nie maleje, pomimo zwiększonej śmiertelności oraz obniżonej płodności chorych. Wspomniane zjawisko sugeruje związek schizofrenii z procesem ewolucyjnie korzystnym. Na razie wspomniana hipoteza ma wartość czysto spekulatywną [3].

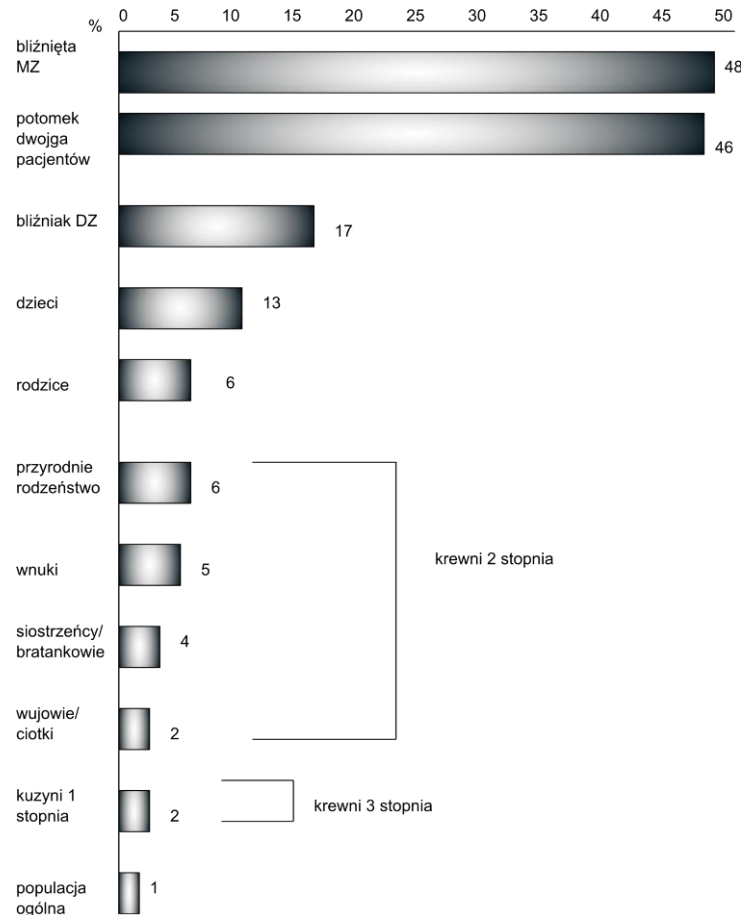
1.3.2. Genetyczne podłoże schizofrenii.

Schizofrenia występuje u około 1% populacji. Badania rodzin, bliźniąt oraz adopcyjne dowiodły, że czynniki genetyczne mają istotny udział w etiologii schorzenia. Odziedziczalność H, czyli odsetek wariacji fenotypu wyjaśniany przez czynniki genetyczne, jest szacowana na około 60%-90% [38-41]. Próby ustalenia dziedzicznego składnika etiologii choroby mają długą, ponad stuletnią historię.

Pierwsze koncepcje wiążące czynniki dziedziczne ze schizofrenią pochodzą z początku XX wieku. Początkowo zwracano uwagę na częstsze występowanie „*dementia praecox*” wśród rodzeństwa pacjentów w porównaniu z populacją ogólną [42]. W roku 1938 badanie na próbie tysiąca osób wykazało podwyższone ryzyko zachorowania wśród rodzeństwa oraz potomstwa pacjentów ze schizofrenią [43].

Badania rodzin, bliźniąt i adopcyjne wykazały wyraźną zależność pomiędzy ryzykiem zachorowania na schizofrenię a stopniem pokrewieństwa z pacjentem. W przypadku bliźniąt monozygotycznych, ryzyko wynosi prawie 50%. U bliźniąt dizygotycznych spada do 17%. U krewnych pierwszego stopnia ryzyko zachorowania wynosi od 6% do 13%. Wśród krewnych drugiego stopnia ryzyko wynosi mniej niż 5%, natomiast u krewnych trzeciego stopnia - około 2%. Gdy oboje rodzice chorowali na schizofrenię, to ryzyko zachorowania dziecka szacuje się na 46% (Rycina 1). Pomimo widocznej zależności między ryzykiem schorzenia a

stopniem pokrewieństwa, to u 63% chorych nie stwierdzono rodzinnego obciążenia schizofrenią [6, 43].



Rycina 1. Ryzyko zachorowania na schizofrenię w zależności do stopnia pokrewieństwa z osobą chorą. Na podstawie: [6].

Nieliniowy wzrost ryzyka zachorowania w zależności od stopnia pokrewieństwa sugeruje niemendlowski model dziedziczenia schizofrenii, wykluczając model jednogenny. Najbardziej słuszny wydaje się schemat oddziaływań wielu czynników dziedzicznych, na co wskazują wyniki analiz asocjacyjnych w skali genomu GWAS (ang. *Genome-Wide Association Studies*) [44].

Gen *DISC1* (ang. *disrupted in schizophrenia type 1*) był pierwszym, który analizowano w kontekście dziedziczenia schizofrenii. Badania rozpoczęto od analizy wielopokoleniowej szkockiej rodziny, u której obserwowano liczne zaburzenia psychiczne. Stwierdzono w ich wyniku związek translokacji na chromosomie 11 ze schizofrenią, zaburzeniem schizoafektywnym, zaburzeniem afektywnym dwubiegunowym i jednobiegunowym [45].

Tabela 1. Najważniejsze analizowane w ostatnich latach geny w schizofrenii oraz pełnione przez nie funkcje biologiczne

gen	funkcja
NRG1	Transmisja sygnału w trakcie oddziaływań między komórkami. Pełni istotną rolę we wzroście i rozwoju organów.
NDEL1	Zaangażowany w wiele procesów w tym: sygnalizację międzykomórkową, wzrost neuronów czy organizację cytoszkieletu
BDNF	Należy do rodziny genów zaangażowanych we wzrost neuronów. Zmniejszona ekspresja obserwowana w chorobie Alzheimera i Huntingtona. Może być zaangażowany w regulację odpowiedzi na stres oraz biologię zaburzeń nastroju.
COMT	Katalizuje transfer grupy metylowej pomiędzy S-adenozylometioniną a katecholaminami w tym dopaminą.
DAO	Dokładna biologiczna funkcja nieznana.
DDR2	Komunikacja komórek z ich otoczeniem.
NCAM1	Odpowiada za interakcję komórka-komórka oraz komórka-macierz w trakcie wzrostu i różnicowania. Istotne białko w trakcie rozwoju układu nerwowego.
NRCAM	Białko zaangażowane w adhezję neuron-neuron oraz sygnalizację w trakcie wzrostu stożka aksonu. W innych typach komórek pełni rolę w procesie sygnalizacji międzykomórkowej.
PLXNA2	Pełni rolę w trakcie rozwoju układu nerwowego.
ZNF804A	Dokładna biologiczna funkcja nieznana.
GRIN3A	Zaangażowany w fizjologiczne oraz patologiczne procesy zachodzące w centralnym układzie nerwowym.

Do najważniejszych genów w schizofrenii, które analizowano w ostatnich latach zaliczyć można: *NRG1* [46, 47], *BDNF*[48], *COMT* [49, 50], *DAO* [51], *DDR2* [52], *NCAM1*, *NRCAM* [53], *PLXNA2* [54], *ZNF804A* [55] i *GRIN3A* [56]. Opis funkcji poszczególnych genów zawarty jest w Tabeli 1.

1.3.3. Patogeneza zaburzenia afektywnego dwubiegunowego

Podobnie jak w przypadku schizofrenii, etiologia i patogeneza zaburzenia afektywnego dwubiegunowego (BP) nie została w pełni poznana. Patogeneza zaburzeń nastroju związana jest z nieprawidłowościami w układzie limbicznym, podwzgórzu i układzie siatkowatym. Zakłócenia dotyczą przekąźnictwa noradrenergicznego i serotoninoergicznego. Inne badania wskazują również na udział w procesie patogenezy przekąźnictwa dopaminergicznego, GABA-ergicznego oraz cholinergicznego [1].

Koncepcja katecholaminowa wiąże wystąpienie objawów maniakalnych z nadmiarem neuroprzekazników noradrenaliny i dopaminy, podczas gdy w depresji występuje niedobór wspomnianych substancji. Najważniejszym neuroprzekaznikiem mózgowym, związanym z patogenezą oraz leczeniem zaburzeń afektywnych, jest serotonina. Zaburzenia aktywności układu serotoninoergicznego występują w depresji i zaburzeniach lękowych, przy czym w depresji występuje niedobór neuroprzekaznika serotoniny. Leki przeciwdepresyjne hamują wychwytywanie zwrotne serotoniny [57].

U 30-60% chorych czynnikiem wywołującym epizod zaburzeń są przyczyny egzogenne. Czynniki te dzielone są na somatyczne oraz psychiczne. Wśród pierwszej grupy wyróżnia się między innymi: poród, zaburzenia hormonalne, urazy czaszki, zażywanie leków α -adrenolitycznych oraz doustnej antykoncepcji. Do czynników drugiej kategorii należą stresujące wydarzenia życiowe, takie jak rozwód, śmierć bliskiej osoby, zmiana miejsca pracy, emigracja, awans w pracy czy niepowodzenia materialne. Podobnie jak w przypadku schizofrenii wspomniane wydarzenia pełnią rolę zdarzeń wyzwalających dla pojawienia się epizodów depresji i manii (jak mediatory prowokujące w koncepcji uwrażliwienia SCH) [1].

A. Beck opracował kognitywny model depresji (tzw. triada depresyjna Becka), w którym założono wpływ negatywnego postrzegania własnej osoby na wystąpienie stanów depresyjnych. Pierwotne zaburzenia myślenia, objawiające się obniżoną samooceną, prowadzą do pojawienia się nastroju depresyjnego i lęku (zaburzenia wtórne). Model ten zakłada wzajemne oddziaływanie oraz indukcję zaburzeń pierwotnych i wtórnych, co może prowadzić do myśli i tendencji samobójczych oraz ocen nihilistycznych. Koncepcja triady depresyjnej Becka leży u podstaw psychoterapii poznawczej i jest coraz szerzej stosowana w leczeniu depresji [1, 58, 59].

Pewne typy osobowości predysponują do wystąpienia zaburzeń afektywnych. W przypadku BP są to: ekstrawersja (towarzyskość, impulsywność, nadmierna śmiałość), syntonizm (zdolność do rozumienia uczuć oraz pragnień innych ludzi) oraz cyklotymia (łagodne wahania nastroju i aktywności). U osób z zaburzeniem afektywnym jednobiegunowym takimi cechami są: introwersja (cecha osobowości polegająca na zwróceniu się do wewnątrz, ku własnym przeżyciom), schizotypia (osobowość, w której występuje oschłość, nieprzystępność, nerwowość, nieufność wobec ludzi i skłonność do izolacji) oraz osobowość melancholiczna.

1.3.4. Genetyczne podłoże zaburzenia afektywnego dwubiegunowego

Wiele badań stawiało sobie za cel określenie genetycznego podłoża zaburzenia afektywnego dwubiegunowego. Podobnie jak w przypadku schizofrenii uważa się, że schorzenie to jest wynikiem działania wielu genów, z których każdy ma częściowy wpływ na wystąpienie choroby. Odziedziczalność BP szacowana jest na około 60-85% [60].

Badania rodzin wskazują wyraźnie, że choroba występuje około dziesięć razy częściej u krewnych chorych niż w populacji ogólnej. Dodatkowo, u krewnych osób badanych z BP występuje około trzykrotnie wyższe ryzyko wystąpienia zaburzenia afektywnego

jednobiegunowego [12, 60]. Podtypy zaburzenia afektywnego dwubiegunowego mają częściowo odrębne podłoże genetyczne. Ryzyko wystąpienia typu II jest podwyższone u krewnych pacjentów z diagnozą II typu BP. Analogiczna sytuacja zachodzi w przypadku typu I [61]. Pomimo wspomnianych różnic, oba rodzaje schorzenia są zbliżone pod względem etiologii [62].

Geny kandydujące w BP związane są z neuroprzebiegiem, zwłaszcza dopaminergicznym i glutaminergicznym. Należą do nich: *DISC1* [63], *TPH2* (ang. *tryptophan hydroxylase 2*, hydrolaza tryptofanowa 2), *TPH1* [64], *NRG1* oraz *DAOA* [63]. Rytmy dobowe zaliczane są do istotnych procesów z punktu widzenia patogenezy BP. Ich zaburzenia, a głównie zaburzenia snu, mogą prowadzić do wystąpienia objawów klinicznych [65]. Zaproponowano związek wariantów genów *CLOCK* [66] oraz *BMAL1* [60] ze schorzeniem BP. Dodatkowo, wyniki analiz GWAS, które przeprowadzono na populacji niemieckiej, wskazały na związek z BP genu *DGKH* [67]. Z kolei ustalenia międzynarodowego konsorcjum Wellcome Trust Case-Control (<http://www.wtccc.org.uk/>) wskazują na istotną rolę genów *PALB2*, *DCNT5* oraz *NDUFAB1* [68], a wyniki metaanalizy wskazują na rolę genów *ANK3* oraz *CACNA1C* [69]. Inne badania potwierdziły również znaczenie genu *NCAN* [70] w patogenezie zaburzenia afektywnego dwubiegunowego.

1.4. Geny kandydujące analizowane w poniższej pracy

1.4.1. Gen DISC1

Zgodnie z informacjami zawartymi w bazie danych *Gene*, sekwencja *DISC1* występuje u człowieka w postaci 23 izoform, które oznaczone są literami alfabetu łacińskiego. Najdłuższa z nich, oznaczona jako L (ang. *long*) koduje białko o długości 854 aminokwasów, natomiast najkrótsza Es (ang. *extremely short*) koduje cząsteczkę złożoną z 369 aa. Wszystkie białka kodowane przez gen *DISC1* zlokalizowane są w cytoplazmie oraz w mitochondriach. Na etapie rozwoju embrionalnego oraz w wieku dojrzałym, *DISC1* jest zaangażowany w regulację neurogenezy hipokampa [71] oraz bierze udział w tworzeniu sieci mikrotubul. Ponadto bierze on rolę w regulacji aktywności *GSK3B* (ang. *Glycogen synthase kinase 3 beta*, syntaza 3B glikogenu) oraz poziomu *CTNNB1* (ang. *catenin (cadherin-associated protein), beta 1*). Reguluje on również ścieżkę przekazywania sygnałów AKT-mTOR, wpływając tym samym na tempo wzrostu neuronów. Oddziałując z innymi białkami

wpływa na wzrost neurytów i rozwój części korowej mózgu [72] oraz stanowi element wielu szlaków transdukcji sygnałów w komórkach [73].

1.4.2. Gen FAT1

U człowieka gen *FAT1* (ang. *FAT tumor suppressor homolog 1 (Drosophila)*) jest homologiem genu supresorowego guzów nowotworowych zidentyfikowanego w *Drosophila melanogaster*. Stanowi on ważny element kontroli proliferacji komórek w trakcie rozwoju. Białko kodowane przez ten gen należy do nadrodziny kadheryn, integralnych białek błony komórkowej. Wysoki poziom ekspresji genu obserwowany jest w nabłonku płodu, gdzie prawdopodobnie pełni funkcję adhezyjne i/lub receptora ścieżki przekazywania sygnałów. Postuluje się, że pełni on również rolę w procesach rozwoju oraz komunikacji komórkowej [72].

1.4.3. Gen PDE4B

Białko PDE4B należy do rodziny fosfodiesteraz cyklicznych nukleotydów (PDE). Fosfodiesteraza 4B katalizuje hydrolizę cyklicznego wiązania 3'5' fosforanowego monofosforanów adenozyliny/guanozyliny (cAMP lub cGMP). Fosfodiesterazy ulegają ekspresji praktycznie we wszystkich częściach organizmu, ale wykazują specyficzny rozkład w tkankach. Poszczególne enzymy z rodziny fosfodiesteraz zaangażowane są między innymi w wydzielanie hormonów, aktywację komórek odpornościowych oraz procesy związane z pamięcią i uczeniem się. U pacjentów ze schizofrenią oraz schorzeniem afektywnym dwubiegunowym obserwowana jest zmieniona aktywność białka kodowanego przez *PDE4B* [72].

1.4.4. Gen MTNR1A

Gen *MTNR1A* należy do rodziny receptorów melatoninowych. Spotykane są one głównie w mózgu oraz siatkówce i wykazują silne powinowactwo do białek Gi/G. Niższe poziomy ekspresji obserwowane są w nerkach, sercu, płucach i wątrobie. Regulują one szereg różnych procesów, takich jak kontrola rytmów dobowych, termoregulacja i ekspresja prolaktyny [72].

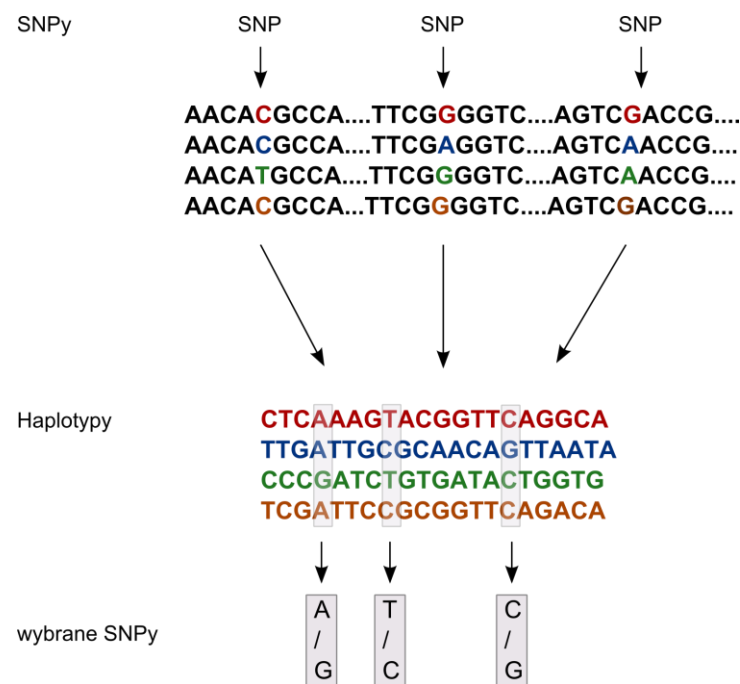
1.5. Analizy asocjacyjne

Pojęcie asocjacji genetycznej oznacza statystycznie istotną różnicę w częstości występowania alleli pomiędzy grupą osobników posiadających badaną cechę a grupą

kontrolną. Analizie można poddać nie tylko obecność/brak choroby, ale także cechy ilościowe takie jak ciśnienie, czy poziom cukru we krwi. Badania mają na celu powiązanie zmienności genetycznej z obserwowanym fenotypem. Umożliwia to określenie, czy dany allel ma charakter protekcyjny (tj. występuje częściej u kontroli), czy też wykazuje związek z ryzykiem. Badania prowadzone są na poziomie genów kandydujących oraz całego genomu.

1.5.1. Markery używane w analizach asocjacyjnych: SNP oraz CNVs

Polimorfizmy pojedynczych nukleotydów SNP (ang. *single nucleotide polymorphism*) są używane jako markery w analizach asocjacji genetycznych. Spośród wszystkich SNP analizowanego genu wybierane są markery pozwalające na jednoznaczne rozróżnienie między haplotypami występującymi w danym regionie, czyli tzw. SNPy „flagowe” (ang. *tagging SNP*). Haplotyp oznacza zestaw ściśle sprzężonych genów, zachowujących się jak pojedyncze allele. W wyborze optymalnego zestawu markerów do późniejszych analiz pomagają wyspecjalizowane algorytmy, takie jak Tagger, zaimplementowany w programie Haploview [74].



Rycina 2. Markery używane w analizach asocjacji (SNP) oraz ich związek z haplotypami. Na podstawie: [75].

Oprócz analiz SNP, możliwe jest również badanie zmian liczby kopii większych obszarów genomu (CNV ang. *copy number variation*). Powstają one na drodze mikroduplikacji lub mikrodelecji fragmentów genomu o wielkości od kilkuset do kilku tysięcy par zasad. Najnowsze badania wskazują na rolę CNV w genetycznej podatności na schizofrenię i BP, innych schorzeń neurorozwojowych, chorobę Leśniowskiego-Crohna oraz cukrzycę typu 2 [76, 77].

1.5.2. Badanie genów kandydujących typu *case-control*

W analizach typu *case-control* porównywane są częstości występowania alleli u osób posiadających badaną cechę (ang. *cases*) z grupą kontrolną (ang. *control*), która rekrutowana jest spośród niespokrewnionych ze sobą członków populacji. Dysponując wiedzą o rozkładzie alleli określa się, czy ma on charakter protekcyjny, czy też związany jest ze wzrostem ryzyka zachorowania. Geny do analiz wybierane są pod kątem potencjalnego związku z koncepcją etiologii schorzenia. W najprostszej postaci dokonuje się obliczenia częstości asocjacji u osób chorych i kontroli oraz określa się, czy różnica jest statystycznie istotna [78]. Wśród innych metod wyliczania asocjacji wyróżnia się test Fischera lub test trendu Cohrena-Armitrage'a. Chociaż opisywane podejście jest w wielu przypadkach prawidłowe, to może uniemożliwić znalezienie istotnych związków z nowymi, nieopisanymi wcześniej genami. Poszukiwanie nowych genów, które mogą mieć związek z daną cechą, odbywa się na drodze analiz asocjacyjnych na poziomie genomu (GWAS).

1.5.3. Analizy asocjacyjne na poziomie genomu

Analizy asocjacyjne na poziomie genomu pozwoliły na weryfikację wcześniejszych teorii dotyczących genetycznego podłoża chorób złożonych oraz potwierdzenie asocjacji poszczególnych genów z chorobą. Dzięki dużej liczbie SNP wymaganych do analiz GWAS (setki tysięcy SNP na próbkę o równomierniej dystrybucji w genomie), możliwe jest uchwycenie znacznego odsetka zmienności w badanej populacji [79]. Prócz badań zmienności, analizy GWAS pozwalają również na znajdowanie nowych genów zaangażowanych w etiologię schorzeń złożonych, czego przykładem jest opublikowane w 2011 roku studium dotyczące migreny [80].

Aby uniknąć nieprawidłowości w wynikach, zalecane jest następujące postępowanie [81, 82]:

- 1) Usunięcie rzadko występujących alleli (występujących u mniej niż 5% populacji) oraz usunięcie z badania osób, u których brakuje więcej niż 2% SNP.
- 2) Usunięcie SNP, które są niezgodne z prawem Hardy-Weinberga.
- 3) Usunięcie alleli przenoszonych niezgodnie z prawami Mendla w danych pochodzących od rodzin.
- 4) Sprawdzenie pokrewieństwa pomiędzy osobami ujętymi w badaniach, tzn. określenie dla pary osób odsetka wspólnych alleli oraz porównanie z odsetkiem między krewnymi i parami rodzic-potomek. W przypadku wykrycia osób blisko spokrewnionych należy w badaniu pozostawić tylko jedną osobę. Przyjmuje się, że analizy GWAS dotyczą osób niespokrewnionych.

Punkty 1-4 mają zastosowanie nie tylko w przypadku analiz asocjacji na poziomie genomu, ale stanowią również zestaw dobrych praktyk w analizach na poziomie populacji.

1.5.3.1. Najważniejsze wnioski z analiz GWAS w schizofrenii.

W przypadku schizofrenii wyniki analiz GWAS nie spełniły pokładanych w nich oczekiwań. Choć pierwsze analizy wskazywały na wieloczynnikowe podłoże schorzenia, to nie otrzymano pozytywnych asocjacji na poziomie istotności, która wymagana jest dla tego typu obliczeń [83]. Wyjątek stanowią markery genu *ZNF804A* [84]. Związek *ZNF804A* ze schizofrenią został potwierdzony w 2011 roku w badaniach GWAS, które przeprowadzono na populacji niemieckiej [85]. W 2009 roku opublikowano zakrojone na szeroką skalę analizy GWAS, które wskazały na asocjację schizofrenii z głównym kompleksem zgodności tkankowej MHC (ang. *major histocompatibility complex*) [86, 87], co zasugerowało związek schizofrenii z odmienną odpowiedzią immunologiczną. Meta-analiza wielu wyników GWAS, którą opublikowano w 2012 roku potwierdziła wcześniejsze doniesienia na temat MHC. Dodatkowo badania GWAS potwierdziły również istotność poprzednio poznanych genów kandydujących, takich jak *DISC1* czy *GRIN2B* [88].

Od niedawna do całogenomowych analiz asocjacyjnych zaczęto wykorzystywać kliniczne wymiary schizofrenii, a nie tylko porównanie pacjentów i osób kontrolnych. Jako cechę ilościową wybrano domeny: pozytywną, manii oraz negatywną/dezorganizacji, które wyodrębniono na podstawie testu LDPS (ang. *Lifetime Dimensions of Psychosis Scale*). Analizy regresji nie wykryły asocjacji istotnych na poziomie badań całogenomowych. Jednak autorzy wskazują, że geny wykazujące zależności zaangażowane były w neurorozwoj, neurotransmisję i neuroprotekcję [89].

Chociaż powszechne warianty genetyczne nie zostały potwierdzone w analizach GWAS, to nie można przekreślić ich roli w etiologii schizofrenii. Umiarkowany sukces GWAS w SCH może wskazywać na ogromną heterogenność tego schorzenia zarówno na poziomie genetycznym, jak i klinicznym, co jest zgodne z wynikami poszukiwań sub-fenotypów. Wiele genów kandydujących wydaje się mieć związek z etiologią więcej niż jednego schorzenia psychiatrycznego i w każdym z nich prowadzą do wystąpienia odmiennych objawów klinicznych. Niewiele chorób ma równie złożone podłoże genetyczne co schizofrenia i prawdopodobnie wiele czynników zostanie jeszcze odkrytych [45]. Co więcej wydaje się, że wyniki analiz GWAS wyjaśniają jedynie część zmienności genetycznej, która odpowiedzialna jest za wystąpienie oraz nasilenie schorzenia [44].

1.5.3.2. Najważniejsze wnioski z analiz GWAS w schorzeniu afektywnym dwubiegunowym.

W wyniku szeregu analiz GWAS przeprowadzonych na danych pochodzących od grupy pacjentów z diagnozą BP wyciągnięto następujące wnioski [90] :

- Jest to schorzenie poligenowe, co może oznaczać niewielką rolę każdego z genów z osobna. Dlatego chorzy są nosicielami większej liczby alleli związanych z ryzykiem w porównaniu z osobami zdrowymi. Prawdopodobieństwo zachorowania rośnie proporcjonalnie do ilości tych alleli.
- Najlepsze wyniki analiz GWAS nie zawsze wskazują jako najbardziej istotne geny, które poprzednio analizowano.
- U części alleli obserwowane jest zjawisko heterogeniczności. W takich przypadkach różne allele danego genu mogą prowadzić do wystąpienia danego fenotypu. Heterogeniczność może stanowić istotny czynnik pojawienia się chorób złożonych, w tym schorzenia afektywnego dwubiegunowego, co zaobserwowano w przypadku genu *ANK3* [91, 92].
- Analizy GWAS w BP, podobnie jak w przypadku innych fenotypów złożonych, wykazały że znalezione warianty są jedynie małym odsetkiem całkowitej zmienności genetycznej. Wspomniane zjawisko nosi nazwę brakującej dziedziczności [93].

Analizy GWAS należy więc traktować jako początek drogi wiodącej do zrozumienia złożonych fenotypów. Dopiero poprzez powiązanie analiz GWAS z badaniami środowiskowymi możliwe będzie uzyskanie pełniejszego obrazu. W analizach chorób złożonych można również używać subfenotypów, co daje obiecujące wyniki w badaniach nad

rakiem piersi [94]. Pozwala to na zmniejszenie heterogenności nie tylko fenotypu, ale również genotypu. Takie podejście zalecane jest również w analizach *case-control* [93].

1.5.3.3. GWAS w obu schorzeniach

Analiza GWAS przeprowadzona na grupie 3322 pacjentów oraz 3587 osób kontrolnych z obszaru Europy wykazała, że tysiące powszechnie występujących alleli stanowi czynnik ryzyka dla schizofrenii oraz schorzenia afektywnego dwubiegunowego. Wspomniany komponent genetyczny, chociaż złożony z wielu genów, w niewielkim stopniu wpływa na wystąpienie objawów wspomnianych schorzeń. Nie znaleziono związku czynnika z innymi chorobami, które nie mają podłoża psychicznego [87]. W innym badaniu przeprowadzonym na grupie 741 pacjentów ze schizofrenią, 1575 z BP oraz 1938 z depresją, stwierdzono asocjację SNP **rs6484218** z podtypem II schorzenia afektywnego dwubiegunowego. Marker ten jest zlokalizowany w sąsiedztwie genu *ADM* (ang. *adrenomedullin*). Jednocześnie wykazano plejotropowe działanie genu *NPAS3*, który łączono już wcześniej ze schizofrenią, w powiązaniu ze schorzeniem afektywnym dwubiegunowym [95]. Analiza z 2011 roku potwierdziła, że *loci* istotne na poziomie wymaganym przez GWAS przekraczają tradycyjne granice między chorobami w przypadku *ZNF804A*, *CACNA1C* czy regionu *MHC* [71].

W 2009 roku, w czasopiśmie *Molecular Psychiatry*, opublikowano pracę sugerującą zasadność jednoczesnego przeprowadzania analiz całogenowych GAS (ang. *gene-wide analyses*) oraz GWAS. Dodatkowe badania, które koncentrują się na genach a nie na SNP, mogą ułatwić identyfikację asocjacji w przypadku wystąpienia kilku sygnałów w wynikach GWAS [96].

1.5.4. Statystyczne wyzwania analiz asocjacyjnych

Wyniki analiz GWAS, które opisane zostały w poprzednich paragrafach, wymagały zgromadzenia danych od tysięcy pacjentów oraz osób kontrolnych. Dodatkowo wykonane zostało genotypowanie tysięcy markerów w celu maksymalnego pokrycia genomu. W każdym badaniu wskazano na jeden lub maksymalnie na kilka istotnych markerów. W trakcie analiz GWAS oraz asocjacji typu *case-control* konieczne jest przeprowadzenie szeregu obliczeń, co wymaga stosowania korekcji dla wielokrotnego testowania.

1.5.5. Zalety i ograniczenia metod

Właściwy dobór pacjentów oraz grupy kontrolnej wpływa w znaczący sposób na prawidłowość i wiarygodność wyników analiz asocjacyjnych na poziomie populacji. Z tego

powodu wymagane jest sprawdzenie struktury badanej populacji na wstępnych etapach analiz, gdyż homogenne grupy pacjentów pozwalają na uzyskanie wyników najwyższej jakości. Przed przystąpieniem do obliczeń należy sprawdzić, czy w populacji nie zachodzi tzw. stratyfikacja (ang. *population stratification*) lub domieszka populacji (ang. *population admixture*). Zjawisko stratyfikacji dotyczy różnic w częstości występowania alleli, które nie mają związku z różnicami pomiędzy pacjentami a grupą kontrolą, ale z obecnością podgrup lub subpopulacji. Powoduje to uzyskanie fałszywie pozytywnych wyników analiz i wyciąganie nieprawidłowych wniosków. Drugi problem stanowi zjawisko domieszki, w którym obserwujemy krzyżowanie się osobników z poprzednio rozdzielonych populacji. Powoduje to włączenie do populacji nowych genotypów oraz wydzielenie się nowych linii genetycznych. Aby zminimalizować wpływ struktury populacji na wyniki, należy zbierać dane z możliwie najbardziej homogennej grupy. W dobie dostępności wysokoprzepustowego genotypowania SNP możliwe jest wykrycie opisywanych problemów poprzez metody redukcji wymiarowości, takie jak analiza głównych składowych PCA (ang. *principal component analysis*) [97].

Analizy asocjacyjne prowadzone na poziomie rodzin nie są dotknięte problemami wynikającymi ze struktury populacji. Badania prowadzi się w nich na grupach trzyosobowych obejmujących osobę chorą oraz rodziców. Nie stosuje się w tym przypadku grupy kontrolnej. Wyzwanie stanowi w tym przypadku rekrutacja odpowiedniej liczby osób do badania.

Złożoność analizowanego fenotypu stanowi dodatkową trudność, która nie jest związana ze strukturą i własnościami populacji. Z tego powodu analizy genetyczne wymagają rygorystycznego przestrzegania kryteriów diagnostycznych. Jednocześnie postulowane jest również badanie endofenotypów [98], czyli biologicznych markerów współdziedziczonych z chorobą. Inną opcję stanowi analiza podgrup symptomów klinicznych, zwanych też wymiarami), co dokładniej zostało opisane w dalszej części niniejszej pracy.

1.6. Kwestionariusz OPCRIT

OPCRIT (ang. *The Operational Criteria Checklist*) [99] jest kwestionariuszem złożonym z 90 pytań, zwanych itemami (ang. *items*), opisujących objawy psychotyczne i afektywne. Prócz informacji o obecności oraz natężeniu symptomów klinicznych, kolekcjonowane są również dodatkowe dane kliniczno-demograficzne, takie jak: wiek zachorowania, rodzinne obciążenie chorobami, czy też używanie substancji psychoaktywnych przed zachorowaniem. Odpowiedź na każde z pytań jest kodowana w sposób numeryczny. Kwestionariusz OPCRIT

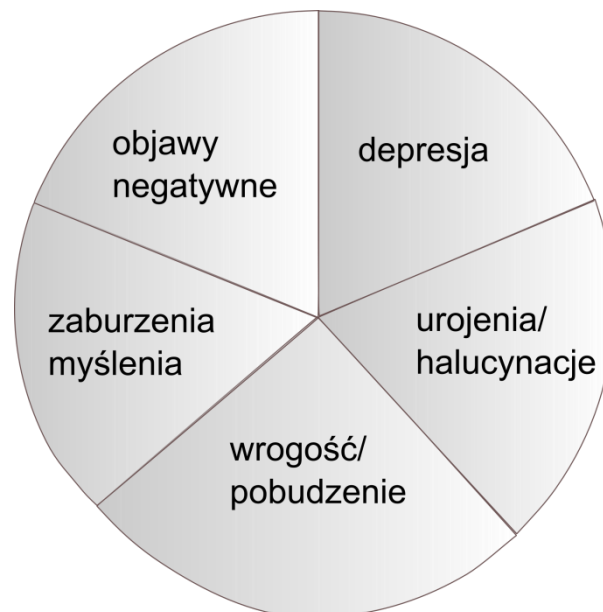
został sprawdzony jako wiarygodne, szybkie i wygodne narzędzie diagnostyczne w psychiatrii [100]. Farmer sugerowała dodatkowo [101], aby w trakcie zbierania informacji klinicznych brać pod uwagę możliwie najdłuższy badany okres życia pacjenta. Objawy wykorzystane w niniejszej pracy oparto o kwestionariusze szpitalne, używane w opublikowanej wcześniej pracy doktorskiej [102].

1.7. Wymiary kliniczne

Ze względu na skomplikowany fenotyp chorób złożonych oraz rozległe granice pojęcia schizofrenii i psychoz schizofrenicznych [1] wprowadzono podział na podgrupy objawów, zwane wymiarami, które pozwalają na łączenie pacjentów w bardziej jednorodne grupy. Podział został dokonany w oparciu o praktykę kliniczną i dane z OPCRIT lub innych testów diagnostycznych oraz wykorzystanie metod redukcji wielowymiarowości i złożoności danych.

1.7.1. Wymiary kliniczne schizofrenii

Podział pacjentów na bardziej homogenne grupy pozwala na lepsze usystematyzowanie skomplikowanego obrazu schorzenia. Na podstawie dotychczasowych analiz wyróżniono następujące wymiary schizofrenii: depresyjny, negatywny, pozytywny/urojeniowy, dezorganizacyjny i maniackalny [103-106].



Rycina 3. Wymiary kliniczne schizofrenii, na podstawie: [3].

Niektórzy badacze sugerują, że złożoność schizofrenii oraz psychoz wymaga wprowadzenia oprócz głównych wymiarów również mniejszych podwymiarów [107].

Włączając do analiz zmienne, które opisują nie tylko objawy choroby, ale także około związany z używaniem substancji psychoaktywnych [108].

1.7.2. Wymiary kliniczne schorzenia afektywnego dwubiegunowego.

Fenotyp schorzenia afektywnego dwubiegunowego jest mniej złożony niż w przypadku schizofrenii. W strukturze wymiarów brak jest zbiorów zbudowanych z objawów negatywnych, wytwórczych i dezorganizujących [105, 109, 110]. W niektórych przypadkach obserwowane są symptomy psychotyczne [111]. Wśród pacjentów, u których obserwowano objawy psychotyczne zmiany w strukturze mózgu przypominają bardziej zmiany obserwowane w schizofrenii, niż u pozostałych pacjentów z BP [112]. Dlatego analiza wyników funkcjonalnego neuroobrazowania oraz fenotypów pośrednich powinna ułatwić analizy asocjacji i może prowadzić do nowych odkryć. Wspomniane podejście umożliwiło między innymi określenie zależności między genem *COMT* a psychozą [112, 113].

2. Cel pracy i hipotezy

Cel pracy

- ➔ Określenie struktury wymiarów w schizofrenii i chorobie afektywnej dwubiegunowej w grupie klinicznej, rekrutowanej z terenów Wielkopolski. Ewaluacja nowego sposobu skalowania OPCRIT oraz wyboru zmiennych do analiz bazujących wyłącznie na kryteriach statystycznych.
- ➔ Zbadanie asocjacji między zidentyfikowanymi wymiarami, a wybranymi genami kandydującymi. Porównanie wyników uzyskanych za pomocą analizy cechy ilościowej oraz testu Kruskala-Wallisa.
- ➔ Zastosowanie metod uczenia maszynowego w celu rozróżnienia fenotypu schizofrenii i schorzenia afektywnego dwubiegunowego na podstawie wymiarów klinicznych.
- ➔ Określenie obecności/braku danej grupy objawów na podstawie kwestionariusza OPCRIT przy pomocy uczenia maszynowego.
- ➔ Użycie czynników klinicznych i demograficznych do prognozowania ryzyka wystąpienia danej grupy objawów.

Hipotezy

- ➔ Konstrukcja matrycy do analiz redukcji wymiarowości, która będzie oparta wyłącznie na podstawie wskazań statystycznych powinna zapewnić powstanie struktury klinicznie sensownej.
- ➔ Znaczne nałożenie podłoża genetycznego schizofrenii i schorzenia afektywnego dwubiegunowego uniemożliwia rozróżnianie tych schorzeń metodami uczenia maszynowego w oparciu wyłącznie o dane genetyczne. Brak jest również danych dotyczących stosowania wymiarów klinicznych w podobnych analizach. Analizy redukcji wymiarowości powinny umożliwić powstanie fenotypu o mniej złożonym charakterze oraz powstanie silniejszych modeli.

3. Materiały i metody

3.1. Grupa badana

Dane użyte w poniższej pracy pochodzą od osób zrekrutowanych w Klinice Psychiatrii Dorosłych, Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Pacjenci podpisali zgodę na udział w badaniu, a lokalna komisja etyczna zaakceptowała projekt.

W bazie danych zdeponowano wyniki kwestionariusza OPCRIT dla 1423 pacjentów z diagnozą schizofrenii, schorzenia afektywnego dwubiegunowego oraz depresji. Wszyscy pacjenci zostali zrekrutowani spośród osób hospitalizowanych w klinice (ang. *inpatients*). Dane od osób z depresją nie zostały wykorzystane w projekcie. Do dalszych analiz wybrano: 443 pacjentów z diagnozą schizofrenii oraz 499 osób z diagnozą BP; w tym 427 mężczyzn i 515 kobiet. Średni wiek zachorowania wynosił 27,91 (SD=11,88). Dane genetyczne dostępne były dla 920 osób (503 ze schizofrenią; 417 z chorobą afektywną dwubiegunową). W chwili rekrutacji pacjenci mieli średnio 37,83 lat (SD=14,32). Tabela nr 2 przedstawia charakterystykę badanej populacji.

Tabela 2. Populacja badana, opublikowana w [114].

	schizofrenia		Schorzenie afektywne dwubiegunowe		Grupa połączona	
	mężczyźni, n= 218	kobiety, n=225	mężczyźni, n=209	kobiety, n=290	mężczyźni, n=427	kobiety, n=514
Średni wiek zachorowania	23	24	30	27	27	27
Rodzinne obciążenie schizofrenią i innymi schorzeniami	Obecne u 41% of pacjentów	Obecne u 45% of pacjentów	Obecne u 50% of pacjentów	Obecne u 56% of pacjentów	Obecne u 47% of pacjentów	Obecne u 51% of pacjentów
średni czas trwania najdłuższego w tygodniach	26	19	27	21	21	21
pojedynczy epizod z całkowitą remisją	13%		6%		9%	
wiele epizodów z całkowitymi remisjami	13%		65%		40%	
wiele epizodów z niecałkowitą remisją	37%		23%		30%	
przebieg chroniczny	15%		4%		9%	
przebieg chroniczny z wycofaniem społecznym	17%		1%		9%	

Ostateczna diagnoza stanowiła konsensus między dwoma lekarzami psychiatrii z Kliniki Psychiatrii Dorosłych AM w Poznaniu, w oparciu o ustrukturalizowany wywiad SCID zgodnie z wytycznymi DSM-VI oraz ICD-10.

3.2. SNP analizowane w ramach analiz asocjacji

W niniejszej pracy przeanalizowano, czy istnieje istotna asocjacja między markerami *DISC1* (39 markerów), *FAT1* (14 markerów), *PDE4B* (37 markerów), *AHL1*, *MTNR1* (6 markerów), *BRD1*, *NRG1*, *CUX1* a oznaczonymi wymiarami klinicznymi. Dane genetyczne dla *DISC1* oraz *FAT1* dostępne były zarówno dla populacji schizofrenii, jak i schorzenie afektywnego dwubiegunowego. W przypadku markerów *PDE4B* oraz pozostałych genów kandydujących dane zebrano tylko dla grupy schizofrenii. SNP zostały wybrane na podstawie wyników oraz sugestii innych grup badawczych (*FAT1*, *DISC1*[115, 116], *PDE4B* [117]). Badania *case-control* dla wspomnianych markerów zostaną wykorzystane w analizach będących częścią cyklu habilitacyjnego dr Piotra Czernieckiego. Tabele 3-5 przedstawiają dokładny opis analizowanych markerów.

Tabela 3. Markery genów *FAT1* oraz *MTNR1A* analizowane w pracy.

#SNP rs#	lokalizacja	gen	funkcja	zmiana aminokwasu	pozycja aminokwasu	Min MAF	Max MAF
rs11721818	chr4:187477320	MTNR1A	Promotor	-	-	0,348837	0,5
rs4862709	chr4:187478852	MTNR1A	Promotor	-	-	-	-
rs6553013	chr4:187484871	MTNR1A	Promotor	-	-	-	-
rs4862718	chr4:187500888	FAT1	Downstream	-	-	0,150943	0,490385
rs7683023	chr4:187501388	FAT1	Downstream	-	-	0,2	0,482143
rs2306987	chr4:187516655	FAT1	Intron	-	-	0,290909	0,395349
rs1298865	chr4:187516880	FAT1	Egzon kodujący	S/S	4367	0,174699	0,45
rs2306990	chr4:187518976	FAT1	Intron (boundary)	-	-	0,148936	0,478723
rs10009030	chr4:187521037	FAT1	Intron (boundary)	-	-	0,144578	0,445122
rs2637777	chr4:187525020	FAT1	Egzon kodujący	S/A	3554	0,174699	0,435714
rs2584345	chr4:187527818	FAT1	Intron	-	-	0,05	0,457447
rs9991886	chr4:187535219	FAT1	Intron	-	-	0,018293	0,186747
rs328437	chr4:187548663	FAT1	Intron	-	-	-	-
rs328438	chr4:187548829	FAT1	Intron	-	-	0	0,141304

Tabela 4. Markery genu *DISC1* analizowane w pracy.

#SNP rs#	lokalizacja	gen	funkcja	zmiana aminokwasu	pozycja aminokwasu	Min MAF	Max MAF
rs1630250	chr1:231664203	TSNAX	Promotor	-	-	0,218182	0,430233
rs1615409	chr1:231683417	TSNAX	Intron	-	-	-	-
rs766288	chr1:231693688	TSNAX	Intron	-	-	0,342593	0,413462
rs4658879	chr1:231742575	TSNAX-DISC1	Intron	-	-	0,194805	0,469512
rs1025526	chr1:231750641	TSNAX-DISC1	Intron	-	-	0,069767	0,330357
rs1030711	chr1:231755461	TSNAX-DISC1	Intron	-	-	0,069767	0,345455
rs17804163	chr1:231808715	TSNAX-DISC1	Intron	-	-	0	0,126126
rs3738401	chr1:231830295	DISC1	Egzon kodujący	R/Q	264	0,087963	0,43617
rs1954175	chr1:231855410	DISC1	Intron	-	-	0,076923	0,447368
rs1538977	chr1:231897303	DISC1	Intron	-	-	0,11215	0,276596
rs11122330	chr1:231898591	DISC1	Intron	-	-	0,097561	0,204819
rs2492367	chr1:231906589	TSNAX-DISC1	5' UTR	-	-	0,085106	0,259036
rs12046794	chr1:231908755	TSNAX-DISC1	Intron	-	-	0,097561	0,222222
rs2812391	chr1:231911976	TSNAX-DISC1	Intron	-	-	0,226852	0,478571
rs2812393	chr1:231913673	TSNAX-DISC1	Intron	-	-	0,259259	0,5
rs1322784	chr1:231928935	DISC1	Intron	-	-	0,203704	0,409091
rs2759346	chr1:231948821	DISC2	Downstream	-	-	0,342342	0,489362
rs2759345	chr1:231948939	DISC2	Downstream	-	-	0,011364	0,419643
rs6675281	chr1:231954101	DISC1	Egzon kodujący	L/F	607	0	0,199074
rs2295959	chr1:231954682	DISC1	Intron	-	-	0,054054	0,353659
rs1984895	chr1:231962297	DISC1	Intron	-	-	-	-
rs1000731	chr1:231963491	DISC1	Intron	-	-	0,13253	0,469512
rs1000730	chr1:231963601	DISC1	Intron	-	-	0,268519	0,461039
rs16841582	chr1:231973634	DISC1	Intron	-	-	0,330357	0,490909
rs11122348	chr1:231984517	DISC1	Intron	-	-	0,125	0,240964
rs734551	chr1:231994433	DISC1	Intron	-	-	0,259036	0,5
rs999710	chr1:232010943	DISC1	Intron	-	-	0,318182	0,488636
rs2038636	chr1:232055249	DISC1	Intron	-	-	0,152439	0,489362
rs701158	chr1:232073128	DISC1	Intron	-	-	0,152439	0,472973
rs821581	chr1:232077072	DISC1	Intron	-	-	0,207317	0,482517
rs821597	chr1:232102264	DISC1	Intron	-	-	0,096386	0,445122
rs821663	chr1:232121222	DISC1	Intron	-	-	0,231481	0,461538
rs821616	chr1:232144598	DISC1	Egzon kodujący	S/C	704	0,069767	0,390909
rs1411771	chr1:232174775	DISC1	3' UTR	-	-	0,253012	0,468085
rs11122396	chr1:232175268	DISC1	3' UTR	-	-	0,045045	0,243902
rs12404162	chr1:232176029	DISC1	3' UTR	-	-	-	-
rs1411776	chr1:232177487	DISC1	Downstream	-	-	0,060976	0,180556
rs17825699	chr1:232188341					0,032407	0,272727

Tabela 5. Markery wybranych genów kandydujących, analizowane w pracy.

#SNP rs#	lokalizacja	gen	funkcja	zmiana aminokwasu	pozycja aminokwasu	Min MAF	Max MAF
rs1006737	chr12:2345295	CACNA1C	Intron	-	-	0,0609756	0,457447
rs17806986	chr17:8330044	NDEL1	Promotor	-	-	0,259494	0,433735
rs1064395	chr19:19361735	HAPLN4	Downstream	-	-	0,0857143	0,5
rs35753505	chr8:31474141					-	-
rs62510682	chr8:31494335	NRG1	Promotor	-	-	-	-
rs10503929	chr8:32613983	NRG1	Egzon kodujący	M/T	135	0	0,171171
rs7112229	chr11:46513249	AMBRA1	Intron	-	-	0,0512821	0,380435
rs11819869	chr11:46560680	AMBRA1	Intron	-	-	0,0487805	0,458042
rs138820	chr22:50164078	LOC90834	Downstream	-	-	0,097561	0,415663
rs4468	chr22:50167652	LOC90834	Downstream	-	-	-	-
rs138830	chr22:50175089	LOC90834	Promotor	-	-	0	0,149351
rs138841	chr22:50181960	LOC90834	Promotor	-	-	0,0714286	0,409639
rs138880	chr22:50218611	BRD1	Promotor	-	-	0,0714286	0,379518
rs4309482	chr18:52750469					0,253012	0,463415
rs2717001	chr2:58137618					0,171296	0,468085
rs1120303	chr5:58749931	PDE4D	Intron	-	-	0,0813954	0,345455
rs12142070	chr1:66267402	PDE4B	Intron	-	-	0,0046729	0,445783
rs1892346	chr1:66331478	PDE4B	Intron	-	-	0,268293	0,472222
rs7552762	chr1:66390171	PDE4B	Intron	-	-	0,0568182	0,125
rs12080701	chr1:66391109	PDE4B	Intron	-	-	0,0568182	0,118182
rs12088813	chr1:66407700	PDE4B	Intron	-	-	0,0181818	0,397727
rs3009872	chr1:66411400	PDE4B	Intron	-	-	0,272727	0,473214
rs11208776	chr1:66411733	PDE4B	Intron	-	-	0,0471698	0,470588
rs6421482	chr1:66419905	PDE4B	Intron	-	-	0,283951	0,475309
rs17452121	chr1:66436675	PDE4B	Intron	-	-	0,0071429	0,117021
rs2186122	chr1:66470206	PDE4B	Intron	-	-	0,331325	0,493007
rs1937451	chr1:66478644	PDE4B	Intron	-	-	0,128049	0,478723
rs1937450	chr1:66478840	PDE4B	Intron	-	-	0,209091	0,5
rs2455032	chr1:66496139	PDE4B	Intron	-	-	0,348837	0,427273
rs1354064	chr1:66503719	PDE4B	Intron	-	-	0,0974026	0,23494
rs7415930	chr1:66542888	PDE4B	Intron	-	-	0,202128	0,357143
rs11208793	chr1:66544547	PDE4B	Intron	-	-	0	0,290909
rs6588186	chr1:66547009	PDE4B	Intron	-	-	0,149351	0,47561
rs7412571	chr1:66584457	PDE4B	Intron	-	-	0,209091	0,446429
rs12140107	chr1:66591873	PDE4B	Intron	-	-	0,0185185	0,126126
rs596662	chr1:66603875	PDE4B	Intron	-	-	0,0787037	0,383117
rs2503177	chr1:66612504	PDE4B	Intron	-	-	0,168675	0,487805
rs2503166	chr1:66619578	PDE4B	Intron	-	-	0,244681	0,427711
rs937605	chr1:66626040	PDE4B	Intron	-	-	0,302326	0,375
rs583018	chr1:66646186	PDE4B	Intron	-	-	0,318182	0,455357
rs524897	chr1:66648903	PDE4B	Intron	-	-	0,159091	0,273585
rs526772	chr1:66649102	PDE4B	Intron	-	-	0,0272727	0,25
rs11208816	chr1:66663239	PDE4B	Intron	-	-	0,23494	0,472973
rs4320761	chr1:66710968	PDE4B	Intron	-	-	0,0363636	0,493976
rs17424885	chr1:66712122	PDE4B	Intron	-	-	0	0,162162
rs599381	chr1:66760560	PDE4B	Intron	-	-	0	0,297872
rs1040716	chr1:66777590	PDE4B	Intron	-	-	0,0662651	0,446809
rs2180335	chr1:66785930	PDE4B	Intron	-	-	0,150602	0,490909
rs910694	chr1:66796226	PDE4B	Promotor	-	-	0,13253	0,490991
rs472952	chr1:66800764	PDE4B	Intron	-	-	0,173913	0,487952
rs1321177	chr1:66815071	PDE4B	Intron	-	-	0,0609756	0,340426
rs2144719	chr1:66823134	PDE4B	Intron	-	-	0,0185185	0,409091
rs783038	chr1:66829764	PDE4B	Intron	-	-	0	0,223214
rs6465845	chr7:101671721	CUX1	Intron	-	-	0	0,225225
rs370760	chr7:101715222	CUX1	Intron	-	-	0	0,228916
rs9321501	chr6:135641417	AHI1	Intron	-	-	0,259259	0,48951
rs11154801	chr6:135739355	AHI1	Intron	-	-	0,0384615	0,414286
rs7750586	chr6:135827673	AHI1	Promotor	-	-	0,143519	0,396396
rs9647635	chr6:135841056	C6orf217	Intron	-	-	0,118182	0,336364
rs7739635	chr6:135997778	C6orf217	Intron	-	-	0,0601852	0,485714
rs9494332	chr6:136008608	C6orf217	Intron	-	-	0,253012	0,464286
rs1475069	chr6:136056234					0,0324074	0,481707
rs4835617	chr4:150976000					0,0909091	0,445122
rs12742393	chr1:162224586	NOS1AP	Intron	-	-	0,166667	0,480519
rs1344706	chr2:185778428	ZNF804A	Intron	-	-	0,0190476	0,47561
rs11721818	chr4:187477320	MTNR1A	Promotor	-	-	0,348837	0,5
rs4862709	chr4:187478852	MTNR1A	Promotor	-	-	-	-
rs6553013	chr4:187484871	MTNR1A	Promotor	-	-	-	-
rs328438	chr4:187548829	FAT1	Intron	-	-	0	0,141304
rs1615409	chr1:231683417	TSNAX	Intron	-	-	-	-
rs3738401	chr1:231830295	DISC1	Egzon kodujący	R/Q	264	0,087963	0,43617
rs1538979	chr1:231896868	DISC1	Intron	-	-	0,163636	0,373494
rs11122330	chr1:231898591	DISC1	Intron	-	-	0,097561	0,204819
rs17817356	chr1:231920221	TSNAX-DISC1	Intron	-	-	0,0060976	0,463964
rs2759345	chr1:231948939	DISC2	Downstream	-	-	0,0113636	0,419643
rs6675281	chr1:231954101	DISC1	Egzon kodujący	L/F	607	0	0,199074
rs1000730	chr1:231963601	DISC1	Intron	-	-	0,268519	0,461039
rs16841582	chr1:231973634	DISC1	Intron	-	-	0,330357	0,490909
rs999710	chr1:232010943	DISC1	Intron	-	-	0,318182	0,488636
rs821577	chr1:232067057	DISC1	Intron	-	-	0,152439	0,478723
rs821616	chr1:232144598	DISC1	Egzon kodujący	S/C	704	0,0697674	0,390909
rs821633	chr1:232148933	DISC1	Intron	-	-	0,339286	0,5
rs3737597	chr1:232172838	DISC1	3' UTR	-	-	0,0060241	0,22561
rs1411776	chr1:232177487	DISC1	Downstream	-	-	0,0609756	0,180556
rs17825699	chr1:232188341					0,0324074	0,272727

Wszystkie markery zachowały zgodność z prawem Hardego-Weinberga, co sprawdzono za pomocą odpowiednich opcji programu Haploview [74] w wersji 4.0. Dane do tabel zostały zebrane oraz uaktualnione przy pomocy serwera SNPper [118].

3.3. Metody poszukiwania wymiarów klinicznych

Wymiary kliniczne wykryto przy pomocy metod redukcji wymiarowości (ang. *dimensional reduction*). Redukcja oznacza poszukiwanie podgrup wysoce skorelowanych zmiennych, zwanych czynnikami lub składowymi, w zbiorze z dużą ilością zmiennych. W przeciwieństwie do analiz wariancji lub regresji nie wyróżnia się w tym przypadku zmiennej zależnej i niezależnej. Główną różnicę między poszczególnymi metodami stanowi założenie co do istnienia ukrytej struktury zmiennych i/lub klas ukrytych (ang. *latent classes*). W przypadku obecności struktury pierwotnie nieznannej w kolejnych etapach następuje jej analiza. W przeciwnym razie obliczenia mają za cel wyrażenie wielowymiarowych obserwacji przy pomocy małej liczby zmiennych i współrzędnych [119, 120]. Do pierwszej grupy należy m.in. analiza czynnikowa FA (ang. *factor analysis*), natomiast do drugiej analiza głównych składowych PCA.

3.3.1. Analiza głównych składowych (PCA)

Analiza PCA jest zalecana wyłącznie w celu zredukowania wielowymiarowości, bez badania potencjalnego modelu ukrytych zmiennych [121]. Metoda pozwala na poszukiwanie liniowych kombinacji zmiennych przy zachowaniu maksimum oryginalnej zmienności zbioru. Procedura ma na celu znalezienie nowych zmiennych, które nie są ze sobą skorelowane. Nowe zmienne, które wykazują maksymalną wariancję, są nazywane głównymi składowymi wektora losowego. Składowe stanowią współrzędne wektorów własnych (ang. *eigenvectors*) macierzy kowariancji, która wyliczana jest na wstępnych etapach obliczeń. Optymalna sytuacja zachodzi, gdy za pomocą małej liczby składowych możliwe jest opisanie maksymalnego odsetka pierwotnej wariancji [119]. Wymiar nowej przestrzeni (ilość składowych) ma związek z odsetkiem wariancji, która zostanie zachowana [120]. Pierwsza składowa wyjaśnia najwięcej zmienności, druga składowa jest wybierana tak, aby nie była skorelowana z pierwszą i wyjaśniała jak najwięcej pozostałej zmienności i tak dalej [122]. Analiza głównych składowych jest metodą nieparametryczną i nie wymaga normalnego rozkładu danych. Metoda PCA, chociaż służy wyłącznie do redukcji wymiarowości, to generuje wyniki podobne do analizy czynnikowej. W wielu pakietach statystycznych, na przykład SPSS, PCA jest domyślną metodą wyróżniania czynników, co może zmylić

użytkownika. Niektórzy kwestionują sens użycia PCA [121], jako metody służącej wyłącznie do redukcji wymiarowości, bez możliwości badania zmiennych ukrytych.

Aby określić, które zmienne z pierwotnego zbioru weszły w skład poszczególnych składowych należy sprawdzać ładunki (ang. *loadings*). Ładunki określają wkład poszczególnych zmiennych bazowych w tworzenie składowych głównych. Stanowią współczynnik korelacji między zmienną a czynnikiem i przyjmują wartości między -1 a 1. Zmienne, dla których wartości ładunków wynoszą 0,4 - 0,5 i więcej uważane są za tworzące składową. W interpretacji wyników analizy czynnikowej przyjmowane jest identyczne kryterium wartości ładunków [106, 121, 122].

3.3.2. Analiza czynnikowa (FA)

Wyniki działania procedury FA nazywane są czynnikami (ang. *factors*). Podobnie jak w przypadku PCA, metoda ta ma za zadanie pogrupowanie wysoce skorelowanych zmiennych oraz stworzenie mniejszej liczby wewnętrznie spójnych czynników. Algorytm stara się jednocześnie zachować maksymalny stopień pierwotnej zmienności [119, 122]. W przeciwieństwie do PCA, metoda FA rozróżnia dwa rodzaje wariacji: wspólną (dzieloną przez zmienną wraz z innymi) oraz swoistą (charakterystyczną dla danej zmiennej). W przypadku PCA analizowany jest wyłącznie pierwszy typ wariacji. W trakcie wyróżniania czynników wspólna wariancja dla danej zmiennej jest oddzielana od swoistej, natomiast błąd (różnica) ujawnia strukturę czynnikową. W wynikowym modelu pojawia się jedynie wariancja wspólna. W przypadku PCA dodanie kolejnej składowej nie wpływa na składowe już wyróżnione, natomiast w przypadku analizy czynnikowej dodanie kolejnego czynnika może zmienić i zdestabilizować całą strukturę [121, 122]. Pomimo różnic w założeniach i modelach matematycznych PCA i FA generują podobne modele.

Rotacja ułatwia interpretację wyników analizy czynnikowej. Po rotacji zmienna powinna wykazywać ładunek czynnikowy powyżej granicy istotności do jednego czynnika. Jeżeli zmienną wciąż charakteryzuje wysoki ($>0,4$) ładunek wobec dwóch lub więcej czynników, to należy przeanalizować macierz używaną do obliczeń. Strategie rotacji dzieli się na ortogonalne i skośne. Najczęściej stosowane rotacje ortogonalne to *varimax*, *quatrimax* i *equamax*, a powszechnie używane rotacje skośne to: *promax*, *directoblum* i *quatrimin*. Rotacja ortogonalna, w przeciwieństwie do skośnej, nie zakłada istnienia korelacji między czynnikami. W naukach przyrodniczych analizuje się niezależne, niepowiązane ze sobą zjawiska. Jeżeli korelacje między czynnikami nie przyjmują wysokich wartości, to modele z

zastosowaniem zarówno rotacji skośnej, jak i ortogonalnej są zbliżone [121, 122]. W przypadku rotacji skośnej nie ma metody preferowanej, takiej jak *varimax* w rotacji ortogonalnej, gdyż wszystkie metody generują podobne wyniki [123]. Biorąc jednak pod uwagę szybkość działania, to w przypadku dużych zbiorów zalecana jest metoda *promax* [122].

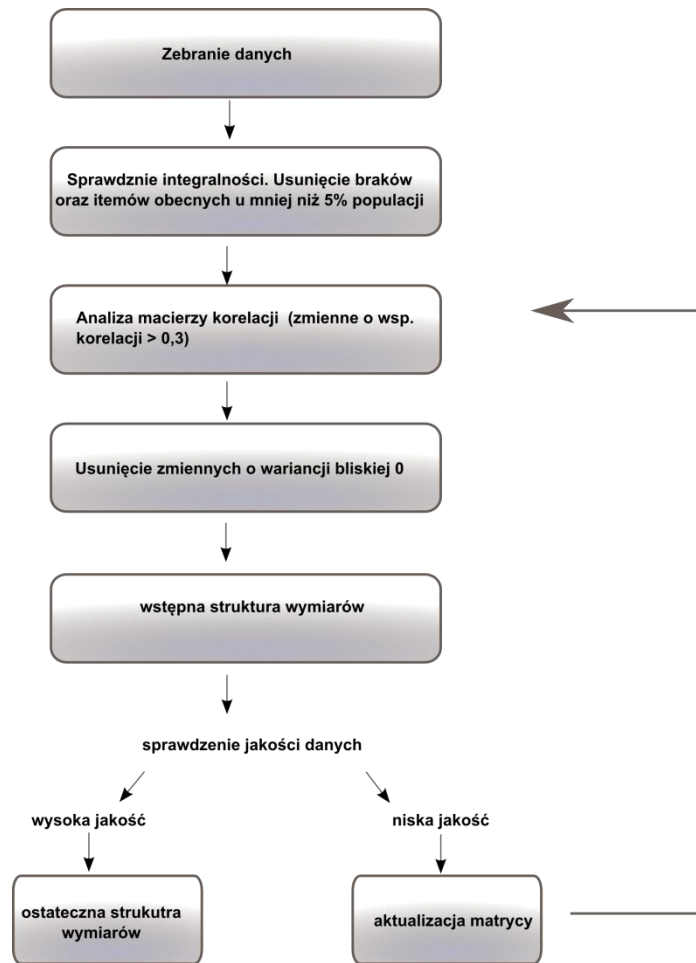
Zbiory wydzielone w wyniku analiz PCA i FA nazywane się odpowiednio składowymi lub czynnikami. W przypadku danych klinicznych w literaturze stosowane są określenia wymiar (ang. *dimension*) lub domena (ang. *domain*). W niniejszej pracy używane są oba określenia.

3.4. Przygotowanie danych do poszukiwania wymiarów klinicznych

3.4.1. Wybór matrycy danych do analiz metody oceny jakości matrycy.

Przeprowadzenie poprawnych analiz redukcji wymiarowości wymaga ustalenia na początku wstępnych parametrów, takich jak ilość czynników/składowych, których należy szukać (1) oraz zaplanowania matrycy danych (2).

- 1) W celu określenia ilości podgrup do wyróżnienia zastosowano dwa kryteria: wektorów własnych Kaisera oraz testu osypiska (ang. *scree test*). Zgodnie z założeniami Kaisera, wartości wektorów własnych podlegają sprawdzeniu. Pierwotny zbiór danych zostaje podzielony na tyle mniejszych, dla ilu wektorów zaobserwowano wartości wyższe od jedności [124]. Test osypiska stanowi graficzne przedstawienie wartości własnych (ang. *eigenvalues*). W pewnym miejscu wykresu następuje spadek, tzw. osypisko. Osypisko wskazuje liczbę wektorów do wydzielenia.
- 2) W celu wybrania zmiennych do dalszych analiz w pierwszym etapie obliczana jest macierz korelacji dla całej matrycy zmiennych. Z matrycy należy usunąć elementy, dla których współczynnik korelacji nie przekracza wartości 0,3 - 0,4 dla przynajmniej jednej/dwu innych. W przypadku analizy redukcji wymiarowości zmienne o niskiej wariancji zakłócają obliczenia i nie powinny wchodzić w skład matrycy [105, 125]. Zgodnie z zaleceniami [126, 127] zmienne występujące u mniej niż 5% badanej populacji należy wykluczyć bez względu na wartość korelacji.



Rycina 4. Etapy analizy czynnikowej i głównych składowych, za [114].

Po skonstruowaniu macierzy danych należy sprawdzić, czy spełnia ona kryteria statystyczne. W tym celu zastosowano współczynnik stosowności KMO (ang. *Kaiser-Meyer-Olkin measure of sample adequacy*). Zgodnie z sugestiami Kaisera [124] przyjęto graniczną wartość 0,6. W celu określenia wewnętrznej spójności znalezionych wymiarów zastosowano współczynnik wewnętrznej integralności zbioru alfa Cronbacha (ang. *Cronbach alpha coefficient of internal consistency*). Za akceptowalny poziom uznano 0,7 [110, 128]. Dodatkowo sprawdzono współczynnik STV, mierzący stosunek liczby zmiennych w macierzy użytej do obliczeń do wielkości próbki (ang. *subject-to-variables-ratio*) [121].

W dalszych częściach pracy przeprowadzono obliczenia z wykorzystaniem analizy głównych składowych oraz analizy czynnikowej. Zgodnie z sugestiami [121] w celu wyodrębniania czynników zastosowano algorytm maksymalnego prawdopodobieństwa ML (ang. *maximum likelihood*). Matryce bazowały na oryginalnym OPCRIT oraz przeskalowanym do wartości 0-3. Oprócz porównania działania metod redukcji wymiarowości, sprawdzono stabilność uzyskanej struktury w zależności od liczby

wydzielonych wymiarów. Granice ustalono zgodnie z zasadą, że minimalną wartość stanowiła liczba domen danego schorzenia opisywana w literaturze. Z kolei maksymalną ilość ustalono na podstawie kryteriów określania liczby składowych/czynników do wydzielenia, które omówiono powyżej.

3.5. Metody korekcji na wielokrotne testowanie

Omawiając metody liczenia generycznej asocjacji wspomniano o konieczności przeprowadzenia korekcji na wielokrotne testowanie. Podczas testowania dużej liczby hipotez oraz prowadzenia obliczeń w więcej niż dwóch grupach istnieje prawdopodobieństwo przypadkowego pojawienia się wyniku statystycznie istotnego. Ryzyko pojawiania wzrasta wraz z liczbą przeprowadzonych testów. Pakiety statystyczne umożliwiają zastosowanie rozmaitych metod korekcji. Ze względu na ograniczenia objętościowe, poniżej opisane zostaną wyłącznie podejścia stosowane w niniejszej pracy.

Poprawka Bonferroniego

Najbardziej konserwatywna i jednocześnie najprostsza z metod. Polega na pomnożeniu otrzymanych wartości istotności przez liczbę badanych hipotez lub porównanych grup [119]. Jest to podejście coraz rzadziej używane.

Metoda Holma-Sidak

Równanie Sidaka pozwala na określenie wartości istotności α dla danego testu, aby zachować istotność wyniku na poziomie 0,05 przy wielokrotnym testowaniu. Szukaną zmienną w równaniu (1) oznaczono jako $\alpha(WT)$, za [129].

$$\alpha(WT) = 1 - (1 - \alpha)^{1/x} \quad (1)$$

FDR

Określenie spodziewanego odsetka wyników fałszywie pozytywnych FDR (ang. *false discovery rate*) stanowi jedną z zalecanych metod korekcji. Procedura wylicza spodziewany odsetek odrzuconych hipotez zerowych w przypadku, gdy nie należało ich odrzucać. Tabela nr 6 przedstawia niezbędny etap podczas określania istotności wyniku.

Tabela 6. Liczba błędów popełnianych w trakcie testów. Oznaczenie: N- brak wykrycia; D- wykrycie; T- prawdziwy wynik; F- fałszywy wynik; m- liczba analizowanych hipotez [130].

	zachowania H0	odrzućcenie H0	suma
prawdziwe H0	TN	FD	T0
fałszywe H0	FN	TD	T1
suma	N	D	m

Na podstawie tabeli określa się liczbę popełnianych błędów. Wzór (2) ilustruje sposób wyliczania statystyki FDR.

$$FDR = \left(\frac{FD}{D}\right) \quad (2)$$

Przewagą opisywanego podejścia w stosunku do poprawki konserwatywnej Bonferroniego jest analizowanie wartości p otrzymanych w wyniku wielokrotnego testowania, a nie ilości wykonanych porównań [131].

Test U Manna-Whitneya-Wilcoxon

Nieparametryczny odpowiednik testu t-Studenta, określający istotność różnic między analizowanymi parami wartości zmiennych. Bywa zalecany jako alternatywa korekcji Tukeya, stosowanej w ANOVA [132-135]. Wartość statystyki wyliczana jest ze wzoru:

$$U1 = R1 - \left(\frac{n1(n1+1)}{2}\right) \quad (3)$$

Gdzie: R1- suma rang w pierwszej analizowanej parze (na przykład genotypie), n1- wielkość analizowanej próbki. Wartość U jest wyliczana dla każdej z par, co pozwala na określenie, który z czynników (na przykład genotyp) ma największy wpływ.

3.6. Klasyfikatory uczenia maszynowego z nadzorem

Metody uczenia maszynowego z nadzorem (ang. *supervised machine learning*) to matematyczne formuły służące do przewidywania wartości zmiennej bazując na wartości innej zmiennej lub zmiennych. Element, którego wartość ma być prognozowana określany jest jako zmienna zależna lub objaśniana. Komponent, na podstawie którego przeprowadza się predykcję to zmienna niezależna, zwana też zmienną objaśniającą lub predykatorem. Wartości zmiennej zależnej nazywa się klasami, natomiast algorytm umożliwiający ich określenie klasyfikatorem.

Metody uczenia maszynowego są powszechnie stosowane między innymi w ekonomii (ocena ryzyka kredytowego), bioinformatyce (przewidywanie struktury przestrzennej białek, poszukiwanie genów w nieznanym genomie oraz określanie ich elementów), diagnostyce medycznej (określanie rodzaju guza na podstawie zdjęć radiologicznych, stwierdzenie obecności/braku danej choroby na podstawie wybranych objawów/pomiarów) oraz w przewidywaniu pogody. Dostępne implementacje algorytmów obejmują takie programy, jak Weka [136], pakiety R [137] czy MATLAB.

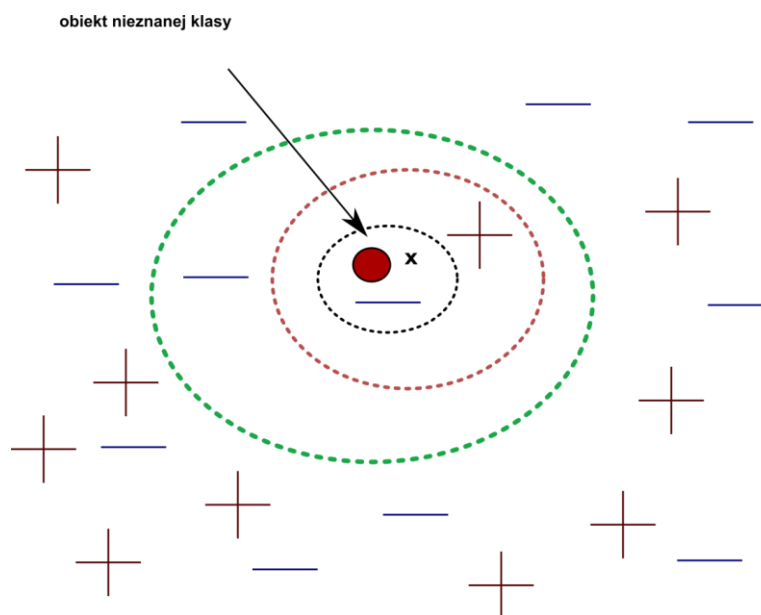
W niniejszej pracy wykorzystano klasyfikator k-najbliższych sąsiadów, drzewa decyzyjne, naiwny klasyfikator Bayesa oraz maszynę wektorów nośnych SVM (ang. *supported vector machines*). Wybierając algorytmy dla celów obliczeń oparto się na zestawieniu dostępnym w czasopiśmie Bioinformatics [138] oraz publicznie dostępnych kursach [139-142]. Dla najbardziej obiecujących modeli zostaną zaimplementowane w przyszłości sieci neuronowe NN (ang. *neural networks*).

3.6.1. Klasyfikator k-najbliższych sąsiadów

Klasyfikator k-najbliższych sąsiadów należy do najprostszych metod uczenia maszynowego. Klasyfikacja nowego obiektu następuje na podstawie odległości od poszczególnych klas, zaś jeden z parametrów stanowi rodzaj odległości, przy czym zwykle zalecane jest zastosowanie odległości Euklidesa. Drugi istotny parametr stanowi wartość k , czyli ilość najbliższych sąsiadów, do których zostanie wyliczony dystans. Wysoka wartość k zmniejsza wrażliwość algorytmu na szum, ale równocześnie wpływa na zmniejszenie przejrzystości pomiędzy klasami. Z tego powodu otoczenie może zawierać obiekty z innych klas oraz równocześnie rośnie złożoność obliczeniowa. Z drugiej strony niska wartość k zwiększa wariancję między przewidywaniami, czyli wrażliwość na szum. Pakiety takie jak `kknn` [143] pozwalają na przeprowadzenie procesu „dostrajania” (ang. *tuning*) w celu dobrania optymalnych paramentów z zadanego zakresu.

Etapy działania metody:

- 1) Obliczenie dystansu między analizowanym elementem, a elementami zbioru trenującego.
- 2) Zidentyfikowanie k najbliższych sąsiadów, czyli najbliższych punktów do analizowanego obiektu x .
- 3) Określenie klasy analizowanego elementu na podstawie etykiet klas najbliższych sąsiadów.



Rycina 5. Działanie algorytmu k-najbliższych sąsiadów, dla nowego obiektu, który na rysunku oznaczony został czerwoną kropką. X oznacza nowy obiekt. Linie oraz krzyżyki wskazują na obiekty jednej z dwóch znanych klas. Aby określić, do której z nich należy x należy obliczyć dystans do k najbliższych sąsiadów: czarny okrąg k=1, czerwony okrąg k=2, zielony okrąg k=3. Na podstawie: [144].

Metodę cechuje wysoka skuteczność w przypadku małej liczby zmiennych niezależnych. Efektywność klasyfikacji wyraźnie spada w przypadku danych z dużą ilością predyktorów, z których nie wszystkie są informatywne. We wspomnianej sytuacji pojawia się tak zwana klątwa wymiarowości (ang. *curse of dimensionality*). Wspomaganie klasyfikatora metodami typu PCA, umożliwia eliminację przypadkowych zmiennych, które są zbędne podczas tworzenia modelu, oraz klątwy wymiarowości [144]. Jednak usuwanie potencjalnych predyktorów i pozostawianie ich w zbyt małej ilości grozi przetrenowaniem modelu (ang. *overfit*), a przetrenowany model nie spełnia roli predykcyjnej. Problem i ryzyko przetrenowania występuje w przypadku wszystkich algorytmów uczenia maszynowego, a nie tylko metody k-najbliższych sąsiadów. Graficzne przedstawienie działania klasyfikatora zachodzi przy pomocy diagramów Woronoja.

3.6.2. Naiwny klasyfikator Bayesa

Podstawę działania naiwnego klasyfikatora Bayesa stanowi prawdopodobieństwo warunkowe, które wyrażone jest poniższym równaniem:

$$P(A|B) = \frac{P(A)*P(B|A)}{P(B)} \quad (4)$$

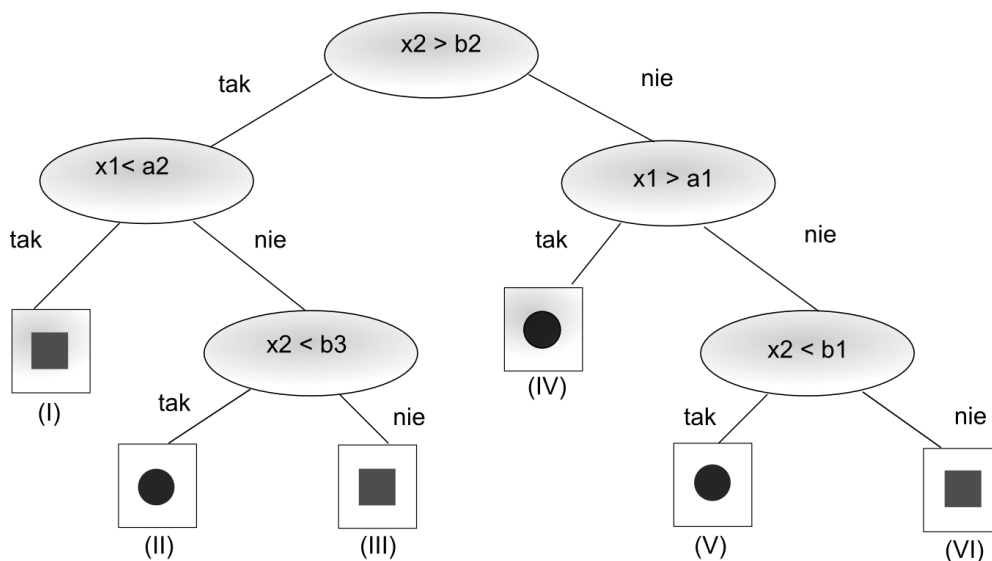
Gdzie: $P(A)$ oznacza prawdopodobieństwo zdarzenia A , $P(B)$ – prawdopodobieństwo zdarzenia B , $P(B|A)$ – prawdopodobieństwo B pod warunkiem, że zaszło zdarzenie A oraz $P(A|B)$ - prawdopodobieństwo zdarzenia A , pod warunkiem, że B .

Klasyfikator Bayesa zakłada równoważność oraz niezależność predyktorów. W przypadku danych biologicznych często dochodzi jednak do naruszenia drugiego warunku. Nazwa naiwny klasyfikator Bayesa pochodzi od „naiwnego” założenia, że spełnione są przesłanki równania (4). Algorytm cechuje wysoka skuteczność [146]. W przypadku zerowej wartości prawdopodobieństwa jednego ze zdarzeń, stosowane jest tzw. wygładzanie Laplace’a. Metoda ta polega na dodaniu wartości 1 do obliczeń prawdopodobieństwa każdego z predyktorów [146].

Trenowanie naiwnego klasyfikatora Bayesa nie wymaga wyszukiwania optymalnych paramentów. W środowisku R proces klasyfikacji wylicza pakiet e1071 [145].

3.6.3. Drzewa decyzyjne

Algorytm tworzy strukturę drzewa, w którym węzłami są poszczególne atrybuty, natomiast klasy obiektów odpowiadają liściom. W trakcie dochodzenia do węzła wartość atrybutu zostaje rozdzielona na możliwie dużą ilość części. W praktyce podział występuje na tyle części, ile wartości przyjmuje dany predyktor. Nowy obiekt zostaje zaklasyfikowany po przejściu przez całą strukturę drzewa, aż do liścia.



Rycina 6. Działanie drzew decyzyjnych, za [146]. Obiekt może zostać zaklasyfikowany do jednej z dwóch klas (oznaczonych za pomocą kół i kwadratów), po spełnieniu odpowiednich warunków.

W trakcie przechodzenia przez kolejne elementy drzewa podejmowana jest decyzja o podążaniu daną ścieżką, która prowadzi do określonej odpowiedzi (liścia). Na Rycinie 6 przedstawiono proste drzewo decyzyjne, które klasyfikuje nowy obiekt do jednej z dwóch klas.

W języku R rysowanie drzew decyzyjnych oraz klasyfikacja odbywa się przy pomocy pakietu rpart [147].

3.6.4. Maszyna wektorów nośnych (SVM).

Podstawą działania algorytmu wektorów nośnych SVM jest założenie istnienia przestrzeni decyzyjnej D . Wewnątrz przestrzeni D istnieje możliwość wyszukania granicy rozdzielającej obiekty, które należą do różnych klas (Rycina 7). Algorytm dokonuje nieliniowego mapowania zbioru danych trenujących do przestrzeni wielowymiarowej. W przypadku pozytywnego wyniku zostaje określona hiperpłaszczyzna, która rozdziela obiekty należące do jednej ze zdefiniowanych wcześniej klas [148]. Margines między elementami należącymi do dwóch różnych klas powinien być maksymalny [149].

Najważniejsze parametry algorytmu:

- C (ang. *cost parameter*) – Wartość kary za błędnie sklasyfikowany obiekt.
- delta (δ) – Parametr kontrolujący kształt hiperpłaszczyzny separującej klasy. Zwiększenie wartości zwiększa liczbę wektorów nośnych.

W najprostszym przypadku klasyfikatora liniowego obiekty dwóch różnych klas rozdziela prosta. Dla bardziej zaawansowanych przypadków stosowana jest hiperpłaszczyzna. Równanie prostej/hiperpłaszczyzny przyjmuje postać równania (5) dla wszystkich atrybutów opisujących obiekt [150]:

$$F(x) = \sum_{i=1}^n w_i * x_i + b \quad (5)$$

Kiedy $f(x)=0$ w przypadku modelu z dwoma predyktorami równanie przyjmuje postać:

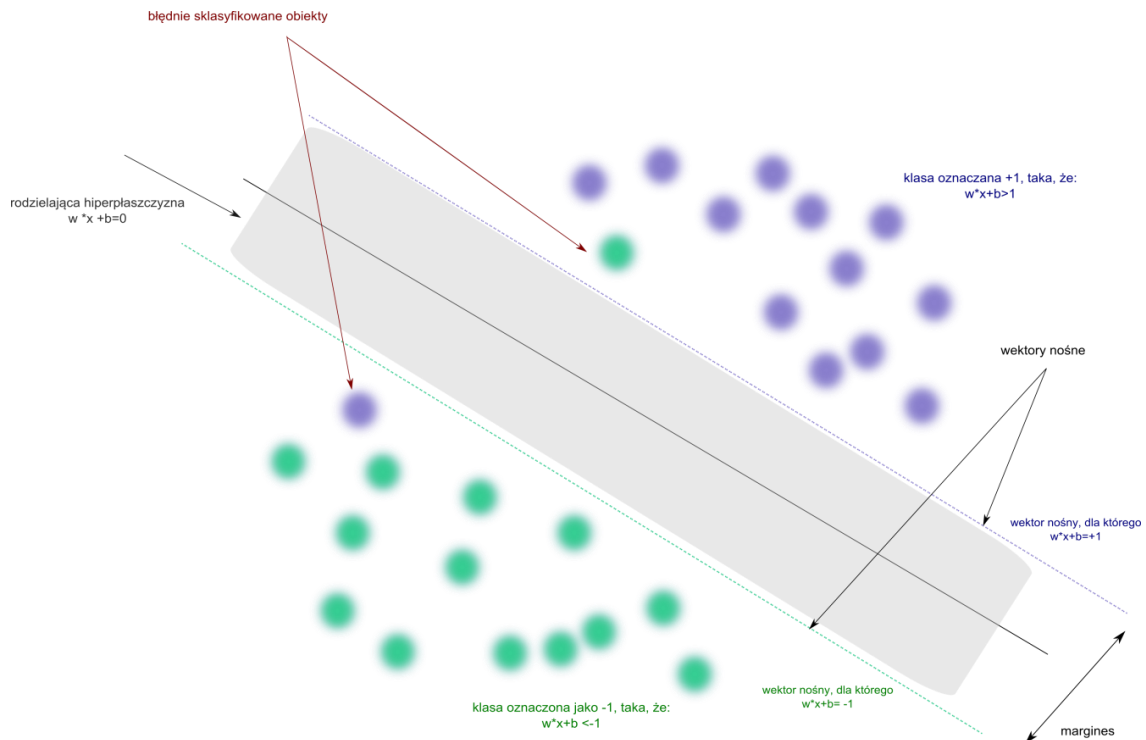
$$w_0 + w_1 * x_1 + w_2 * x_2 = 0 \quad (6)$$

Równania (7) i (8) definiują prostą/hyperpłaszczyznę wyznaczającą granice marginesu.

$$H1: w_0 + w_1 * x_1 + w_2 * x_2 \geq 1 \quad (7)$$

$$H2: w_0 + w_1 * x_1 + w_2 * x_2 \leq -1 \quad (8)$$

Wszystkie uporządkowane pary, zlokalizowane pomiędzy H1 a H2 nazywane są wektorami nośnymi. Szczegóły przedstawia Rycina 7.



Rycina 7. Działanie algorytmu wektorów skośnych jako klasyfikatora dwuklasowego. Klasy zostały oznaczone jako +1 i -1 (w literaturze nazywane klasami pozytywnymi i negatywnymi). Niebieskie i zielone kule oznaczają obiekty należące do każdej z klas. X oznacza obiekt nieznaney klasy. Na podstawie: [150].

Do obliczeń algorytmu wektorów nośnych wykorzystywany jest pakiet e1071 [145]. Jedna z funkcji pakietu oznaczona jako *tune()* umożliwia dobranie optymalnych paramentów algorytmu.

3.7. Metody oceny działania klasyfikatorów

Po skonstruowaniu i wytrenowaniu modelu konieczne jest sprawdzenie skuteczności jego działania. W tym celu należy przy jego pomocy przypisać do klas zbiór obiektów o znanej przynależności, czyli tak zwany zbiór testowy. Następnie należy dokonać porównania klas przewidzianych i klas autentycznych oraz wyliczyć na jego podstawie statystykę działania algorytmu.

3.7.1. Walidacja krzyżowa

K-krotna walidacja krzyżowa (ang. *k-fold cross validation*) jest powszechnie stosowaną techniką sprawdzania skuteczności działania modelu uczenia maszynowego. Metoda dzieli pierwotny zbiór danych na podzbiory w ilości równej k . Jedna z wydzielonych części stanowi zbiór testowy, natomiast zbiór $k-1$ jest zbiorem trenującym. Algorytm dokonuje wyliczeń trafności przewidywań. Następnie dokonywane jest połączenie zbioru trenującego z testowym i kolejny losowy podział. Analizę przeprowadza się k razy. Próbkę są wybierane z macierzy bez powtórzeń. Najczęściej stosowane wartości k pochodzą z zakresu 5-20 [135].

W niniejszej pracy zgodnie z sugestiami literaturowymi [151] 70% danych wykorzystywano jako część trenującą, natomiast pozostałe 30% jako część testową. Zbiór trenujący i testowy wybierano losowo z pierwotnego zestawu danych. Aby uniknąć sytuacji, w której wysoka skuteczność działania modelu wynika z przypadku, proces trenowania i testowania algorytmu powtórzono 1000 razy [152].

3.7.2. Proste wskaźniki procentowe

Skuteczność działania zaproponowanych modeli sprawdzono przy pomocy zbioru trenującego i testowego. Przyjęto następujące założenie: klasa „obecny” zostanie potraktowana jako pozytywna (1), natomiast klasa „nieobecny” jako negatywna (0). Pojęcie klasy „pozytywnej” i „negatywnej” jest umowne i ustalane każdorazowo przed badaniem. Tabela 7 ilustruje przyjęte oznaczenia.

Tabela 7. Wyjaśnienia oznaczeń, dla układu dwuklasowego. Klasę „obecny” oznaczono jako 1 i odpowiada ona klasie pozytywnej. Klasę „nieobecny” oznaczono jako 0 i będzie ona określana mianem klasy negatywnej.

	klasa autentyczna	
	1	0
1	TP	FP
0	FN	TN

Liczbowe wskaźniki skuteczności działania klasyfikatora, takie jak czułość, specyficzność, trafność i wartość F wyliczono na podstawie poniższych wzorów.

- Czułość (ang. *sensitivity, positive rate TPR, hit rate*) i specyficzność (ang. *specify*).

Czułość oraz specyficzność określają, z jaką skutecznością algorytm poprawnie przypisał obiekt do danej klasy. Dodatkowo sprawdzona zostaje zdolność klasyfikatora do odróżniania od siebie obiektów należących do dwóch klas. W przypadku czułości sprawdzeniu podlega klasa pozytywna, natomiast w przypadku specyficzności klasa negatywna.

$$\text{czułość} = \frac{TP}{TP+FN} \quad (9)$$

$$\text{specyficzność} = \frac{TN}{TN+FP} \quad (10)$$

b) Trafność (ang. *accuracy*).

Trafność jest współczynnikiem określającym ogólną skuteczność algorytmu. Wylicza odsetek poprawnie zaklasyfikowanych obiektów. Nie sprawdza zdolności klasyfikatora do odróżniania elementów należących do różnych klas.

$$\text{trafność} = \frac{TP+TN}{TP+FP+TN+FN} \quad (11)$$

c) Wartość F (ang. *F-score*)

W najprostszej postaci przedstawionej w równaniu 12 wartość F stanowi średnią harmoniczną [78, 82] stosunku wyników prawdziwie pozytywnych do wyników prawdziwie i fałszywie pozytywnych oraz wyników prawdziwie pozytywnych do wyników prawdziwie i fałszywie negatywnych :

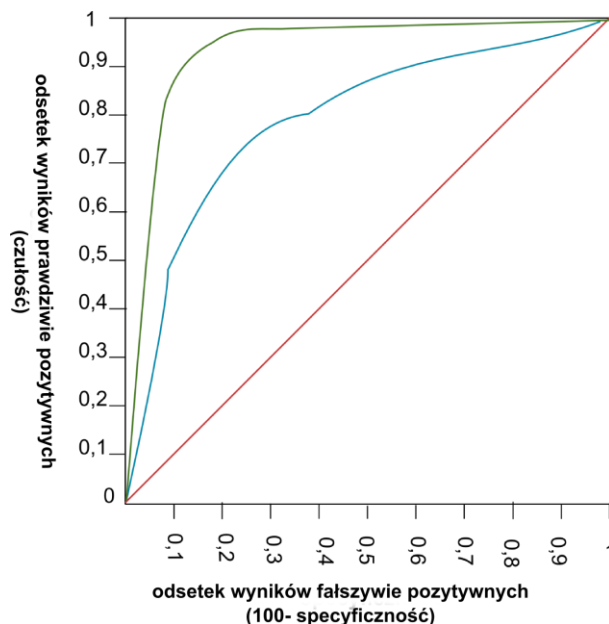
$$F = 2 * \frac{\frac{TP}{TP+FP} * \frac{TP}{TP+FN}}{\frac{TP}{TP+FP} + \frac{TP}{TP+FN}} \quad (12)$$

Wspomniane powyżej współczynniki, z pominięciem wartości F, przyjmują wartości z przedziału 0-1. Zbliżanie się do górnej granicy oznacza rosnącą skuteczność klasyfikatora. Procentowo trafność 0,5 oznacza 50% poprawnie przewidzianych przypadków, czyli losową skuteczność. W idealnej sytuacji czułość, trafność i specyficzność powinna wynosić 90% i więcej. Niestety w przypadku danych biologicznych i medycznych wspomniana sytuacja zachodzi rzadko.

3.7.3. Wartość AUC oraz krzywa ROC

Pole pod krzywą zależności czułości od specyficzności znane jest jako wartość AUC (ang. *area under curve*), która stanowi kolejną miarę poprawności i trafności działania klasyfikatora. Przyjmuje ona wartości z zakresu 0 – 1, przy czym wartości 0,5 i poniżej oznaczają, że dany model jest bezużyteczny, a wartość równa 1 odpowiada idealnemu działaniu modelu. W

praktyce przyjmowane są następujące przedziały: 0,5 - 0,7- słaba poprawność; 0,7 - 0,9- dobry model; 0,9 i powyżej bardzo dobry model [108].



Rycina 8. Krzywa ROC oceniająca działanie klasyfikatora. Kolory oznaczają jakość modelu: czerwony: słaby model (odpowiednik AUC 0,5-0,7); niebieski kolor: dobry model (odpowiednik AUC 0,7-0,9); zielony: bardzo dobry klasyfikator (AUC 0,9 i wyżej).

Krzywa ROC (ang. *receiver operating characteristic curve*) stanowi graficzną reprezentację stosunku odsetka wyników fałszywie pozytywnych (oś x) do frakcji wyników prawdziwie pozytywnych (oś y). Na podstawie kształtu krzywej ROC można określić skuteczność działania klasyfikatora (Rycina 8).

3.8. Definiowanie klas w zbiorze trenującym

W niniejszej pracy przeprowadzono klasyfikację na dwa sposoby. W pierwszym przewidywano obecność lub brak danego wymiaru klinicznego dla każdej z grup bazując na wynikach analizy redukcji wymiarowości. W drugim podjęto próbę rozróżniania pacjentów ze schizofrenią i schorzeniem afektywnym dwubiegunowym w oparciu o zestawy objawów.

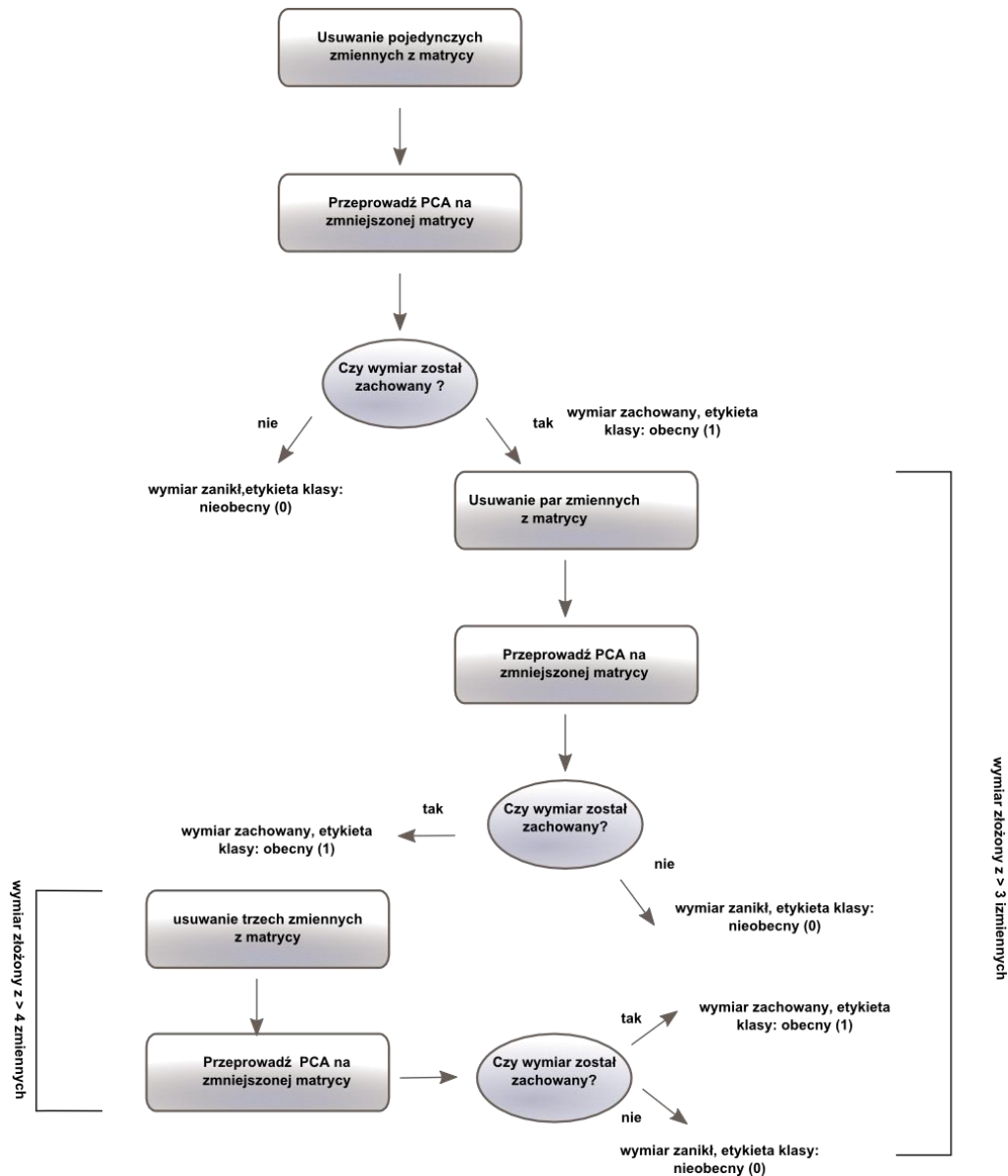
3.8.1. Wykorzystanie wiedzy eksperckiej

Każdy z pacjentów z populacji analizowanej w niniejszej pracy został zdiagnozowany z rozpoznaniem jednej z dwóch chorób, schizofrenii lub schorzenia afektywnego dwubiegunowego. Dysponując strukturą wymiarów połączonej grupy zaimplementowano metody uczenia maszynowego w celu sprawdzenia skuteczności narzędzia do wspomagania diagnostyki. Podobne podejście zastosowano w oparciu o dane genetyczne z analiz GWAS. Z powodu częściowo wspólnego podłoża genetycznego obu schorzeń, nie otrzymano wyników,

które były statystycznie satysfakcjonujące [153]. Co prawda objawy związane z epizodami depresji, manii czy psychozy występują w obu schorzeniach, lecz ich obraz kliniczny nie jest identyczny.

3.8.2. Statystyczne określanie klas

Pierwszym etapem podczas określania obecności/nieobecności wymiaru klinicznego jest określenie wartości zmiennej zależnej. W celu stwierdzenia, które z objawów są niezbędne do pojawienia się wymiaru, przeprowadzono serię analiz PCA na zmniejszonej macierzy danych. Wybór metody PCA związany był z faktem, iż generowała ona najlepszą strukturę wymiarową. Rozmiar macierzy wykorzystywanej do obliczeń zmieniano poprzez usuwanie z użytego do otrzymania pierwotnej struktury zbioru danych jednej, dwóch i trzech zmiennych. W przypadku możliwości identyfikacji wymiaru wartość zmiennej zależnej określano jako obecny (1). Z kolei gdy dochodziło do rozpadu, zmienną określano jako nieobecny (0). Przebieg kolejnych etapów klasyfikacji przedstawia Rycina 9. Na wczesnych etapach obliczeń stosowano trzecią klasę (0: „nieobecny”, 1: „częściowo obecny” i 2: „obecny”). Wyniki sprawdzania skuteczności działania podobnego modelu jednoznacznie wskazywały na słabość i nieostre granice klasy częściowo obecny.



Rycina 9. Definiowanie klasy w systemie obecny (1) / nieobecny (0)

Nie przeprowadzano obliczeń na matrycy zmniejszonej o cztery i więcej zmiennych, gdyż nawet dla dużych wymiarów, takich jak manii czy główny depresyjny, prowadziło to do całkowitego ich rozpadu. Określenie obecności/nieobecności następowało po sprawdzeniu struktury wymiarowej uzyskanej na zmniejszonej matrycy.

3.9. Analizy asocjacyjne

3.9.1. Użyte testy oraz programy w analizach genetycznej asocjacji cechy ilościowej.

Asocjacje genetyczne cechy ilościowej (wymiar lub podwymiar) przeprowadzano w programie PLINK [154] stosując proste modele regresji, opierając się na sugestiach [155]. Nie zakładano konkretnego modelu dziedziczenia ani nie sprawdzano potencjalnych

możliwości oddziaływań między SNP. Korekcję na wielokrotne testowanie przeprowadzono metodą FDR, korzystając z odpowiednich funkcji języka R.

3.9.2. Metody oraz programy użyte w analizach asocjacji z wymiarami.

Test Kruskala- Wallisa został wykorzystany w celu poszukiwania zależności między SNP a grupą objawów klinicznych. Ponieważ analizowaną zmienną (wymiar) cechował rozkład silnie odbiegający od normalnego, to niemożliwe było zastosowanie analizy wariancji ANOVA. Zalecaną korekcję przeprowadzono z użyciem testu Wilcoxon [156].

3.9.3. Wymiar kliniczny jako cecha ilościowa

Dane z kwestionariusza OPCRIT dostępne są wyłącznie dla pacjentów, co wyklucza analizy *case-control*. Dlatego podjęto decyzję o przeprowadzeniu analizy cechy ilościowej (ang. *quantitative trait*), w której wykorzystano zmienne tworzące wymiary kliniczne. Dla każdego pacjenta z badanej grupy oszacowano wartość zmiennej poprzez zsumowanie odpowiednich zmiennych (itemów) OPCRIT, które tworzyły dany zbiór.

3.10. Metody znajdowania i sprawdzania mocy zależności między czynnikami klinicznymi i demograficznymi a wymiarami.

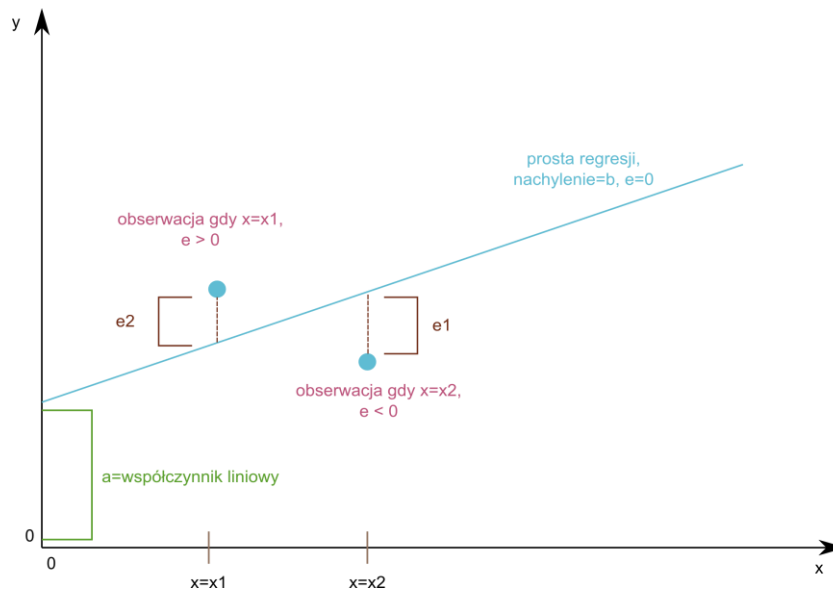
3.10.1. Regresja.

Regresja stanowi metodę estymacji, która umożliwia prognozowanie wartości zmiennej y , zwanej zmienną objaśnianą, na podstawie znanych wartości zmiennej (lub zmiennych) x , czyli zmiennych objaśniających. W najprostszym przypadku funkcja regresji jest funkcją liniową, opisaną równaniem 12 [157]:

$$y = a + bx + e \quad (12)$$

Gdzie: a - współczynnik, miejsce w którym prosta regresji przecina oś OY, b - nachylenie prostej regresji, e - losowe odchylenie, zwane też błędem.

Rycina 10 ilustruje znaczenie współczynników a , b oraz e dla prostej regresji.



Rycina 10. Prosta regresji w przypadku liniowej zależności między zmienną objaśniającą (x) a objaśnianą (y) [157].

Prosta regresji stanowi graficzną reprezentację zależności wartości zmiennej zależnej od zmiennej niezależnej. W przypadku modelu zawierającego trzy lub więcej zmiennych niezależnych, wykres przybiera inny kształt.

Ważne parametry dotyczące wyników i oznaczania istotności wyników regresji [157-160]:

- Statystyka t - miara mierząca istotność dla nachylenia krzywej/prostej regresji.
- Wartość r kwadrat (r^2) i dostosowana wartość r kwadrat (ang. *adjusted r square*) - kwadrat współczynnika korelacji (r). Odsetek wariancji zmiennej zależnej, która może być wyjaśniona przez równanie regresji. Przyjmuje wartości od 0 do 1.
- Błąd standardowy (S) – statystyka mierząca odsetek/liczbę zmienności punktów wokół prostej/krzywej regresji. Odchylenie standardowe punktów rozmieszczonych wokół prostej regresji.
- Wartość P (ang. *p-value*) - istotność modelu. Jeżeli p -value przekracza 0,05, to model nie ma statystycznej istotności. Dla modelu z wieloma zmiennymi niezależnymi wyliczana jest wartość p dla każdej ze zmiennych x . Nieistotne zmienne, o ile takie występują, należy usunąć z ostatecznego wyniku.
- AIC – kryterium informacyjne Akaikego AIC (ang. *Akaike information criterion*) ocenia jakość modelu. Spośród dostępnych modeli należy wybrać ten o najniższej wartości AIC [161].

3.10.2. Użyte modele regresji

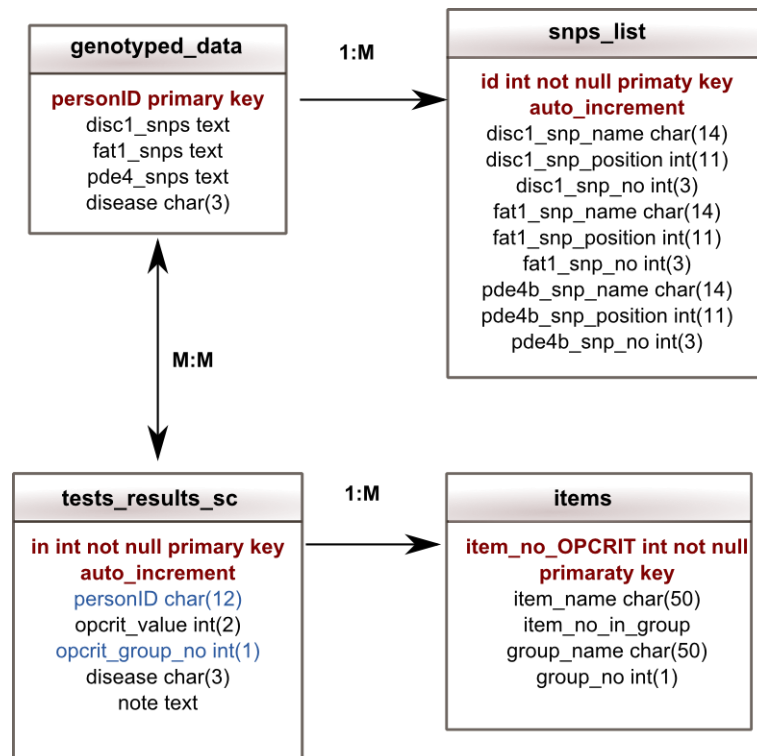
Kluczowa decyzja przed rozpoczęciem obliczeń dotyczyła wyboru ilości i rodzaju zmiennych chorobowych. W celu wytypowania grup zmiennych do obliczeń zastosowano analizę PCA. Modele składały się z następujących elementów:

- a) Grupa schizofrenii: 1) obraz kliniczny początku choroby, zaburzenia funkcjonowania socjalnego utrzymujące się po ostrym epizodzie, przebieg kliniczny choroby 2) płeć, wiek zachorowania 3) badany okres choroby, czas trwania choroby, inne choroby psychiczne w rodzinie 4) rodzinna historia schizofrenii, organiczne zaburzenia psychiczne przed chorobą.
- b) Grupa schorzenia afektywnego dwubiegunowego: 1) obraz kliniczny początku choroby, wiek zachorowania, przebieg kliniczny choroby 2) czas trwania choroby, utrzymujące się zaburzenia funkcjonowania społecznego po ostrym epizodzie 3) badany okres choroby, organiczne zaburzenia psychiczne przed chorobą 4) rodzinna historia schizofrenii, inne choroby psychiczne w rodzinie.
- c) Grupa połączona: 1) obraz kliniczny początku choroby, przebieg kliniczny choroby 2) płeć, utrzymujące się zaburzenia funkcjonowania społecznego po ostrym epizodzie 3) badany okres choroby, czas trwania choroby, inne choroby psychiczne w rodzinie 4) wiek zachorowania, organiczne zaburzenia psychiczne przed chorobą.

3.11. Wykorzystanie programy

3.11.1. Baza danych MySQL

W pierwszym etapie analiz dane ze skoroszytów Excel zostały przeniesione do bazy danych, której schemat przedstawiono na Rycinie 11.



Rycina 11. Schemat bazy danych w MySQL powstałej z połączenia danych kwestionariusza OPCRIT oraz danych genetycznych. Kolorem czerwonym oznaczone są klucze główne, kolorem niebieskim klucze obce. Strzałki oznaczają kierunki relacji, czyli w jaki sposób powstają połączenia między tabelami. Oznaczenia relacji: 1:M jeden do wielu; M:M wielu do wielu.

Najważniejszą tabelą bazy danych jest *Tests_results_sc*. Zdeponowano tam wyniki wywiadów z pacjentami na podstawie kwestionariusza OPCRIT. Dane z kwestionariusza przeskalowano do skali 0-3. Przy pomocy klucza obcego powiązano dwie tabele *tests_results_sc* i *items*. W *opcrit_value* znajduje się informacja o wartości zmiennej (itemu) dla danego pacjenta. Pacjent jest jednoznacznie identyfikowany przez *personID*. W zależności od pytania wynik kwestionariusza zawiera informacje o obecności danego objawu klinicznego (na przykład trudności w zasypianiu), nasileniu, czy też wieku zachorowania.

W tabeli *items* znajdują się pełne nazwy kolejnych pytań (itemów) kwestionariusza oraz informacja, do której części OPCRIT należy dany objaw. Stworzono także połączenie głównej tabeli z *genotyped_data*. We wspomnianej tabeli zdeponowano informacje o wynikach genotypowania SNP w genach *FAT1*, *DISC1* i *PDE4B* (tylko dla schizofrenii). Informacje o zmienności danego genu dostępne są dla pacjentów, którzy są jednoznacznie identyfikowani przez *personID*. Klucz *personID* umożliwia powiązanie informacji klinicznych (OPCRIT) z danymi genetycznymi (markery SNP). Z *genotyped_data* połączono

snps_list. Ostatnia z wymienionych tabel zawiera informację o analizowanych SNP: nazwę markera, lokalizację chromosomową oraz numer na liście SNP danego genu.

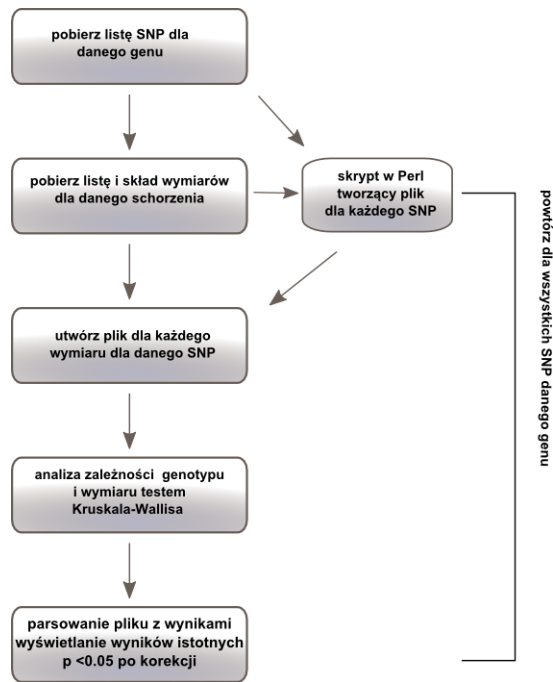
Import oraz eksport danych z bazy danych przeprowadzono przy pomocy języka Perl oraz pakietu DBI. DBI umożliwia komunikację z serwerem MySQL oraz operacje na bazach danych z poziomu skryptu Perl, takie jak tworzenie tabel, wyszukiwanie informacji w tabelach, uaktualnianie i wiele innych.

3.11.2. Wykorzystane programy, pakiety R oraz skrypty.

Analiza z użyciem zmiennej liczby czynników do wyróżnienia została wykonana przy pomocy skryptu napisanego w języku R. Zadany parametr wczytywano rekurencyjnie, za każdym razem zapisując uzyskany model wraz z odpowiednimi statystykami. Format pliku wyjściowego zmieniano do postaci pliku tekstowego poroździelanego tabulacjami używając skryptu języka Perl. W końcowym etapie dokonywano ręcznej analizy modeli w arkuszu Excel.

Obliczenia asocjacji wykonywano przy pomocy kolejno uruchamianych skryptów. Pierwszy z nich pobierał listę SNP. Następnie wybierano poszczególne wymiary oraz określano wartość cechy ilościowej na podstawie danych z bazy i informacji o zmiennych (itemach) tworzących zbiór. Dla każdego z wymiarów i każdego SNP tworzone oddzielny plik. W oddzielnej analizie sprawdzano przy pomocy testu Kruskala-Wallisa, czy istnieje statystycznie istotna zależność między genotypem a cechą ilościową. Do sprawdzania wpływu poszczególnych genotypów wykorzystywano test Wilcoxon z korekcją FDR. Do przedstawiania wyników w postaci ułatwiającej szybką analizę i interpretację używano odpowiednie skrypty języka Perl. Oprócz analiz pojedynczych markerów przeprowadzano również klasyczną analizę asocjacji cechy ilościowej.

W celu przeprowadzenia klasycznej analizy asocjacji korzystano z programu PLINK. Przygotowywano dwa pliki wsadowe z informacją o markerach dla każdego z pacjentów oraz z danymi o lokalizacji chromosomowej każdego z markerów. Z pliku wyjściowego PLINK ekstrahowano wartości P do pliku tymczasowego, zawierającego tylko te wartości. W następnym etapie stosowano procedurę FDR korzystając z funkcji R. Dokładny schemat działania stworzonych narzędzi przedstawia Rycina 12.



Rycina 12. Schemat działania narzędzia obliczeniowego, które automatycznie wylicza asocjacje poj. SNP z danego genu z wymiarami w wybranej grupie.

Za wyjątkiem tabeli licznosci obliczenia statystyczne wykonywano w środowisku R [137]. Tabele licznosci przygotowano za pomocą programu Statistica 10. Równania opisane w rozdziale 4.4.2 zostały zaimplementowane, dokonując każdorazowo wyliczenia odpowiednich wartości. Wynik dla każdej iteracji był zapisywany w pliku tekstowym porozielanym tabulacjami w celu późniejszej analizy w arkuszu kalkulacyjnym typu Excel.

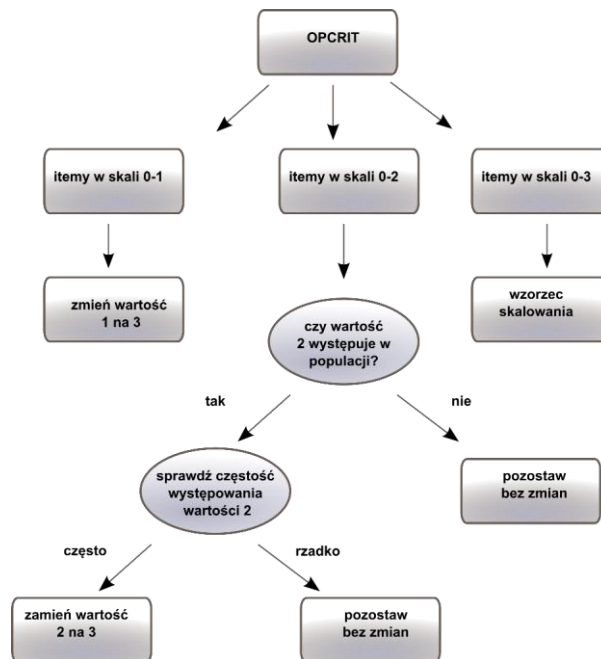
Modele regresji budowano w środowisku R przy pomocy wbudowanych funkcji tego języka. Korzystając z funkcji *lm()* wprowadzano odpowiedni model, natomiast funkcja *extractAIC()* obliczała wartość oceny modelu AIC.

W niniejszej pracy wykorzystano następujące pakiety: *psych* [162] (analiza głównych składowych), *e1071* [145] (uczenie maszynowe z wykorzystaniem SVM oraz naiwnego klasyfikatora Bayesa), *knn* [143] (klasyfikacja wedle algorytmu k-najbliższych sąsiadów) [145], *rpart* [147] (klasyfikacja z wykorzystaniem drzew decyzyjnych), *ROCR*[162] (krzywe ROCR dla danego klasyfikatora) oraz *caTools* [163] (ocena jakości danego predyktora).

4. Wyniki

4.1. Skalowanie OPCRIT

Pierwszy etap obliczeń stanowiących podstawę niniejszej pracy stanowiła redukcja wymiarowości OPCRIT. Było to konieczne ze względu na opisywaną wcześniej złożoność obrazu klinicznego schorzeń. Przed przystąpieniem do konstruowania matrycy danych oraz analiz przeprowadzono skalowanie OPCRIT.



Rycina 13. Schemat skalowania kwestionariusza OPCRIT, opublikowane w [114].

Domyślnie zmienne (itemy) kwestionariusza OPCRIT przyjmują wartości w różnych przedziałach. Dzięki temu przechowywana jest informacja nie tylko o obecności danego objawu, ale także o jego nasileniu, czy długości trwania. W analizie czynnikowej/głównych składowych OPCRIT często stosowane jest podejście binarne. Wówczas wartość 0 oznacza brak symptomu, natomiast 1 jego obecność. Brak jest w tym przypadku informacji o nasileniu objawu. W niniejszej pracy podjęto decyzję o zastosowaniu skalowania, aby uniknąć utraty informacji o natężeniu symptomów chorobowych.

Do analiz wybrano skalę 0-3, jako najwyższą stosowaną dla zmiennych opisujących objawy kliniczne. W przypadku zmiennej binarnej wartość 1 została zmieniona na 3. W celu ostatecznego przeskalowania pytań OPCRIT przyjmujących wartości z zakresu między 0 a 2

stosowano kryterium częstości. Gdy zmienna nie przyjmowała górnej granicy 2 lub liczba występowała rzadko w populacji, to nie wprowadzano zmian. Jeżeli wartość 2 obserwowano częściej, to była ona zamieniana na 3. Szczegóły skalowania przedstawia Rycina 13.

4.2. Struktura czynnikowa schizofrenii

Strukturę wymiarów schizofrenii cechuje częściowa złożoność i wielowymiarowość poszczególnych zbiorów. W poniższym opisie domen i ich części zawarto wyłącznie jednostki klinicznie zweryfikowane. Jeżeli w niektórych grupach znajdowano wymiar niemożliwy do zdefiniowania, to określano go jako „łączny” lub „zbiorczy” (ang. *cumulative*).

4.2.1. Porównanie modeli w zależności od użytej skali/metody

Struktura czynnikowa schizofrenii została przedstawiona na Rycinie 14. Wymiary zinterpretowane klinicznie, takie jak: depresyjny, manii, urojeniowy, dezorganizacyjny, negatywny, społeczny, uzależnieniowy, czy psychotyczny, wyjaśniały 66% wariancji oryginalnego zbioru zmiennych. W przypadku trzech pierwszych wymiarów obserwowano złożoną, wielowymiarową strukturę. Wartość KMO wskazuje na użyteczność matryc opartych na przeskalowanym oraz oryginalnym OPCRIT.

item	PCA orig.	PCA skala:0-3	FA ML orig.	FA ML skala: 0-3
zmniejszona aktywność psychoruchowa	0,708	0,716	0,649	0,689
obniżenie energii / nadmierna męczliwość	0,670	0,658	0,621	0,654
nastroj obniżony (w tym drażliwość)	0,605	0,607	0,614	0,592
anhedonia	0,686	0,703	0,686	0,684
obniżony popęd seksualny	0,536	0,639	0,459	0,525
obniżenie zdolności koncentracji	0,616	0,624	0,558	0,575
poczucie winy	0,788	0,776	0,641	0,689
myśli samobójcze	0,431	0,462	0,417	0,389
trudności w zasypianiu	0,536	0,533	0,438	0,423
budzenie się w nocy	0,694	0,709	0,302	0,247
przedwczesne budzenie się	0,460	0,452	0,205	0,176
osłabiony apetyt	0,866	0,857	0,953	0,773
utrata masy ciała	0,868	0,840	0,693	0,875
urojenia winy	0,837	0,795	0,823	0,758
urojenia nihilistyczne	n.a	0,473	n.a	0,261
nadmierny apetyt	0,856	0,875	0,759	0,987
wzrost masy ciała	0,840	0,854	0,891	0,691
wzmoczony napęd psychoruchowy	0,622	0,655	0,450	0,517
epizody zachowania lekkomyślnego	0,545	0,535	0,439	0,545
nadmierna przeczulność uwagi	0,554	0,577	0,480	0,586
zmniejszona potrzeba snu	0,470	0,509	0,438	0,595
agitacja	n.a.	0,597	n.a.	0,628
wielomówność	0,773	0,785	0,935	0,895
przyspieszony tok myślenia	0,765	0,780	0,646	0,584
podwyższony nastrój	0,664	0,629	0,788	0,458
wzrost relacji interpersonalnych	0,624	0,566	0,567	0,327
wzmoczone poczucie własnej wartości	0,815	0,833	0,859	0,844
urojenia wielkościowe	0,825	0,848	0,772	0,781
urojenia wpływu	0,788	0,796	0,776	0,788
urojenia owładnięcia	0,777	0,782	0,779	0,776
automatyzmy ideacyjne	0,744	0,751	0,698	0,698
urojenia "odciągania myśli"	0,693	0,686	0,603	0,602
urojenia odsłonięcia	0,619	0,624	0,530	0,526
nagłaśnianie myśli	0,630	0,616	0,524	0,522
obecność halucynacji i urojeń (1 tydzień)	0,686	0,678	0,581	0,629
urojenia prześladowcze	0,528	0,565	0,344	0,433
głosy zwracające się do pacjenta w 3 osobie	0,714	0,668	0,708	0,623
głosy komentujące	0,728	0,709	0,717	0,655
głosy obrażające, oskarżające, prześladowające pacjenta	0,678	0,681	0,577	0,609
dziwaczne zachowanie	0,522	n.a	0,432	n.a
niezrozumiała mowa (nielogiczna)	0,667	0,662	0,571	0,551
rozkojarzenie mowy	0,651	0,641	0,614	0,563
neologizmy, "ześlizgi myślowe", zaburzenia asocjacji	0,690	0,706	0,550	0,565
afekt niedostosowany	0,540	0,539	0,478	0,445
relacje społeczne przed chorobą	0,622	0,576	0,155	0,151
stan cywilny	0,614	0,638	0,139	0,129
aktywność zawodowa przed chorobą	0,707	0,725	0,127	0,060
obniżona ekspresja afektu	0,685	0,727	0,912	0,463
blady afekt	0,806	0,787	0,538	0,974
współwystępowanie objawów psychotycznych i afektywnych	0,534	0,586	0,461	0,515
urojenia dezorganizujące funkcjonowanie pacjenta	0,560	0,553	0,469	0,449
pierwotne postrzeganie urojeniowe	0,688	0,704	0,593	0,611
inne urojenia pierwotne	0,757	0,762	0,714	0,713
używanie substancji psychoaktywnych rok przed chorobą	0,868	0,867	0,993	0,994
uzależnienie, nadużywanie alkoholu w wywiadzie	0,636	0,627	0,407	0,413
uzależnienie, nadużywanie kanabinoli w wywiadzie	0,778	0,795	0,600	0,600

Rycina 14. Struktura czynnikowa schizofrenii [114]. Kolorami oznaczono wymiary i podwymiary: niebieski: depresja; zielony: mania; fioletowy: wymiar pozytywny/urojeniowy; pomarańczowy: wymiar dezorganizacyjny; różowy: wymiar funkcjonowania społecznego; ciemny różowy: wymiar psychotyczny; żółty: wymiar negatywny; czerwony: wymiar uzależnieniowy; szary: wymiar zbiorczy. PCA, ML: metody redukcji wymiarowości. W tabeli przedstawiono ładunki czynnikowe z zastosowaniem rotacji *varimax*.

Podwymiary depresji złożone są z symptomów charakteryzujących dany epizod, takich jak zaburzenia snu (trudności w zasypianiu, budzenie się w nocy, przedwczesne budzenie się), zaburzenia apetytu (zmniejszony apetyt, utrata masy ciała), czy tendencje samobójcze (zmniejszone poczucie własnej wartości, urojenia winy, urojenia nihilistyczne). Najważniejszy wymiar depresji, zwany głównym, łączy w sobie wiele objawów, takich jak zmniejszona aktywność psychoruchowa, obniżenie energii/męczliwość, obniżenie nastroju (w

tym drażliwość), anhedonia, obniżony popęd seksualny, trudności z koncentracją i myśli samobójcze. Oprócz głównego wymiaru depresji wyróżniono również wymiar złożony z tzw. atypowych objawów depresji (zwiększony apetyt, wzrost masy ciała). Symptomy depresyjne wykazywały najbardziej złożoną i wielowymiarową strukturę. Co więcej utrzymywała się ona we wszystkich analizowanych populacjach. Odmienną sytuację zaobserwowano w przypadku objawów pobudzenia/manii.

Urojenia wielkościowe oraz wzmożone poczucie własnej wartości wyróżniają się jako oddzielna jednostka wśród objawów zaliczanych do stanów manii/hipomanii. Złożony z nich podwymiar określono jako zaburzenia postrzegania własnej osoby. Zbiór został zidentyfikowany wyłącznie w grupie schizofrenii. W pozostałych analizowanych populacjach wspomniane symptomy stanowiły część wymiaru manii i/lub psychotycznej. Zasadniczy podwymiar manii zbudowany był z następujących zmiennych: wzmożony napęd psychoruchowy, epizody zachowania lekkomyślnego, nadmierna przerzutność uwagi, zmniejszona potrzeba snu, agitacja, wielomówność, przyśpieszony tok myślenia, podwyższony nastrój i wzrost relacji interpersonalnych. Zbiór ulega rozpadowi w modelach utworzonych przez analizę czynnikową, generując jeden, dwa wymiary zbiorcze.

Poza wymiarami depresji oraz manii złożoną strukturę zaobserwowano również w przypadku zbioru złożonego z symptomów urojeń i omamów, znanych także jako objawy pozytywne i wytwórcze. Z tego powodu omawiany zbiór określany jest jako pozytywny/urojeniowy. Ponieważ większość zmiennych (itemów) zaliczano do pierwszorzędowych objawów Schneidera (ang. *Schneiderian First Rank symptoms*), to zdecydowano się na określanie znalezionych wymiarów jako pozytywnych Schneidera (FRS). Na podwymiar pozytywny 1 (w skrócie FRS1) składają się następujące objawy (itemy): urojenia wpływu, urojenia owładnięcia, automatyzmy ideacyjne, urojenia „odciągania” myśli, urojenia odsłonięcia i nagłośnienie myśli. Z kolei podwymiar pozytywny 2 (FRS2) zbudowany został z następujących symptomów: obecność halucynacji/urojeń przez 1 tydzień, urojenia prześladowcze, głosy zwracające się w 3 osobie, głosy komentujące, głosy obrażające i prześladowające pacjenta.

Pozostałe wymiary, takie jak dezorganizacyjny, negatywny, uzależnieniowy, psychotyczny oraz funkcjonowania społecznego występują jako pojedyncze jednostki. Ostatni z wymienionych zbiorów wskazywano jako czynnik asocjujący z wymiarami klinicznymi. W grupie schizofrenii domena funkcjonowania społecznego składa się z trzech pytań (itemów): stan cywilny, relacje społeczne przed chorobą i zatrudnienie przez chorobą. W wymiarze

negatywnym znalazły się natomiast dwa objawy: obniżona ekspresja afektu i błady afekt. Katatonia, pytanie (item) reprezentujące jeden z objawów wycofania, nie wszedł do końcowej matrycy z powodu braku spełnienia warunków opisanych w „Materiałach i Metodach”. Najbardziej zmienna ze wszystkich jest domena psychotyczna, która w populacji schizofrenii złożona jest z czterech składowych opisujących różne objawy psychotyczno/urojeniowe. Są to: współwystępowanie objawów psychotycznych i afektywnych, urojenia dezorganizujące życie pacjenta, pierwotne postrzeganie urojeniowe oraz inne urojenia pierwotne.

Włączenie dodatkowych zmiennych do analiz PCA/FA spowodowało wydzielenie nowych domen. Zastosowanie rotacji *promax* oraz *varimax* pozwoliło na sprawdzenie korelacji między wymiarami. W przypadku niskich wartości współczynników korelacji, użycie obu rotacji powinno generować prawie identyczne struktury. W wyniku analizy otrzymano identyczny skład wymiarów/podwymiary oraz niewielkie różnice wartości ładunków czynnikowych.

	mania	dep1	poz 1	psych	poz 2	dez	zab. post	at. dep	suic	uzal.	zab. snu	ne	spol	zab. ap
mania														
dep1	-0,034													
poz1	-0,037	0,076												
psych	-0,086	0,251	-0,026											
poz 2	-0,056	0,075	0,251	-0,024										
dez	0,023	-0,073	0,284	-0,064	0,117									
zab. post	0,243	-0,118	-0,028	-0,173	0,068	-0,091								
at. dep	-0,063	0,151	0,201	0,168	0,047	0,141	-0,174							
suic	0,121	0,200	0,027	-0,015	0,176	-0,220	0,179	-0,074						
uzal.	0,172	0,068	0,114	0,056	0,099	0,065	0,068	0,040	0,070					
zab. snu	0,169	0,206	-0,064	-0,060	0,081	-0,121	0,190	-0,234	0,234	0,058				
ne	-0,358	0,120	0,012	0,061	0,004	0,026	-0,146	0,101	0,022	-0,160	-0,104			
spol	-0,032	0,204	0,021	0,120	0,012	0,004	-0,040	0,110	0,036	0,004	-0,028	0,042		
zab. ap	-0,112	0,187	0,007	0,179	0,054	-0,051	-0,053	-0,035	0,096	-0,001	0,126	0,066	-0,013	

Rycina 15. Współczynniki korelacji między wymiarami schizofrenii [114]. Oznaczenia wymiarów/podwymiary: dep1- główny podwymiar depresji, poz 1, poz 2- podwymiary pozytywne/urojeniowe, psych- psychotyczny, dez- dezorganizacji, uzal.-uzależnieniowy, zab.post. - zaburzenia postrzegania, ne- negatywny, spol- funkcjonowania społecznego, zab.ap- zaburzenia apetytu.

W grupie schizofrenii nie stwierdzono istotnych korelacji (r) między wymiarami (Rycina 15), przyjmując wartości r z przedziału $0 : 0,4$ oraz $0 : -0,4$ jako niskie. Dla każdego wymiaru określono współczynnik α Cronbacha spójności zbioru. Tabela 8 przedstawia wyliczone wartości dla określonych wymiarów/podwymiary. Brak wartości w tabeli oznacza, że brany od obliczeń zbiór składał się z mniej niż trzech elementów.

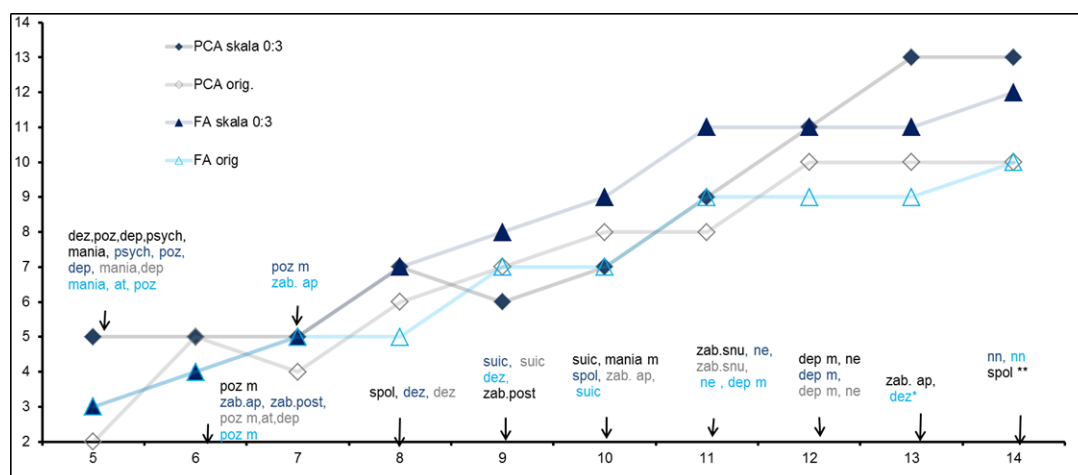
Tabela 8. Wartości współczynnika α Cronbacha dla oznaczonych wymiarów oraz podwymiarów w analizowanych grupach.

grupa	główny podwymiar depresji	podwymiar zaburzeń snu	podwymiar suicydalny	wymiar atypowej depresji	wymiar manii	wymiar uzależnieniowy	wymiar dezorganizacji	podwymiar urojeniowy 1	podwymiar urojeniowy 2	wymiar psychotyczny
SCH	0,7869	0,5364	0,5675	NA	0,8189	0,6823	0,6457	0,8275	0,7339	0,67
CHAD	0,8874	0,7491	NA	0,7433	0,8742	NA	NA	NA	NA	0,7575
SCH + CHAD	0,8719	0,6956	NA	NA	0,931	0,6379	0,8198	0,8832	0,8537	0,7733

Wartości współczynnika α Cronbacha wskazują, że główny wymiar depresji, manii oraz oba podwymiary pozytywne/urojeniowe są wewnątrznie spójne. W grupie schizofrenii obserwowany jest spadek współczynnika α Cronbacha w przypadku wymiarów psychotycznego i dezorganizacji. Podwymiary depresji, takie jak zaburzenia snu oraz samobójczy cechuje w grupie schizofrenii niska spójność. Zbiory te wraz z domeną manii są silnie powiązane z wyborem skali oraz metody. Szczegóły przedstawione zostały na Rycinie 15. Wymiary funkcjonowania i negatywny nie mogły zostać zmierzone z pomocą omawianego współczynnika ze względu na swoją wielkość.

4.2.2. Stabilność uzyskanej struktury

Zależność liczby i rodzaju wymiarów schizofrenii od zadanego parametru przedstawia Rycina 16. Oprócz zmian obecności poszczególnych wymiarów/podwymiarów, sprawdzono również stosunek liczby wymiarów klinicznie wyjaśnianych do wszystkich wydzielonych. Optymalna sytuacja zachodzi wówczas, gdy obie wartości są równe, co oznacza najwyższą skuteczność metody oraz sposobu wyboru zmiennych do analiz.



Rycina 16. Zmienność i stabilność uzyskanej struktury (użyto rotacji *varimax*) [114]. Oznaczenia wymiarów i podwymiarów: dep: depresja, suic- tendencji samobójczych, zab.ap- zaburzenia apetytu, at- atypowa depresja, poz- pozytywny/urojeniowy, psych- psychotyczny, dez- dezorganizacyjny, ne- negatywny, zab.snu- zaburzeń snu, zab.pos- zaburzenia postrzegania, nn- wymiar klinicznie niewyjaśniany. Oznaczenia zdarzeń: m- dzielenie się wymiarów, ** całkowity rozpad wymiaru, * częściowy rozpad wymiaru. Oś X przedstawia liczbę wyróżnionych wymiarów, natomiast oś Y liczbę możliwych do klinicznej interpretacji.

Przewaga wyników otrzymywanych w oparciu o skalowaną matrycę w porównaniu z oryginalną widoczna jest przy wydzieleniu co najmniej pięciu czynników i tendencja pozostaje niezmienna wraz ze wzrostem tego parametru. Skuteczność obu metod jest taka sama przy podziale na 12 czynników. Na podstawie wykresu przedstawionego na Rycinie 16 można stwierdzić, że największa stabilność obserwowana jest w przypadku wymiarów i podwymiarów takich jak depresja, mania, pozytywny/urojeniowy i dezorganizacyjny. Podwymiary FRS oraz główny depresji osiągnęły wysokie wartości α Cronbacha (Tabela 10).

Porównanie modeli przedstawionych na Rycinie 14 oraz wykresu stabilności/zmienności przedstawionego na Rycinie 16 wskazuje na wysoką skuteczność analizy głównych składowych (PCA). Skalowanie OPCRIT zwiększa czytelność i jakość wyników. Oryginalna matryca OPCRIT umożliwia przeprowadzanie analiz oraz kliniczne wydzielenie wymiarów w obecności jednostek trudnych do interpretacji. Optymalną strukturę otrzymano przy pomocy metody PCA na przeskalowanych matrycach OPCRIT. Skalowanie wpływa na stosunek liczby interpretowalnych zbiorów do wszystkich wydzielonych bardziej niż wybór metody. W przypadku FA najlepsze wyniki uzyskuje się przy podziale na 11 czynników, natomiast PCA generuje optymalne modele przy podziale na 13 składowych. Dalsze zwiększanie tego parametru nie wpływa na poprawę wyników. Przy wyższej liczbie składowych/czynników otrzymane domeny ulegają rozpadowi na zbiory trudne do zinterpretowania.

4.3. Struktura czynnikowa schorzenia afektywnego dwubiegunowego

Kliniczne wymiary schorzenia afektywnego dwubiegunowego charakteryzuje mniej skomplikowana struktura niż w przypadku schizofrenii. Podział na mniejsze jednostki zaobserwowano jedynie dla domeny depresji. Szczegóły przedstawia Rycina 18. Wartości α Cronbacha wskazują na wysoką wewnętrzną spójność otrzymanych zbiorów.

4.3.1. Porównanie modeli w zależności od użytej skali/metody.

Zinterpretowane wymiary, do których zaliczamy depresyjny, atypowej depresji, manii, uzależnieniowy, psychotyczny, negatywny oraz funkcjonowania społecznego wyjaśniają 63% wariancji pierwotnego zbioru zmiennych. Zmiana rotacji *varimax* na *promax* nie wywierała znacznego wpływu na otrzymywane wyniki, gdyż nie powstawały nowe elementy struktury, a zmianie podlegały wyłącznie wartości ładunków czynnikowych. Wartość współczynnika

KMO (Rycina 17) wskazuje, że matryca wyselekcjonowana do obliczeń spełniała wymagania statystyczne.

Podwymiary domeny depresyjnej, podobnie jak w przypadku grupy schizofrenii, oznaczają podgrupy symptomów obecnych w tym epizodzie: zaburzenia snu, zaburzenia apetytu, tendencji samobójczych/nihilistycznych (urojenia winy, urojenia nihilistyczne) oraz głównego podwymiary (zmniejszona aktywność psychoruchowa, obniżenie energii męczliwość, nastrój obniżony, poranne nasilenie objawów depresji, anhedonia, obniżony popęd seksualny, obniżenie zdolności koncentracji, poczucie winy, myśli samobójcze). W modelu wygenerowanym przez analizę czynnikową główny podwymiar depresji jest niestabilny (zmienne tworzą niemożliwą do określenia jednostkę). Pozostałe podwymiary są obecne bez względu na zastosowaną skalę/metodę. Na wymiar atypowej depresji składają się trzy objawy (itemy): nadmierna senność (tylko w modelach generowanych przez PCA), wzmożony apetyt, wzrost masy ciała. Pozostałe domeny nie wykazują złożonej struktury.

Wymiar manii występuje jako pojedyncza jednostka, która jest stała i niezmienna bez względu na zastosowaną metodę. Różnice można zaobserwować w wartościach ładunków czynnikowych pomiędzy poszczególnymi skalami i użytymi algorytmami. Najwyższe wartości otrzymywano dla modeli generowanych przez PCA na matrycy w skali 0-3, natomiast najniższe w przypadku wyników analizy FA zastosowanej na oryginalnym OPCRIT. Pomimo wspomnianych różnic, nie obserwowano rozpadu zbioru składającego się z następujących zmiennych: wzmożony napęd psychoruchowy, epizody zachowania lekkomyślnego, nadmierna przerzutowość uwagi, zmniejszona potrzeba snu, wielomówność, przyspieszony tok myślenia oraz podwyższony nastrój. Wartość α Cronbacha wskazuje na wysoką stabilność wymiaru (0,8742) i współczynnik ten wzrósł w porównaniu z grupą schizofrenii. Domena psychotyczna charakteryzująca się prostą strukturą pozostaje stabilna wyłącznie dla modeli generowanych przez PCA. W pozostałych przypadkach obserwowany był rozpad na jednostki trudne do zidentyfikowania. Analiza PCA zastosowana na OPCRIT w skali 0-3 wygenerowała model złożony z następujących zmiennych: współwystępowanie objawów psychotycznych i afektywnych, urojenia prześladowcze, urojenia wielkościowe, urojenia dezorganizujące życie pacjenta, urojenia prześladowcze oraz zazdrości będące interpretacjami halucynacji. Wykrycie nowego wymiaru zaburzeń społecznych zależało bardziej od wyboru metody niż skali i najlepszy wynik osiągnięto w przypadku PCA.

W grupie schorzenia afektywnego dwubiegunowego wzrasta wartość współczynnika wewnętrznej spójności α Cronbacha w porównaniu ze schizofrenią. Najbardziej znaczący

wzrost zaobserwowano dla podwymiaru zaburzeń snu (wzrost z 0,5364 do 0,7491, czyli z poziomu „słaby” do „zadowolający”). Zwiększenie wartości współczynnika stwierdzono również w przypadku domeny psychotycznej (wzrost z 0,67 do 0,7575) oraz głównego podwymiaru depresji (wzrost z 0,7869 do 0,8874, czyli z poziomu „zadowolającego” do „dobrego”). Obserwacje te sugerują większą stabilność wymiarów schorzenia afektywnego dwubiegunowego niż schizofrenii.

KMO: skala 0-3=0,719, orig.=0,716

item	PCA skala 0-3	PCA orig.	FA skala 0-3	FA orig.
zmniejszona aktywność psychoruchowa	0,873	0,875	0,882	0,882
obniżenie energii / nadmierna męczliwość	0,883	0,885	0,894	0,894
nastrój obniżony	0,817	0,815	0,740	0,737
poranne nasilenie objawów depresji	0,515	0,491	0,506	0,374
anhedonia	0,663	0,650	0,624	0,674
obniżony popęd seksualny	0,517	0,502	0,486	0,925
obniżenie zdolności koncentracji	0,759	0,762	0,692	0,925
poczucie winy	0,493	0,482	0,439	0,586
myśli samobójcze	0,416	0,404	0,364	0,591
trudności w zasypianiu	0,720	0,727	0,581	0,646
budzenie się w nocy	0,764	0,767	0,685	0,804
przedwczesne budzenie się	0,687	0,681	0,635	0,737
osłabiony apetyt	0,792	0,792	0,911	0,882
utrata masy ciała	0,824	0,833	0,670	0,894
nadmierna senność	0,457	0,444	0,360	0,354**
nadmierny apetyt	0,876	0,880	0,890	0,895
wzrost masy ciała	0,886	0,887	0,823	0,827
wzmoczony napęd psychoruchowy	0,793	0,792	0,756	0,684
epizody zachowania lekkomyślnego	0,665	0,665	0,600	0,614
nadmierna przerzutność uwagi	0,781	0,781	0,732	0,744
zmniejszona potrzeba snu	0,680	0,680	0,600	0,556
wielomówność	0,799	0,800	0,784	0,723
przyspieszony tok myślenia	0,780	0,781	0,763	0,706
podwyższony nastrój	0,695	0,694	0,639	0,684
współwystępowanie objawów psychotycznych i afektywnych	0,725	0,735	0,979	0,871
urojenia prześladowcze	0,712	0,715	0,472	0,428
urojenia wielkościowe	0,590	0,591	0,550	0,534
urojenia dezorganizujące funkcjonowanie pacjenta	0,742	0,731	0,898	0,858
urojenia prześladowcze, zazdrości będące interpretacjami halucynacji	0,677	0,680	0,503	0,531
urojenia winy	0,554	0,615	0,077	0,812
urojenia nihilistyczne	0,520	0,529	0,440	0,511
używanie substancji psychoaktywnych rok przed chorobą	0,709	0,759	0,624	0,584
uzależnienie, nadużywanie alkoholu w wywiadzie	0,838	0,804	0,652	0,699
stan cywilny	0,735	0,734	0,096	0,086
zatrudnienie przed zachorowaniem	0,563	0,589	0,143	0,146
obniżona ekspresja afektu	0,819	0,813	0,619	0,593
błąd afekt	0,748	0,763	0,647	0,715

Rycina 17. Struktura czynnikowa schorzenia afektywnego dwubiegunowego [114]. Kolorami oznaczono wymiary i podwymiary: niebieski: depresja; zielony: mania; różowy: funkcjonowania społecznego; ciemny różowy: psychotyczny; żółty: negatywny; czerwony: uzależnieniowy; szary: niewyjaśniany. PCA, ML: metody redukcji wymiarowości. W tabeli przedstawiono ładunki czynnikowe z zastosowaniem rotacji *varimax*.

Najwyższy współczynnik korelacji (0,514) stwierdzono pomiędzy podwymiarami depresji, głównym oraz zaburzeń apetytu. W pozostałych przypadkach nie zaobserwowano współczynników korelacji, które są statystycznie istotne.

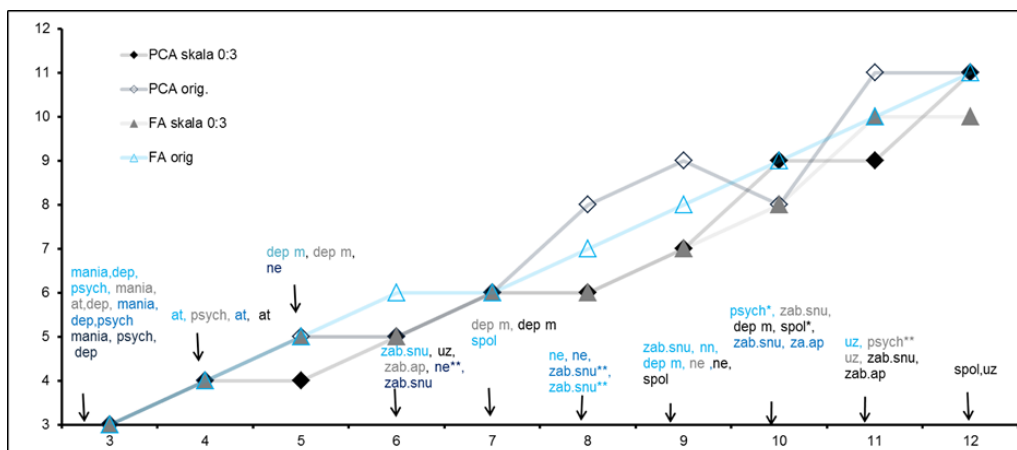
	mania	dep1	psych	zab.snu	suic	zab.ap	at	ne	nn	uz	spol
mania											
dep1	-0,111										
psych	0,138	-0,198									
zab.snu	-0,080	0,325	-0,072								
suic	-0,043	0,105	0,292	0,165							
zab.ap	-0,196	0,514	-0,167	0,322	0,062						
at	-0,053	0,178	-0,059	-0,147	-0,052	0,044					
ne	0,109	0,160	0,129	0,114	0,227	0,040	0,065				
nn	0,080	0,272	0,098	0,295	0,220	0,165	-0,032	0,299			
uz	0,115	-0,151	0,287	-0,092	0,149	-0,119	0,006	0,204	0,072		
spol	0,046	-0,097	0,273	-0,138	0,102	-0,041	0,048	0,058	0,069	0,052	

Rycina 18. Współczynniki korelacji między wymiarami schorzenia afektywnego dwubiegunowego, opublikowane w [114]. Oznaczenia wymiarów/podwymiary: dep1- główny podwymiary depresji, psych- psychotyczny, dez- dezorganizacji, uzal.- uzależnieniowy, zab.post- zaburzenia postrzegania, ne- negatywny, spol- funkcjonowania społecznego, zab.ap- zaburzenia apetytu.

Z danych przedstawionych na Rycinie 17 można wnioskować, że PCA stanowi najbardziej skuteczną metodę dla zadanej matrycy. Nie zachodzi w tym przypadku rozpad klinicznie wyjaśnianych wymiarów na mniejsze jednostki, które są trudne do zinterpretowania. Analiza FA spełniała swoje zadanie przy podziale na mniejszą liczbę czynników jednak taki model wyjaśnia mniejszy odsetek wariancji pierwotnego zbioru danych.

4.3.2. Stabilność uzyskanej struktury.

Rycina 19 przedstawia stabilność struktury wymiarów w grupie schorzenia afektywnego dwubiegunowego. Główne oraz największe domeny, takie jak depresyjna, manii i psychotyczna, zostają wyróżnione przy minimalnej liczbie czynników. Jako oddzielną jednostkę wyodrębniono atypową depresję. Najważniejsze podwymiary depresji obserwowane są przy podziale na 6 czynników/składowych. Zwiększanie liczby czynników prowadzi do identyfikacji nowych zbiorów ale równocześnie pociąga za sobą rozpad niektórych jednostek. Stosunkowo stabilna i niezmienna struktura potwierdza wcześniejszą obserwację dotyczącą korzystnego wzrostu wartości współczynnika wewnętrznej spójności α Cronbacha.



Rycina 19. Zmienność i stabilność uzyskanej struktury (rotacja *varimax*), opublikowane w [114]. Oznaczenia wymiarów/podwymiarów: dep: depresja, suicyd- tendencji samobójczych, zab.ap- zaburzenia apetytu, at- atypowa depresja, psych- psychotyczny, ne- negatywny, zab.snu- zaburzeń snu, zab.pos- zaburzenia postrzegania, nn- wymiar klinicznie niewyjaśniany. Oznaczenia zdarzeń: m- dzielenie się wymiarów, ** całkowity rozpad wymiaru, * częściowy rozpad wymiaru. Na osi X przedstawiono liczbę wyróżnionych wymiarów, na osi Y liczbę wyjaśnianych klinicznie wymiarów.

Podczas dzielenia pierwotnej macierzy na 7 i mniej czynników/składowych obserwowano porównywalną skuteczność metod PCA i FA. Zwiększanie tego parametru wpływało korzystnie na wyniki analizy głównych składowych. Optymalny stosunek liczby wymiarów wydzielonych do klinicznie wyjaśnianych obserwowano przy podziale na 12 czynników/składowych. W przypadku metody PCA (Rycina 17) nie stwierdzono obecności jednostek trudnych do interpretacji.

4.4. Struktura czynnikowa grupy połączonej

Struktura czynnikowa grupy połączonej charakteryzuje się złożonością i wielowymiarowością podobnie jak w poprzednio analizowanych populacjach. Klinicznie interpretowalne wymiary, takie jak depresji i atypowej depresji, manii, dezorganizacji, uzależnieniowy, pozytywny/urojeniowy, negatywny, funkcjonowania społecznego oraz psychotyczny, wyjaśniają 64% wariacji pierwotnego zbioru danych.

4.4.1. Porównanie modeli w zależności od użytej skali/metody.

Wartość KMO wskazuje na statystyczną użyteczność macierzy użytej do obliczeń (Rycina 20). W całej analizowanej populacji stwierdzono złożoną strukturę wymiarów pozytywnego/urojeniowego oraz depresji.

KMO: skala 0-3=0,784, orig.=0,793

item	PCA orig.	PCA skala 0-3	FA skala orig.	FA skala 0-3
zmniejszona aktywność psychoruchowa	0,796	0,810	0,593	0,783
obniżenie energii / nadmierna męczliwość	0,739	0,752	0,586	0,769
nastrój obniżony	0,667	0,661	0,551	0,664
poranne nasilenie objawów depresji	0,409	n.a	0,572	n.a
anhedonia	0,711	0,721	0,634	0,693
obniżony popęd seksualny	0,523	0,606	0,553	0,553
obniżenie zdolności koncentracji	0,721	0,724	0,523	0,638
myśli samobójcze	0,475	0,463	0,513	0,430
poczucie winy	0,458	0,568	0,582	0,450
urojenia winy	0,722	0,841	0,289	0,205
trudności w zasypianiu	0,653	0,709	0,507	0,489
budzenie się w nocy	0,646	0,825	0,522	0,616
przedwczesne budzenie się	0,526	0,487	0,590	0,496
osłabiony apetyt	0,550	0,746	0,856	0,867
utrata masy ciała	0,588	0,815	0,627	0,643
nadmierna senność	0,478	n.a	0,373	n.a
nadmierny apetyt	0,896	0,911	0,842	0,819
wzrost masy ciała	0,891	0,911	0,847	0,869
dziwaczne zachowanie	0,584	0,616	0,502	0,552
niezrozumiała mowa (nielogiczna)	0,688	0,668	0,567	0,545
rozkojarzenie mowy	0,664	0,652	0,606	0,599
neologizmy, "ześlizgi myślowe", zaburzenia asocjacji	0,592	0,581	0,566	0,554
afekt niedostosowany	0,547	0,594	0,517	0,564
urojenia dziwaczne	0,378	0,432	0,332	0,392
relacje społeczne przed chorobą	0,267	0,551	0,183	0,235
aktywność zawodowa przed chorobą	0,363	0,649	0,039	0,110
wzmoczony napęd psychoruchowy	0,818	0,821	0,776	0,813
epizody zachowania lekkomyślnego	0,785	0,797	0,779	0,787
nadmierna przerzutność uwagi	0,829	0,822	0,821	0,826
zmniejszona potrzeba snu	0,790	0,784	0,763	0,769
wielomówność	0,823	0,820	0,814	0,823
przyspieszony tok myślenia	0,822	0,821	0,815	0,824
podwyższony nastrój	0,784	0,774	0,737	0,769
nastrój drażliwy	0,470	0,520	0,452	0,455
wzrost relacji interpersonalnych	0,736	0,704	0,647	0,639
wzmoczone poczucie własnej wartości	0,632	0,717	0,540	0,608
urojenia wpływu	0,374	0,740	0,728	0,737
pierwotne postrzeganie urojeniowe	0,607	0,755	0,754	0,765
automatyzmy ideacyjne	0,582	0,750	0,702	0,693
urojenia "odciągania myśli"	0,674	0,728	0,648	0,649
urojenia odsłonięcia	0,628	0,643	0,567	0,574
nagłaśnianie myśli	0,696	0,681	0,585	0,593
urojenia prześladowcze	0,739	0,459	0,263	0,498
obecność halucynacji i urojeń (1 tydzień)	0,736	0,561	0,534	0,657
urojenia prześladowcze, zazdrości będące interpretacjami halucynacji	0,734	0,729	0,422	0,460
głosy zwracające się do pacjenta w 3 osobie	0,740	0,544	0,682	0,467
głosy komentujące	0,617	0,589	0,673	0,589
głosy obrażające, oskarżające, prześladowujące pacjenta	0,686	0,713	0,581	0,498
używanie substancji psychoaktywnych rok przed chorobą	0,833	0,612	0,190	0,567
uzależnienie, nadużywanie alkoholu w wywiadzie	0,806	0,753	0,199	0,355
uzależnienie, nadużywanie kanabinoli w wywiadzie	n.a.	0,576	n.a.	0,761
inne uzależnienia, nadużywanie w wywiadzie	n.a.	0,783	n.a.	0,551
zaburzenia psychiczne spowodowane używaniem alkoholu w wywiadzie	n.a.	0,657	n.a.	0,662
zaburzenia psychiczne spowodowane innymi substancjami w wywiadzie	n.a.	0,756	n.a.	0,593
urojenia dezorganizujące funkcjonowanie pacjenta	0,347	0,448	0,620	0,430
pierwotne postrzeganie urojeniowe	0,333	0,631	0,625	0,612
inne urojenia pierwotne	0,532	0,745	0,657	0,684
inne rodzaje halucynacji (nieafektywnych)	0,467	0,440	0,332	0,348
obniżona ekspresja afektu	0,223	0,255	0,757	0,592
blady afekt	0,302	0,333	0,402	0,444

Rycina 20. Struktura czynnikowa grupy połączonej [114]. Kolorami oznaczono wymiary i podwymiary: niebieski: depresja, zielony: mania, fioletowy: wymiar pozytywny/urojeniowy, pomarańczowy: wymiar dezorganizacyjny, różowy: wymiar funkcjonowania społecznego, ciemny różowy: wymiar psychotyczny, żółty: wymiar negatywny, czerwony: wymiar uzależnieniowy, szary: łączny. PCA, ML: metody redukcji wymiarowości. W tabeli przedstawiono ładunki czynnikowe, z zastosowaniem rotacji *promax*.

Domena depresji wykazywała wrażliwość na wybór odpowiedniej skali oraz metody. Główny podwymiar depresji (zmniejszona aktywność psychoruchowa, obniżenie energii/męczliwość, nastrój obniżony, anhedonia, obniżenie zdolności koncentracji, obniżony popęd seksualny, myśli samobójcze) pozostaje stabilny w modelach generowanych przez PCA oraz FA na przeskalowanym OPCRIT. Podwymiar zaburzeń snu oraz zaburzeń apetytu zostają wydzielone jako oddzielne jednostki i nie pojawiają się w strukturze generowanej za pomocą PCA podczas stosowania oryginalnej matrycy OPCRIT. Poczucie winy i urojenia

winy tworzą podwymiar tendencji samobójczych, który obecny jest wyłącznie w modelach generowanych przez analizę głównych składowych. Domena psychotyczna (urojenia dezorganizujące życie pacjenta, pierwotne postrzeganie urojeniowe, inne urojenia pierwotne, inne rodzaje halucynacji nieafektywnych) okazała się być bardzo wrażliwa na wybór skali/metody. Analiza czynnikowa wykrywa w tym przypadku identyczny wymiar, z pewnymi tylko różnicami w ładunkach czynnikowych, bez względu na skalę OPCRIT. Natomiast zastosowanie metody PCA na oryginalnej skali OPCRIT nie pozwoliło na detekcję wymiaru psychotycznego. Domena manii (wzmoczony napęd psychoruchowy, epizody zachowania lekkomyślnego, nadmierna przerzutowość uwagi, zmniejszona potrzeba snu, wielomówność, przyśpieszony tok myślenia, podwyższony nastrój, nastrój drażliwy, wzrost relacji interpersonalnych, wzmożone poczucie własnej wartości) oraz FRS1 (urojenia wpływu, pierwotne postrzeganie urojeniowe, automatyzmy ideacyjne, urojenia „odciągania” myśli, urojenia odsłonięcia, nagłośnienie myśli) pozostają stabilne i niezmiennie dla każdego z modeli. W przypadku drugiego z podwymiarów pozytywnych (FRS2) wydzieliła się jedna ze zmiennych (urojenia prześladowcze, zazdrości będące interpretacjami halucynacji). Domena opisująca funkcjonowanie społeczne (relacje społeczne przed chorobą, zatrudnienie przed chorobą) zostaje wydzielona wyłącznie przez metodę PCA zastosowaną na przeskalowanym OPCRIT.

Opisane powyżej różnice między wymiarami znajdują swoje odzwierciedlenie w wartościach współczynnika wewnętrznej spójności. W przypadku wymiaru manii wartość współczynnika wynosi 0,931 i jest najwyższa we wszystkich analizowanych grupach. Główny podwymiar depresji oraz podwymiar zaburzeń snu charakteryzuje niższy poziom α Cronbacha niż w przypadku BP, obserwujemy w tym wypadku spadek z 0,8874 do 0,871 oraz z 0,7491 do 0,6956, odpowiednio dla obu podwymiarów. Oba podwymiary urojeniowe cechuje wysoka spójność wewnętrzna, która jest wyższa niż w grupie schizofrenii. W przypadku podwymiary pozytywnego FRS2 współczynnik rośnie z 0,8537 do 0,8832.

	mania	poz1	dez	dep1	poz2	psych	uz	zab.snu
mania								
poz1	-0,574							
dez	-0,598	0,585						
dep1	0,349	-0,259	-0,341					
poz2	-0,568	0,574	0,512	-0,267				
psych	-0,564	0,430	0,393	-0,176	0,529			
uz	-0,086	0,156	0,088	-0,126	0,117	0,089		
zab.snu	0,338	-0,292	-0,394	0,497	-0,312	-0,245	-0,106	
zab.ap	0,364	-0,327	-0,386	0,381	-0,257	-0,182	-0,091	0,440
at	0,031	0,050	0,003	0,107	0,005	0,016	0,037	-0,020
suic	0,313	-0,175	-0,362	0,357	-0,181	-0,197	-0,021	0,387
al.	0,058	0,002	0,074	0,032	0,028	-0,028	0,109	0,081
spol	-0,216	0,134	0,234	-0,169	0,209	0,189	-0,082	-0,157

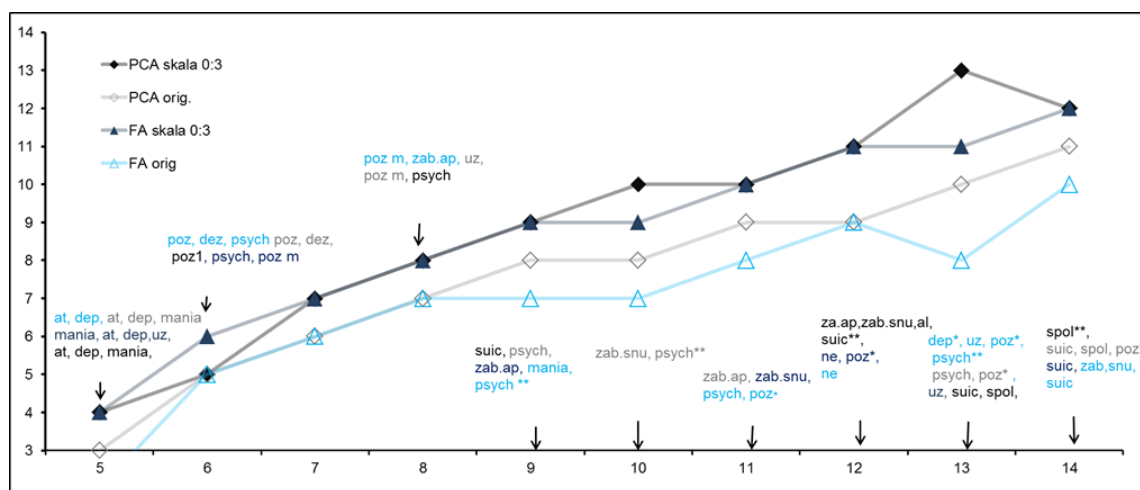
Rycina 21. Współczynniki korelacji między wymiarami grupy połączonej [114]. Oznaczenia wymiarów/podwymiarów: dep1- główny podwymiar depresji; poz1, poz2- podwymiary pozytywne/urojeniowe; psych- psychotyczny; dez- dezorganizacji; uzal.- uzależnieniowy; al- uzależnienie od alkoholu; ne- negatywny; spol- funkcjonowania społecznego; zab.ap- zaburzenia apetytu.

Współczynniki korelacji między wymiarami przyjmują najwyższe wartości w grupie połączonej. Wysoką, negatywną korelację ($r=-0,598$) stwierdzono między wymiarami manii oraz dezorganizacji. Z kolei istotną, pozytywną zależność ($r=0,585$) wykryto dla domeny dezorganizacji oraz części pozytywnej/urojeniowej. Zaobserwowano także korelacje między podwymiarami wymiaru pozytywnego ($r=0,574$), zaburzeniami snu i apetytu ($r=0,440$), oraz zaburzeniami snu i głównym podwymiarem depresji ($r=0,497$). Ze względu na wysokie współczynniki korelacji zaprezentowana została struktura wymiarów otrzymana przy pomocy rotacji *promax*. Rotacja *varimax* generowała wysoce niestabilne modele w całej analizowanej populacji, bez względu na zastosowaną skalę/metodę. Z kolei w przypadku populacji schizofrenii oraz schorzenia afektywnego dwubiegunowego różnice były niezauważalne.

4.4.2. Stabilność uzyskanej struktury

Najniższą skutecznością wykazała się metoda PCA, którą stosowano na oryginalnym OPCRIT. Nie umożliwiła ona wykrycia domeny psychotycznej, dezorganizacji oraz podwymiarów zaburzeń snu i apetytu. Wyniki wyższej jakości w przypadku oryginalnej skali OPCRIT otrzymywano przy pomocy analizy czynnikowej. Takie podejście umożliwiło detekcję typowych domen, takich jak psychotyczna i dezorganizacji, zbudowanych z mniejszej liczby zmiennych. Przykładowo, na skutek rozpadu głównego podwymiaru depresji wyłoniła się jednostka trudna do zidentyfikowania (zmniejszona aktywność psychoruchowa, obniżenie energii/nadmierna męczliwość). Skuteczność analiz czynnikowej oraz głównych składowych na przeskalowanej macierzy jest zbliżona. Na korzyść PCA przemawia wykrycie wymiaru zaburzeń społecznych.

Rycina 22 przedstawia zależność stabilności uzyskanej struktury od użytych parametrów. Dla metody FA zastosowanej na danych w skali 0-3 można zaobserwować gwałtowny spadek skuteczności działania algorytmu przy podziale na 12 i więcej czynników (linia jasnoniebieska na wykresie). Zachodzi wówczas rozpad uprzednio zidentyfikowanych zbiorów, co zwiększa różnicę między liczbą wymiarów klinicznie interpretowalnych i wydzielonych. Zastosowanie PCA na tej samej skali generuje modele wyższej jakości, to znaczy z mniejszą liczbą małych zbiorów trudnych do interpretacji. Podczas wyodrębniania składowych w liczbie 12 i więcej zaobserwowano liniowy wzrost skuteczności. Skuteczność metod PCA i FA pozostaje taka sama przy podziale na 5-8 czynników. W przedziale parametrów 9-12 wykresy obrazujące skuteczność działania analizy głównych składowych oraz czynnikowej stanowią linie równoległe (Rycina 22). Podobna sytuacja zachodzi w przypadku modeli uzyskanych dla skali 0-3.



Rycina 22. Zmienność i stabilność uzyskanej struktury (rotacja *promax*). Oznaczenia wymiarów podywymiarów: dep: depresja, suic-suicydalny; zab.ap- zaburzenia apetytu; at- atypowa depresja, poz.- pozytywny/urojeniowy; psych- psychotyczny; dez- dezorganizacyjny; ne – negatywny; zab.snu- zaburzeń snu; zab.pos- zaburzenia postrzegania; nn- wymiar klinicznie niemożliwy do opisan. Oznaczenia zdarzeń: m- dzielenie się wymiarów, ** całkowity rozpad wymiaru, * częściowy rozpad wymiaru. Oś X przedstawia liczbę wyróżnionych wymiarów, oś Y liczbę wymiarów wyjaśnianych klinicznie .

W przypadku matrycy przeskalowanej, modele uzyskane z pomocą metod PCA oraz FA można traktować jako konkurencyjne. Wydzielenie 13 czynników/składowych powoduje powstanie różnicy na korzyść analizy głównych składowych. Wykres wraz z strukturą wymiarową sugeruje, że podobnie jak w poprzednio analizowanych populacjach, najlepsze modele generuje metoda PCA stosowana na przeskalowanym OPCRIT.

4.5. Asocjacje z wymiarami

Dysponując wiedzą o strukturze wymiarów klinicznych analizowanych populacji, zbadano asocjacje genetyczne z obecnością zmienności SNP w danym genie. Wyniki uzyskano z użyciem programu PLINK oraz testu Kruskala-Wallisa. Cztery markery genu *MTNR1A* oraz jeden *DISC1* wykazały istotne asocjacje z wymiarami klinicznymi.

4.5.1. Asocjacje cechy ilościowej z genem *MTNR1A*

Spośród markerów receptora melatoniny 1A cztery wykazały istotne powiązania z badanym fenotypem. Asocjacje zachowały istotność po zastosowaniu korekcji na wielokrotne testowanie.

lokalizacja	nazwa SNP	SCH	BP	SCH+BP
MTNR1A promotor	rs4862709	psych (0,005791, korekcja=0,01605)	psych (p: 0,006023, korekcja= 0,042161)	brak
MTNR1A promotor	rs6553013	psych(0,01609, korekcja=0,045)	psych(0,003685, korekcja=0,05159)	brak

Rycina 23. Analizy asocjacji z wymiarem jako cechą ilościową, wygenerowane w programie PLINK. Oznaczenia wymiarów/podwymiarów: psych: domena psychotyczne, zab.snu: podwymiar zaburzeń snu.

Korzystając z programu PLINK znaleziono asocjację między domeną psychotyczną a markerem **rs6553013**. Istotne zależności zauważono w grupie schizofrenii oraz schorzenia afektywnego dwubiegunowego. Chociaż pierwotnie wynik sugerował bardziej istotny związek z BP ($p=0,003585$), to po korekcji na wielokrotne testowanie istotna pozostaje tylko asocjacja ze schizofrenią ($p=0,045$ asocjujący allel C). Nie stwierdzono zależności w grupie połączonej.

SCH Tabela licznosci: rs4862709				SCH+BP Tabela licznosci: rs6553013			
Klasa	Liczba	Skumulow. Liczba	Procent	Klasa	Liczba	Skumulow. Liczba	Procent
0	6	6	1,57895	0	38	38	4,96732
AA	185	191	48,68421	CT	316	354	41,30719
GA	145	336	38,15789	TT	327	681	42,74510
GG	44	380	11,57895	CC	84	765	10,98039
Braki	0	380	0,00000	Braki	0	765	0,00000

Rycina 24. Licznosci genotypow dla markera rs6553013 w grupie schizofrenii oraz całej analizowanej populacji.

Także test Kruskala-Wallisa sugeruje powiązanie SNP **rs6553013** ze znalezionymi wymiarami. W grupie schizofrenii zaobserwowano asocjację z wymiarem funkcjonowania społecznego ($p=0,002$; po korekcji 0,03). Istotną zależność zaobserwowano między genotypami CT a CC. W grupie schorzenia afektywnego dwubiegunowego nie wykryto zależności. W całej analizowanej populacji, marker genu *MTNR1A* wykazał asocjacje z

domeną psychotyczną ($p=0,0085$; po korekcji 0,018) oraz funkcjonowania społecznego ($p=0,0002$; po korekcji=0,003). Zarówno w grupie schizofrenii, jak i połączonej populacji istotne zależności znaleziono między genotypami CT oraz CC.

Wśród genotypów markera **rs6553013** (Rycina 25) najliczniej reprezentowana jest homozygota TT (46,84% przypadków), natomiast układ CT zaobserwowano u 39,24% przypadków. Najrzadziej obserwowano homozygotę CC (12,27%). Liczba braków, oznaczonych jako 0, wynosi 1,58%. W całej analizowanej populacji różnica częstości między homozygotą TT a heterozygotą CT wynosi nieco ponad 1%. Homozygota CC wystąpiła u 10,98% badanych. Odsetek braków wzrósł do 4,97% i nie przekroczył górnej granicy 5%.

lokalizacja	nazwa SNP	SCH	BP	SCH+BP
MTNR1A promotor	rs11721818	spol(0,007;korekcja=0,039)	brak	spol(0,0016; korekcja=0,016)
MTNR1A	rs6553013	spol(0,002; korekcja=0,03)	brak	psych(0,00085; korekcja=0,018), spol(0,0002; korekcja=0,003)

Rycina 25. Analizy asocjacji z wymiarem jako cechą ilościową wygenerowane z pomocą testu Kruskala-Wallisa. Oznaczenia wymiarów/podwymiarów: psych: domena psychotyczna; zab.snu: podwymiar zaburzeń snu.

Marker **rs4862709**, który zlokalizowany jest w regionie promotorowym genu *MTNR1A*, wykazał silną asocjację między domeną psychotyczną w grupie schizofrenii oraz schorzenia afektywnego dwubiegunowego. Najsilniejszy związek stwierdzono wśród osób z diagnozą SCH ($p=0,00058$; po korekcji 0,016, asocjujący allel G). Wśród pacjentów z BP zależność była słabsza ($p=0,006023$; po korekcji 0,042, asocjujący allel : T).

Klasa	SCH Tabela licznosci: rs11721818			Klasa	SCH+BP Tabela licznosci: rs11721818		
	Liczba	Skumulow. Liczba	Procent		Liczba	Skumulow. Liczba	Procent
0	19	19	5,00000	0	26	26	3,39869
AT	139	158	36,57895	AT	313	339	40,91503
AA	171	329	45,00000	AA	329	668	43,00654
TT	51	380	13,42105	TT	97	765	12,67974
Braki	0	380	0,00000	Braki	0	765	0,00000

Rycina 26. Licznosci genotypów dla markera rs11721818 w grupie schizofrenii oraz całej analizowanej populacji

Zarówno w populacji schizofrenii, jak i w grupie połączonej, stwierdzono asocjację między wymiarem funkcjonowania społecznego a markerem **rs11721818**, przy czym silniejszy związek wystąpił w grupie połączonej ($p=0,0016$; po korekcji 0,016). SNP jest zlokalizowany w tym przypadku w regionie promotorowym *MTNR1A*. Istotną zależność wykryto dla par genotypów AT oraz TT. Słabszą asocjację wykryto w populacji schizofrenii ($p=0,007$; po korekcji 0,039), gdzie istotną zależność wykazano dla par genotypów AT oraz AA.

Tabele liczności przedstawione na Rycinie 26 wskazują, że zarówno w schizofrenii jak i w całej analizowanej populacji odsetek braków nie przekracza 5%. W połączonej populacji silniejsze istotne zależności dla par genotypów AT oraz TT zidentyfikowano łącznie u około 53% osób. Z kolei wśród pacjentów ze schizofrenią asocjacje wykryto między najliczniejszymi genotypami: AT (36,58%) i AA (45%).

4.5.2. Asocjacje z genem DISC1

W całej analizowanej populacji stwierdzono asocjację ($p=0,0083$ korekcja=0,325; asocjujący allel: T) między markerem **rs1000730** a podwymiarem zaburzeń snu, stanowiącym część domeny depresji. SNP jest zlokalizowany w tym przypadku w intronowym regionie genu *DISC1*. Nie stwierdzono asocjacji dla wspomnianego markera w populacji ze schorzeniem afektywnym dwubiegunowym. W grupie pacjentów ze schizofrenią wartość P dla asocjacji bez korekcji wyniosła 0,03. Po korekcji na wielokrotne testowanie istotność nie została zachowana.

4.6. Przewidywanie i klasyfikacja obecności wymiarów klinicznych w wynikach badania testu OPCRIT w oparciu o klasyfikatory statystyczne

Uzyskanie danych dotyczących obecności i składu wymiarów chorobowych dla schizofrenii i choroby afektywnej dwubiegunowej zainspirowało nas to przetestowania możliwości automatycznego przewidywania ich obecności w oparciu o wyniki testu OPCRIT dla poszczególnych pacjentów. Identyfikacja metod i modeli umożliwiających tego typu analizy stanowiłoby ważny element wspomagający jakość i wydajność diagnostyki badanych chorób. Przedstawione poniżej testy wskazują na bardzo zróżnicowany potencjał testowanych narzędzi w zależności od badanego wymiaru i wybranej grupy chorych.

Początkowo we wszystkich analizach używano system trójklasowy: wymiar obecny = 2, częściowo obecny = 1 oraz nieobecny = 0. Główny problem jednak stanowiła w tym systemie definicja klasy „częściowo obecny” - granice definiujące tę klasę okazały się zbyt płynne. Klasyfikator przyporządkował nowe obiekty do klas (obecny, częściowo obecny oraz nieobecny) z wysokim odsetkiem poprawności, jednak przy bardzo niskiej specyficzności i/lub czułości. Dlatego ostatecznie przyjęto dwuklasowy system.

W dalszych częściach Rozdziału zostaną omówione wyniki klasyfikacji dla wybranych wymiarów/podwymiarów. W przypadku predykcji obecności/braku danej jednostki klinicznej

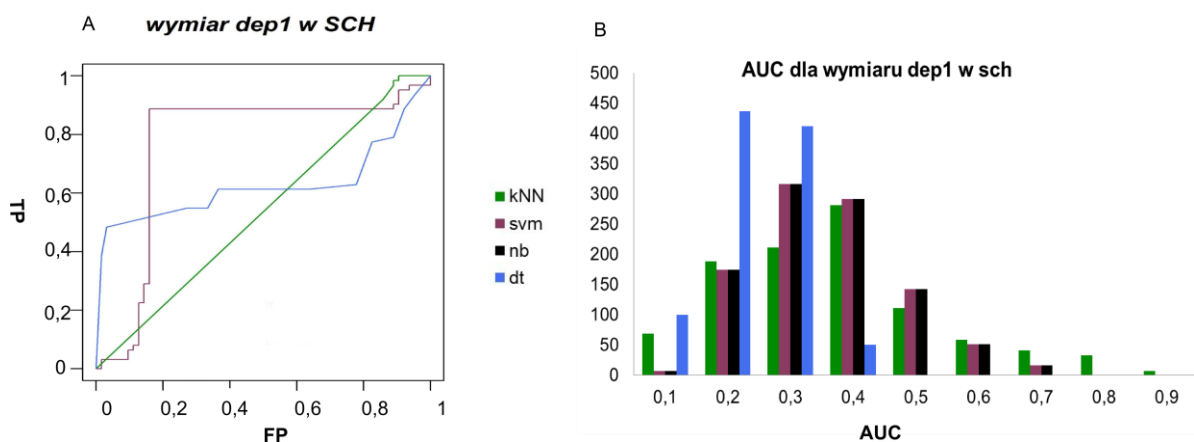
ze względu na przyjęty system określania klas nie analizowano zbiorów złożonych z mniej niż 3-4 elementów. Analizując całą połączoną grupę prócz określenia obecności/braku wymiaru sprawdzono możliwość rozróżnienia pacjentów ze schizofrenią od pacjentów ze schorzeniem afektywnym dwubiegunowym. Ponieważ w przebiegu drugiej z chorób nie występują objawy pozytywne/wytwórcze oraz dezorganizacji nie budowano modeli predykcyjnych dla wymiarów złożonych ze zmiennych (itemów) opisujących wymienione objawy.

4.6.1. Przewidywanie obecności wymiarów klinicznych w grupie schizofrenii

Przewidywanie obecności/nieobecności wymiarów poprzez zastosowanie klasyfikatorów statystycznych w grupie chorych na schizofrenię przeprowadzono dla największych zidentyfikowanych wcześniej zbiorów objawów: depresji, pozytywnego / urojeniowego oraz manii.

4.6.1.1. Wymiar depresji

Pierwszym analizowanym zbiorem był główny podwymiar depresji (dep1). Przykład potencjału tworzenia modelu predykcyjnego dla testowanych klasyfikatorów przedstawiony jest na Rycinie 27A w formie krzywych ROC. Ze względu na nałożenie wykresów w przypadku metod maszyny wektorów nośnych (SVM) oraz naiwnego klasyfikatora Bayesa widoczna jest krzywa tylko dla jednego klasyfikatora.

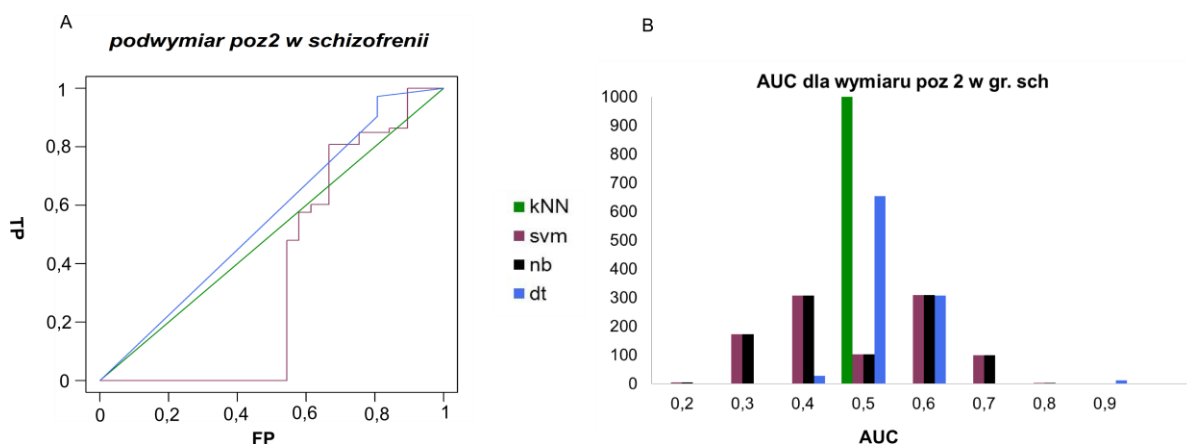


Rycina 27. Działanie klasyfikatorów dla głównego podwymiaru depresji w grupie schizofrenii. Oznaczenia algorytmów: maszyna wektorów nośnych (SVM); k-najbliższych sąsiadów (kNN); drzewa decyzyjne (DT). Na wykresie A znajduje się losowa krzywa ROC; na wykresie B rozkład wartości AUC uzyskanych w czasie kolejnych powtórzeń procesu trenowania-testowania algorytmu.

Analiza kształtu wykresu ROC sugeruje stosunkowo niską skuteczność wszystkich testowanych algorytmów. Wśród nich algorytm dla k-najbliższych sąsiadów oraz naiwny klasyfikator Bayesa wskazują na wartości predykcji zbliżone do losowych (wartość AUC zbliżona do 0.5; na Rycinie 27A oznaczone linią zieloną). Znacznie lepszą skuteczność osiąga klasyfikator drzew decyzyjnych (wartość AUC=0,625) oraz metoda oparta na maszynie wektorów nośnych (wartości AUC = 0,767). Niestety, dokładniejsza analiza polegająca na sprawdzeniu częstości występowania poszczególnych wartości AUC dla szeregu powtórzeń procesu trenowania i testowania wykazała, że najczęściej wartości współczynnika AUC zawierały się w przedziale 0,2 – 0,4 (Rycina 27B). Tylko w przypadku około 30 pomiarów współczynnik AUC przekraczał wartość 0,8. Ze względu na małą stabilność predykcijną uzyskanych modeli (Rycina 27B), nie można jednoznacznie wskazać klasyfikatora, który pozwalałby na przewidywanie głównego podwymiaru depresji w testowanej grupie chorych na schizofrenię.

4.6.1.2. Podwymiar pozytywny 2

Wyniki przewidywania podwymiaru pozytywnego 2 w grupie schizofrenii przedstawione są na Rycinie 28. Ze względu na nałożenie krzywych ROC dla maszyny wektorów nośnych oraz naiwnego klasyfikatora Bayesa na wykresie widoczna jest krzywa tylko dla pierwszego klasyfikatora. Podobnie jak w przypadku głównego podwymiaru depresji krzywe ROC wskazują na słabą skuteczność wygenerowanych modeli. W przeciwieństwie jednak do poprzednio przeprowadzonych analiz z wykorzystaniem powtórzeń procesu trenowania-testowania współczynnik AUC przekraczał wartość 0,9 dla metod SVM i NB. Dla algorytmu drzew decyzyjnych stwierdzono najwięcej przypadków, gdzie AUC zawierał się w przedziale między 0,6 a 0,8. Dla modeli opartych na klasyfikatorze k-najbliższych sąsiadów AUC utrzymywał się na stałym, losowym poziomie (wartość około 0,5)

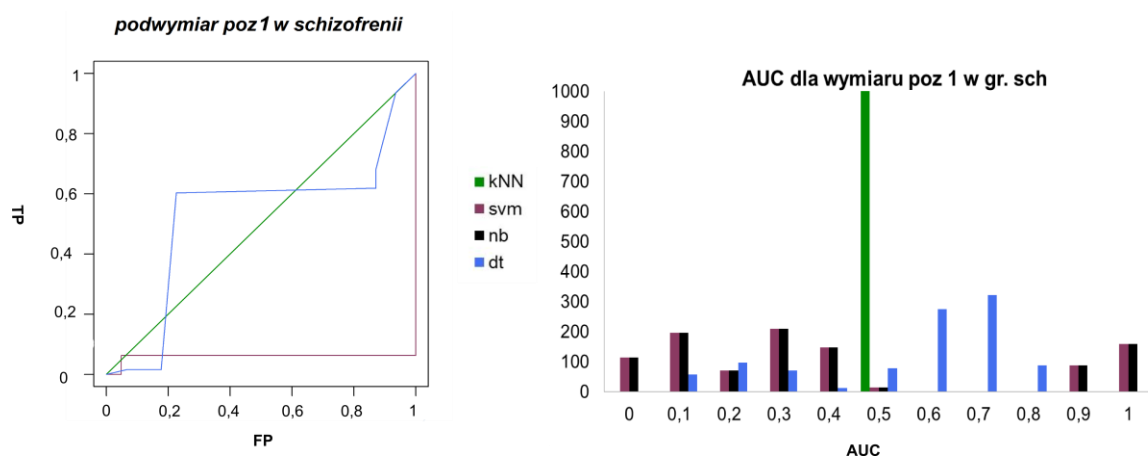


Rycina 28. Działanie klasyfikatorów dla podwymiary pozytywnego 2 w grupie schizofrenii. Na wykresie A przedstawiono ROC uzyskane w badanej grupie, na wykresie B rozkład wartości AUC uzyskanych w czasie kolejnych powtórzeń procesu trenowania-testowania algorytmu.

Podobnie jak w poprzednim wypadku słaba jakość modeli wygenerowanych przez poszczególne klasyfikatory wskazuje na ich niską użyteczność w procesie predykcji podwymiary pozytywnego 2 w grupie chorych na schizofrenię.

4.6.1.3. Podwymiary pozytywny 1

Analiza wyników przedstawionych w formie wykresu ROC dla podwymiary pozytywnego 1 w grupie schizofrenii sugeruje dużą skuteczność predykcji dla modelu wygenerowanego przy pomocy metody maszyny wektorów nośnych (SVM) oraz naiwnego klasyfikatora Bayesa (Rycina 29A – nakładające się krzywe dla obu metod). Niestety, z rozkładu wartości AUC dla obu klasyfikatorów wynika, że modele o takim potencjale predykcyjnym pojawiają się losowo i stanowią niewielką frakcję wyników otrzymanych w procesie trenowania-testowania (Rycina 29B).

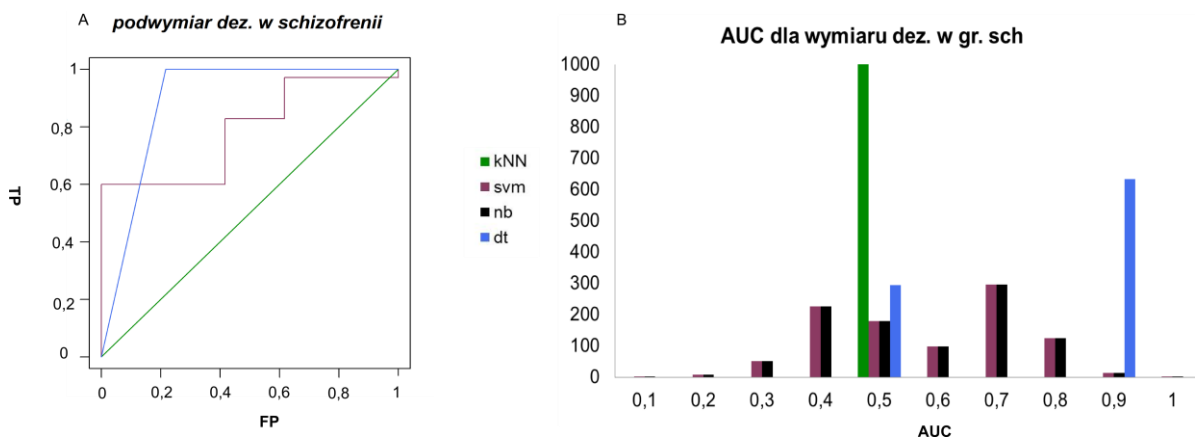


Rycina 29. Działanie klasyfikatorów dla podwymiary urojeniowego 1 w grupie SCH. Na wykresie A przedstawiono ROC uzyskane w badanej grupie, na wykresie B rozkład wartości AUC uzyskanych w czasie kolejnych powtórzeń procesu trenowania-testowania algorytmu.

W przypadku klasyfikatora k-najbliższych sąsiadów współczynnik AUC przyjmował stałą wartość równą 0,5. Skuteczność takiego modelu jest całkowicie losowa i nieprzydatna do praktycznych zastosowań. Podobnie jak w poprzednich wypadkach trudno wskazać, który klasyfikator działa najskuteczniej. Co prawda, w przypadku drzew decyzyjnych dostrzec można frakcję wyników o wartościach AUC na poziomie 0,6 – 0,7 ale częstość występowania takich modeli była zbyt rzadka, aby można było stosować ten klasyfikator w praktyce klinicznej.

4.6.1.4. Wymiar dezorganizacji

Wymiar dezorganizacji nie występuje w grupie pacjentów ze schorzeniem afektywnym dwubiegunowym. Przedstawione na Rycinie 30A przykładowe krzywe ROC wskazują podobnie jak w poprzednich wypadkach, że najwyższą skuteczność predykcji zapewniają metody oparte na algorytmach maszyn wektorów nośnych (SVM) oraz naiwnego klasyfikatora Bayesa. Dodatkowo, w przypadku wymiaru dezorganizacji wysokie wartości specyficzności i selektywności wykazuje model utworzony przy pomocy metody drzew decyzyjnych. Kształt krzywych ROC ma swoje odzwierciedlenie w rozkładzie wartości AUC (Rycina 30B) i potwierdza obecność potencjalnie użytecznych modeli predykcyjnych.



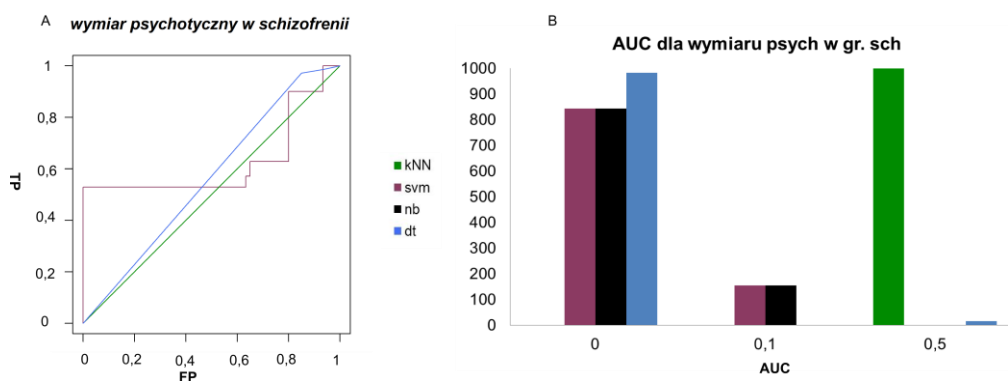
Rycina 30. Algorytmy i ich działanie dla domeny dezorganizacji w populacji schizofrenii. Wykres A ilustruje krzywą ROC; B rozkład wartości AUC uzyskanych w czasie kolejnych powtórzeń procesu trenowania-testowania algorytmu

Obserwując histogram AUC dla maszyny wektorów nośnych oraz naiwnego klasyfikatora Bayesa dostrzec można dwa dominujące sygnały w zakresie 0,3 do 0,5 oraz 0,6 do 0,8. Taki rozkład częstości występowania wartości AUC wskazuje na heterogenność wyników, w których zarówno skuteczny model, jak i model bezużyteczny pojawiają się ze zbliżoną częstością. Dla metody wykorzystującej algorytm drzew decyzyjnych uzyskano modele generujące wyniki losowe (wartości AUC zbliżone do 0,5) oraz modele o bardzo wysokiej

zdolności predykcyjnej (wartości AUC w granicach 0,9). Z przeprowadzonej analizy wynika, że testowana grupa schizofrenii pozwala na stworzenie poprawnego i skutecznego modelu do predykcji wymiaru dezorganizacji. Można więc przyjąć, że algorytm drzew decyzyjnych jest obiecującym kandydatem do zastosowań praktycznych, jednak konieczne jest w tym przypadku przeprowadzenie prób na innych grupach chorych. Ten aspekt pracy został szerzej omówiony w Dyskusji.

4.6.1.5. Domena psychotyczna

Domena psychotyczna reprezentowała najbardziej zmienny charakter wśród analizowanych grup. Prawdopodobnie z tego powodu budowa modelu predykcyjnego sprawiała problemy wszystkim testowanym algorytmom (Rycina 31). Kształt krzywych ROC sugeruje, że modele generują wartości zbliżone do losowych. Szczególnie jest to widoczne na histogramie przedstawiającym rozkład wartości AUC (Rycina 31B). W przeciwieństwie do wyników przewidywania obecności poprzednio przedstawionych podwymiarów, w przypadku domeny psychotycznej żaden z klasyfikatorów w teście krzyżowym nie wygenerował wartości AUC przekraczających 0,5.



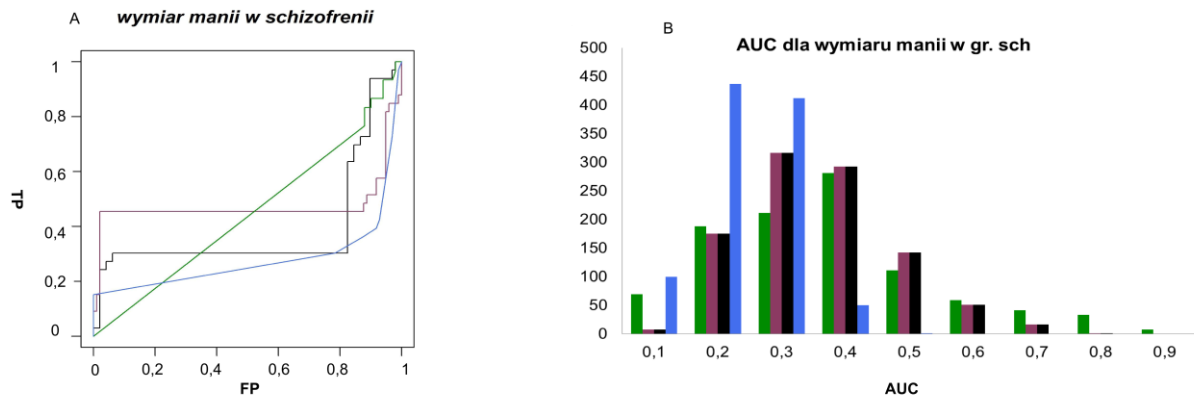
Rycina 31. Działanie klasyfikatorów w wymiarze psychotycznym. Wykres A ilustruje krzywą ROC zaś wykres B rozkład wartości AUC.

Należy zwrócić uwagę, że klasyfikatory które generowały potencjalnie użyteczne modele w analizach poprzednich wymiarów (np. SVM lub drzewa decyzyjne), wydają się być bezużyteczne do przewidywania obecności/braku domeny psychotycznej.

4.6.1.6. Wymiar manii

W przypadku domeny manii przykładowe krzywe ROC wskazują na całkowity brak skuteczności testowanych klasyfikatorów (Rycina 32A). Tak jak w poprzednich przypadkach, metoda k-najbliższych sąsiadów wygenerowała model, który prowadzi do predykcji o

charakterze losowym (przekątna na wykresie). Kształt wykresu ROC dla pozostałych metod wyraźnie odbiega od krzywej oczekiwanej dla optymalnego klasyfikatora, co odpowiada wartościom współczynnika AUC w zakresie 0,1 - 0,7. Obserwacje te potwierdza histogram rozkładu częstości wartości AUC w wielokrotnym teście krzyżowym (Rycina 32B), który wskazuje na dominujący sygnał w zakresie 0,2 do 0,4. Zgodnie z założeniami przyjmuje się, że dla wartości AUC poniżej 0,5 model nie ma zdolności predykcyjnej.



Rycina 32. Skuteczność klasyfikatorów dla domeny manii w grupie schizofrenii. Po lewej przedstawiono ROC uzyskane w badanej grupie, po prawej wartości AUC.

Należy zauważyć, że domena manii zbudowana jest z większej liczby zmiennych (itemów testu OPCRIT) niż poprzednio analizowane wymiary. Obserwacja ta wskazuje na to, że zdolność predykcyjna testowanych metod nie jest bezpośrednio zależna od rozmiaru (liczby zmiennych) testowanego podwymiary.

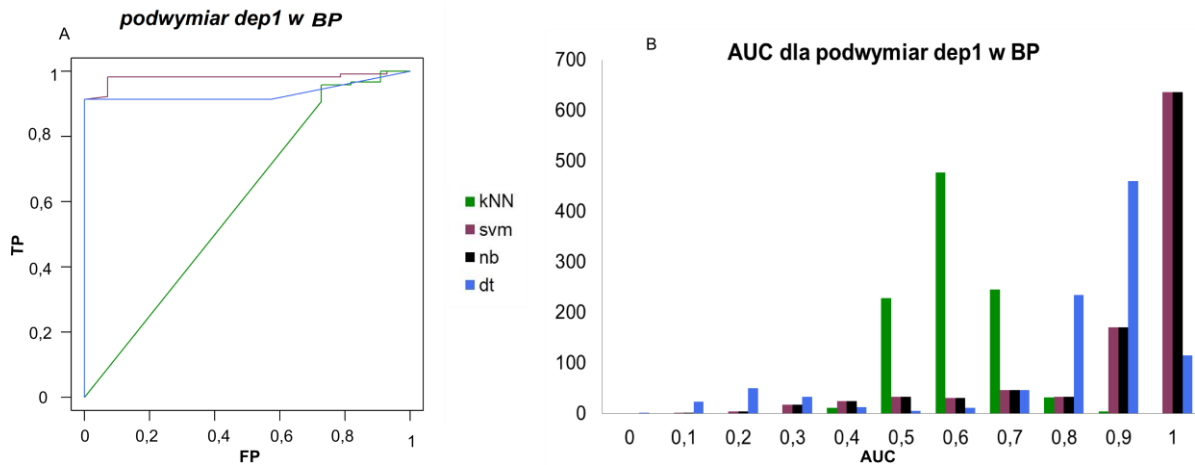
4.7. Predykcja obecności wymiarów w grupie dwubiegunowej

W skład struktury wymiarów BP wchodziły trzy jednostki umożliwiające przeprowadzenie obliczeń uczenia maszynowego: główny podwymiar depresji, domena psychotyczna oraz podwymiar manii. Pozostałe domeny wchodzące w skład schorzenia afektywnego dwubiegunowego zbudowane były ze zbyt małej liczby zmiennych (itemów testu OPCRIT), aby można było określić etykiety klas w systemie obecny/nieobecny.

4.7.1. Wymiar depresji

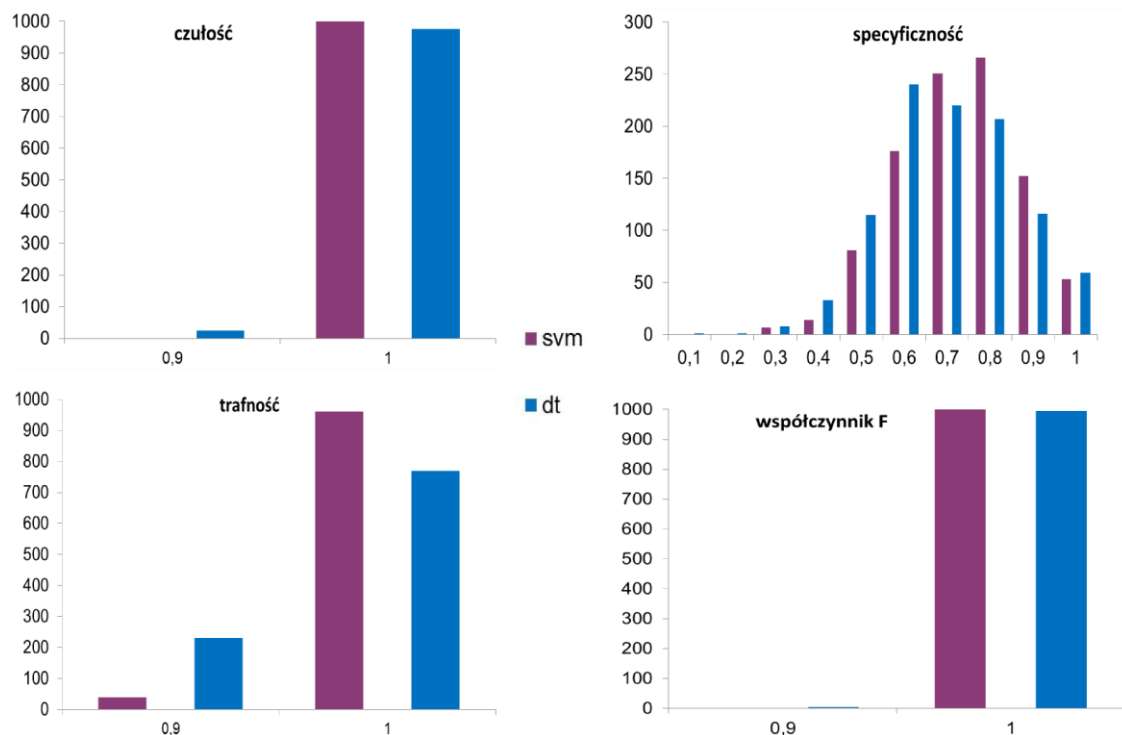
Na Rycinie 33 przedstawiona została graficzna ewaluacja przykładów modeli predykcyjnych dla głównego podwymiary depresji. W porównaniu z wynikami uzyskanymi dla tego samego podwymiary w grupie chorych na schizofrenię, zaobserwować można znaczny wzrost skuteczności działania algorytmów drzew decyzyjnych i k-najbliższych

sąsiadów (Rycina 33A). W przypadku metody wykorzystującej drzewa decyzyjne widać częściowe nałożenie krzywej ROC na wykres reprezentujący wartości dla algorytmu SVM..



Rycina 33. Działanie klasyfikatorów dla głównego podwymiary depresji w populacji BP. Po lewej przedstawiono ROC uzyskane w badanej grupie, po prawej AUC.

Analiza rozkładu wartości AUC wskazuje, że wśród przetestowanych metod najniższą efektywność działania miał klasyfikator k-najbliższych sąsiadów. Najczęściej uzyskane modele charakteryzowała skuteczność zbliżona do losowej. Z kolei w przypadku drzew decyzyjnych oraz maszyny wektorów nośnych (SVM) większość modeli osiągała wartości współczynnika AUC zbliżone do 1. W związku z tym dla obu algorytmów przeanalizowano wartości pozostałych współczynników oceny klasyfikatora, takich jak: czułość, specyficzność, trafność przewidywań oraz współczynnik F (Rycina 34).

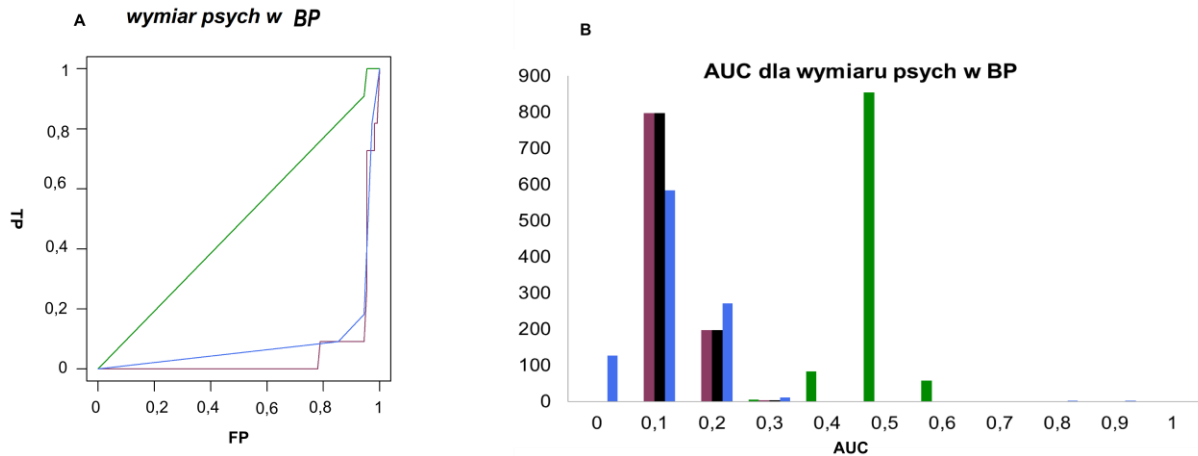


Rycina 34. Działanie klasyfikatorów dla głównego podwymiaru depresji w grupie BP, mierzone przez czułość, współczynnik F, trafność przewidywań oraz specyficzności. Na osi X przedstawiono wartość współczynnika zaś na osi Y ile razy dana wartość wystąpiła w trakcie 1000 powtórzeń procesu trenowania i testowania modelu.

Trafności przewidywań dla obu badanych klasyfikatorów przekraczają wartości 0,9, a w przypadku metody SVM są zbliżone do 1. Specyficzność przyjmuje natomiast niższe wartości z zakresu od 0,6 do 0,9 z dominującym sygnałem dla wartości 0,8. Pozostałe współczynniki (czułość i współczynnik F) przyjmują wartości zbliżone do 1. Uzyskane wartości współczynników oceny obu klasyfikatorów sugerują że modele zbudowane przy pomocy algorytmów drzew decyzyjnych i maszyny wektorów nośnych (SVM) dla głównego podwymiaru depresji w grupie dwubiegunowej mogą być użyteczne w zastosowaniach praktycznych. W przeprowadzonych testach od wartości maksymalnych odbiegała tylko specyficzność, co może zostać skorygowane poprzez zmianę parametrów obu testowanych algorytmów.

4.7.2. Wymiar psychotyczny

Domena psychotyczna jest kolejnym wymiarem, dla którego badano zdolność predykcji metodami uczenia maszynowego w grupie schorzenia afektywnego dwubiegunowego. Analiza krzywych ROC przedstawiających skuteczność działania przykładowych modeli wyraźnie wskazuje na słaby potencjał predykcyjny wszystkich testowanych algorytmów.



Rycina 35. Działanie algorytmów dla wymiaru psychotycznego w grupie schorzenia afektywnego dwubiegunowego. Po lewej przedstawiono ROC uzyskane w badanej grupie, po prawej wartości AUC.

Analiza rozkładu częstości występowania wartości AUC (Rycina 35B) potwierdza obserwację z wykresu ROC dla przykładowych modeli. Podobnie do poprzednich przykładów, metoda k-najbliższych sąsiadów tworzy model, którego wartości przewidywania obecności wymiaru psychotycznego zbliżone są do losowych. Pozostałe algorytmy nie generują modeli użytecznych statystycznie.

4.7.3. Wymiar manii

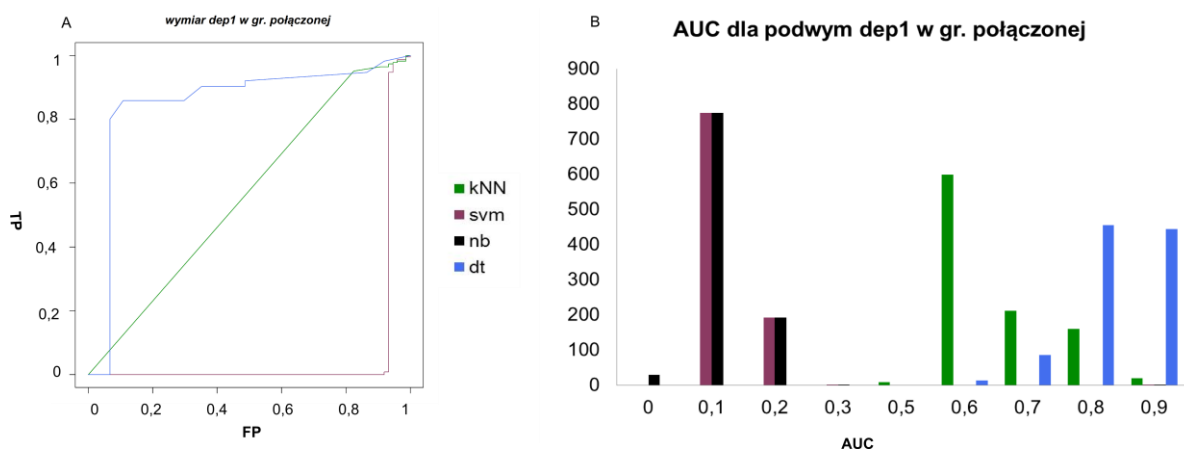
W przypadku domeny manii nie udało się przeprowadzić testów predykcyjnych z powodu słabości generowanych modeli. Funkcje zawarte w pakietach środowiska R (patrz Materiały i Metody) nie pozwalały na analizę modeli o stałej, zerowej skuteczności. Zaistniałe problemy nie były związane z błędami występującymi we własnym oprogramowaniu przygotowującym dane, ponieważ w przypadku testów dla grupy chorych na schizofrenię wykorzystywano dokładnie te same narzędzia.

4.8. Predykcja obecności wymiarów w grupie połączonej

W poprzednich paragrafów opisano wyniki predykcji obecności wymiarów w układzie obecny/nieobecny w grupach schizofrenii i schorzenie afektywnego dwubiegunowego. Analogiczne podejście zastosowano w całej analizowanej populacji, bazując na odpowiedniej strukturze wymiarów.

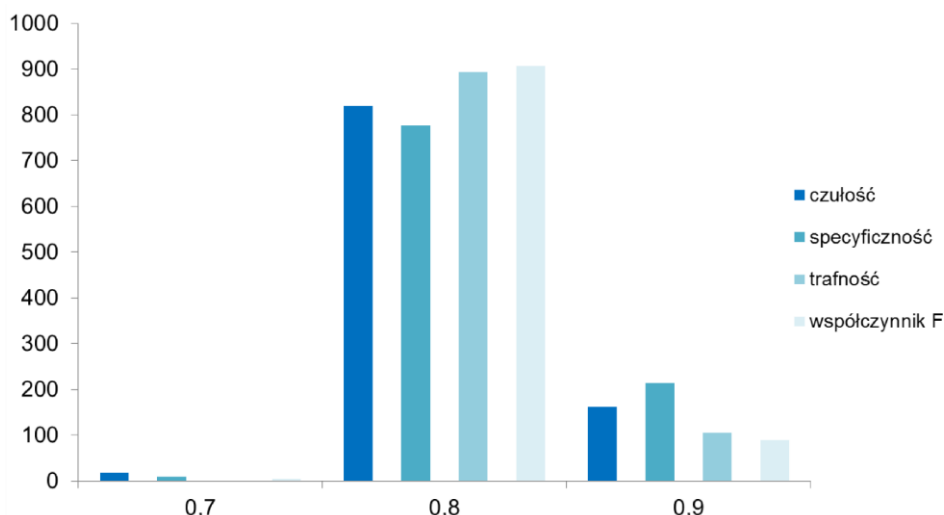
4.8.1. Podwymiar depresji

W pierwszym kroku sprawdzono skuteczność działania klasyfikatorów dla głównego podwymiaru depresji. Zarówno kształty krzywej ROC (Ryc. 36A oraz 36B) wskazują na wysoką skuteczność klasyfikatora drzew decyzyjnych, przy jednoczesnej słabości pozostałych. AUC nie spadało poniżej 0,6, zaś najczęściej spotykano wartości z przedziału 0,8 -0,9. Klasyfikator k-najbliższych sąsiadów wykazał skuteczność nieco przekraczającą losową: najpowszechniej występował poziom 0,6, znacznie rzadziej 0,7 i 0,8. Klasyfikatory SVM oraz naiwnego Bayesa okazały się całkiem bezużyteczne. Z tego powodu w dalszej części dokładniej zostaną zanalizowane modele uzyskane dla drzew decyzyjnych.



Rycina 36. Działanie klasyfikatorów dla głównego podwymiaru depresji w grupie BP. Wykres A przedstawia przykładową krzywą ROC, zaś B rozkład wartości AUC.

Porównując kształty krzywej z wykresami uzyskanymi w poprzednich analizowanych grupach, dostrzec można wyraźną poprawę działania drzew decyzyjnych, SVM oraz naiwnego klasyfikatora Bayesa. W domenie depresji, podobnie jak w poprzednio analizowanych przypadkach, najslabiej zadziałał algorytm k-najbliższych sąsiadów. Kształty krzywej ROC nie odbiegają w znaczący sposób od przekątnej wykresu.

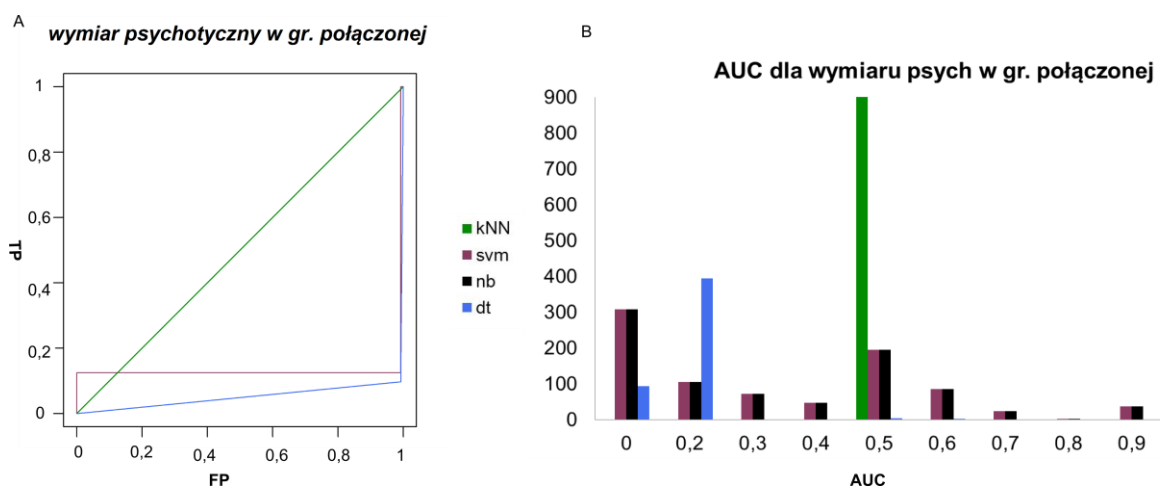


Rycina 37. Działanie drzew decyzyjnych dla głównego podwymiaru depresji w grupie połączonej. Na osi X przedstawiono wartość współczynnika zaś na osi Y ile razy dana wartość wystąpiła w trakcie 1000 powtórzeń procesu trenowania i testowania modelu.

Wartości liczbowych współczynników oceny przedstawia powyższy wykres (Rycina 37). Czułość, specyficzność, trafność przewidywań oraz współczynnik F wynosiły około 0,8 w 800 – 900 przypadków na 1000 powtórzeń. W przypadku mniej niż 20 powtórzeń współczynniki przyjmowały wartości 0,7, zaś skuteczność 0,9 zaobserwowano dla 160 – 200 przypadków. Spośród wszystkich analizowanych populacji w przypadku głównego podwymiaru depresji, model zbudowany dla populacji wszystkich pacjentów wydaje się najlepszy i najbardziej obiecujący.

4.8.2. Wymiar psychotyczny

Podobnie jak w poprzednio analizowanych populacjach, także w grupie połączonej nie zdołano zbudować statystycznie obiecanych modeli dla domeny psychotycznej.

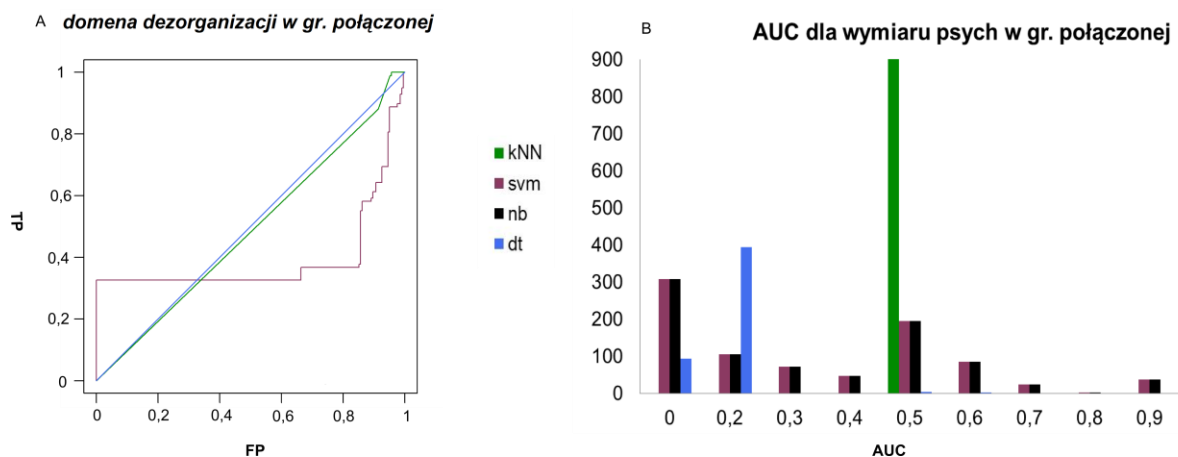


Rycina 38. Ewaluacja algorytmów dla domeny psychotycznej w grupie połączonej. Na wykresie A widać przykładową krzywą ROC, w sekcji B rozkład wartości AUC.

Zarówno losowa krzywa ROC (Ryc. 38A) jak i rozkład wartości AUC (Ryc. 38B) sugerują, żaden z klasyfikatorów nie pozwala na zbudowanie potencjalnie użytecznych modeli. Dla najmniej skutecznego algorytmu k-najbliższych sąsiadów krzywe ROC przyjmują postać wykresu, zaś AUC nie przekracza losowych poziomów 0,5. Z kolei dla maszyny wektorów nośnych wartości dla kilkuset powtórzeń nie osiągnęły nawet progu 0,5. Co prawda dla około 200 przypadków (co daje 20% przy tysiącu powtórzeniach procesu trenowania-testowania) modele cechowało AUC na poziomie 0,6; 0,7 a nawet 0,9 niemniej jednak znacznie częściej obserwowano niższe zakresy wartości. Obecność dwóch maksimum może wskazywać na rodzaj niestabilności modelu. Z powodu statystycznej słabości wyników pozostałe miary oceny działania klasyfikatora nie zostaną zanalizowane.

4.8.3. Domena dezorganizacji

Podobnie jak w populacji schizofrenii, także w grupie połączonej możliwe było przeprowadzenie predykcji obecności/braku wymiaru. Nie zdołano jednak uzyskać statystycznie istotnego modelu.

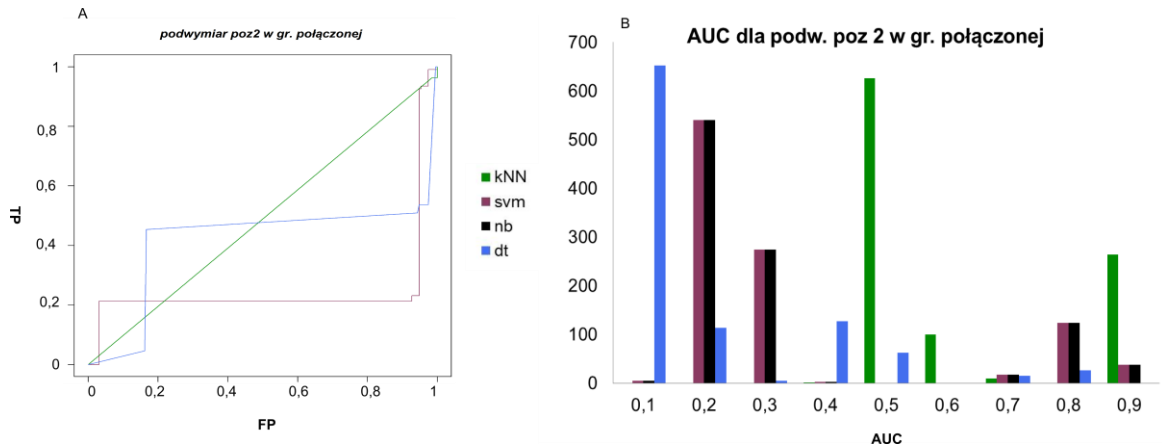


Rycina 39. Ewaluacja klasyfikatorów dla wymiaru dezorganizacji w grupie połączonej. W części A widać przykładową krzywą ROC, na wykresie B wartości AUC.

Krzywe ROC wskazują na losową skuteczność klasyfikatora k-najbliższych sąsiadów oraz niższą niż losowa skuteczność maszyny wektorów nośnych. Jedynie dla kilku przypadków AUC przekroczyło poziom 0,5, lecz najczęściej obserwowano wartości między 0,1 a 0,3. Skuteczność maszyny wektorów nośnych, klasyfikatora naiwnego Bayesa oraz drzew decyzyjnych utrzymuje się na stałym, nie przekraczającym losowej skuteczności poziomie. Dla algorytmu k-najbliższych sąsiadów obserwowano stałą wartość AUC równą 0,5. Dla mniej niż 20 obserwacji otrzymano wartość 0,6. Z powodu statystycznej słabości modeli, pozostałe współczynniki oceny działania klasyfikatora nie zostaną zanalizowane.

4.8.4. Podwymiar pozytywny 2

W przypadku podwymiaru pozytywnego 2, charakterystycznego dla schizofrenii i nieobecnego w przebiegu schorzenia afektywnego dwubiegunowego nie zdołano uzyskać statystycznie istotnych modeli. Chociaż w trakcie powtórnego tysiąc razy procesu trenowania-testowania zdołano otrzymać modele dla których AUC przekraczało 80%, wyniki te stanowią jednak mniej niż 20% całości (około 200 przypadków na 1000 powtórzeń maksymalnie).

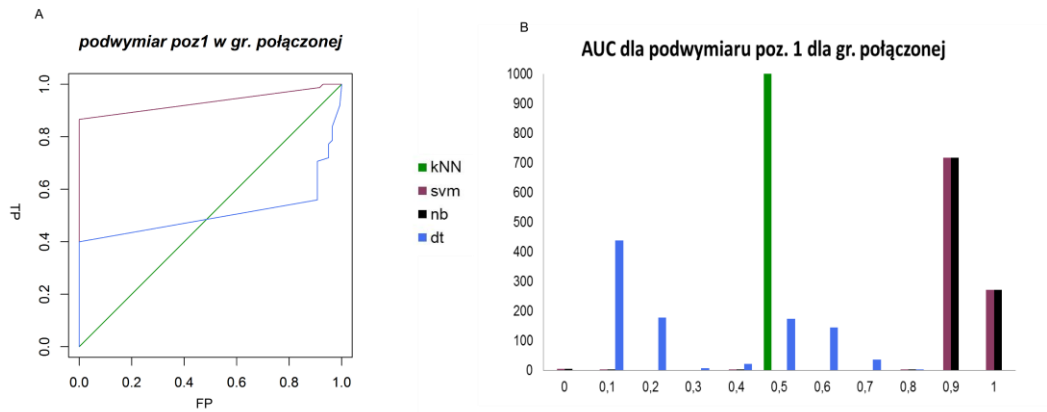


Rycina 40. Działanie klasyfikatorów w podwymiarze pozytywnego 2 dla całej analizowanej populacji. W części A widać przykładową krzywą ROC, zaś B ilustruje rozkład wartości AUC.

Dla klasyfikatora drzew decyzyjnych najczęściej obserwowanymi wartościami AUC były 0,1 i 0,4. Niewielką frakcję wyników (około 40 obserwacji) cechowały obserwacje charakteryzowane przez AUC przekraczające 0,7. Maszyna wektorów nośnych i naiwny klasyfikator Bayesa umożliwiły wygenerowanie modeli o nieco wyższych parametrach: najpowszechniejsze AUC wynosiło 0,2 i 0,3 a także dla około 150 obserwacji współczynnik wyniósł 0,8 i więcej. Frakcja wyników o statystycznie istotnych wartościach parametru jest zbyt nieliczna aby uznać model za użyteczny do dalszych analiz. Modele zbudowane w oparciu o klasyfikator k-najbliższych sąsiadów cechowała losowa skuteczność (AUC = 0,5) z pewnym odsetkiem (260 obserwacji) o AUC wynoszącym 0,9.

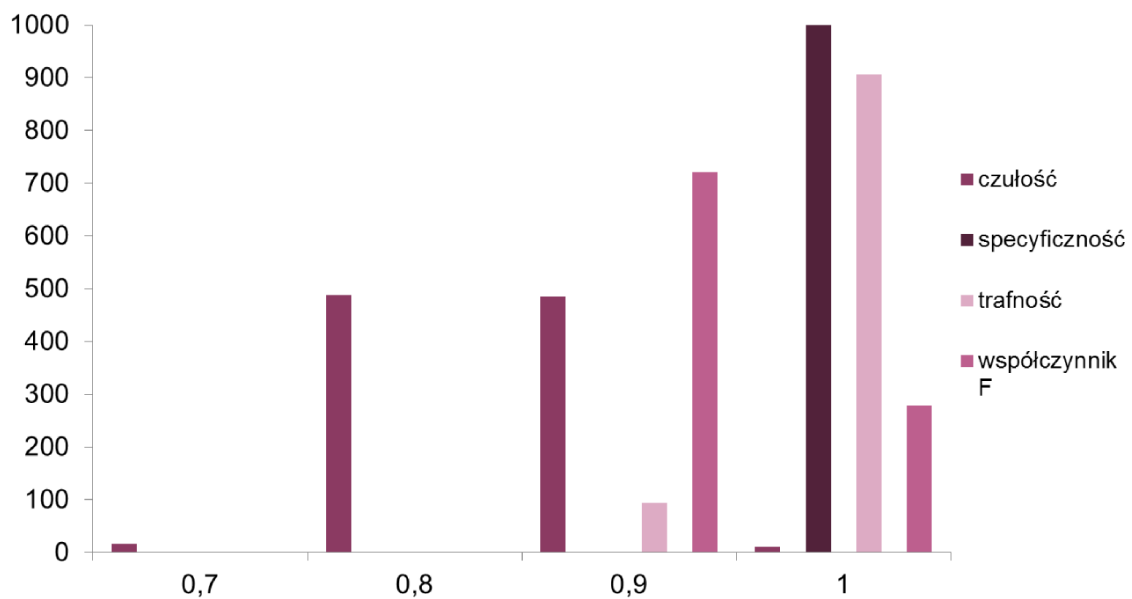
4.8.5. Podwymiar pozytywny 1

Dla podwymiaru pozytywnego 1 uzyskano wyższej jakości modele niż dla podwymiaru 2. Skuteczność klasyfikatora k-najbliższych sąsiadów pozostaje niezmienna i nie przekracza losowego poziomu. Jednak zarówno przykładowa krzywa ROC, jak i rozkład wartości AUC wskazują, że maszyna algorytm maszyny wektorów nośnych może wygenerować modele spełniające statystyczne kryteria istotności. Model zbudowane w oparciu o drzewa decyzyjne, użyteczne w niektórych grupach, w przypadku podwymiaru pozytywnego 1 nie osiągały nawet losowej skuteczności dla większości przypadków. Chociaż dla niewielkiej frakcji (36 obserwacji) AUC przekracza poziom 0,7 jest to zbyt znikomy odsetek aby uznać modele za obiecujące.



Rycina 41. Klasyfikatory i ich skuteczność dla podwymiary pozytywnego 1 w grupie połączonej. Część A ilustruje przykładową krzywą ROC, część B rozkład wartości AUC.

Jedynie dla maszyny wektorów nośnych uzyskano statycznie istotne wyniki. AUC przekraczało 0,9 dla wszystkich obserwowanych przypadków. W dalszej części zostaną zanalizowane pozostałe miary oceny działania klasyfikatora dla algorytmu SVM wyłącznie.

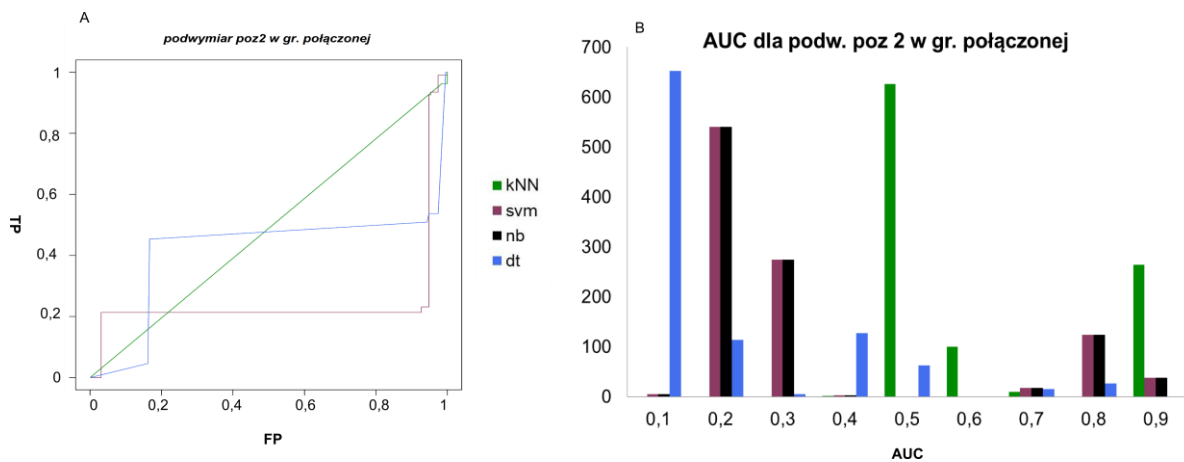


Rycina 42. Skuteczność klasyfikatora SVM dla podwymiary pozytywnego 1 w grupie połączonej, mierzone przez: czułość, współczynnik F, trafność przewidywań i specyficznosc.

Zarówno AUC, jak i pozostałe miary (czułość, specyficznosc, trafność oraz współczynnik F) wskazują na dobre dopasowanie wygenerowanego przez maszynę wektorów nośnych modelu do danych. Wartość ani jednego z nich nie spada poniżej 0,7. Najczęściej obserwowanymi poziomami były 0,9 i powyżej. Są to zakresy wartości niezbędne aby model okazał się użytecznym w praktyce biologicznej czy klinicznej.

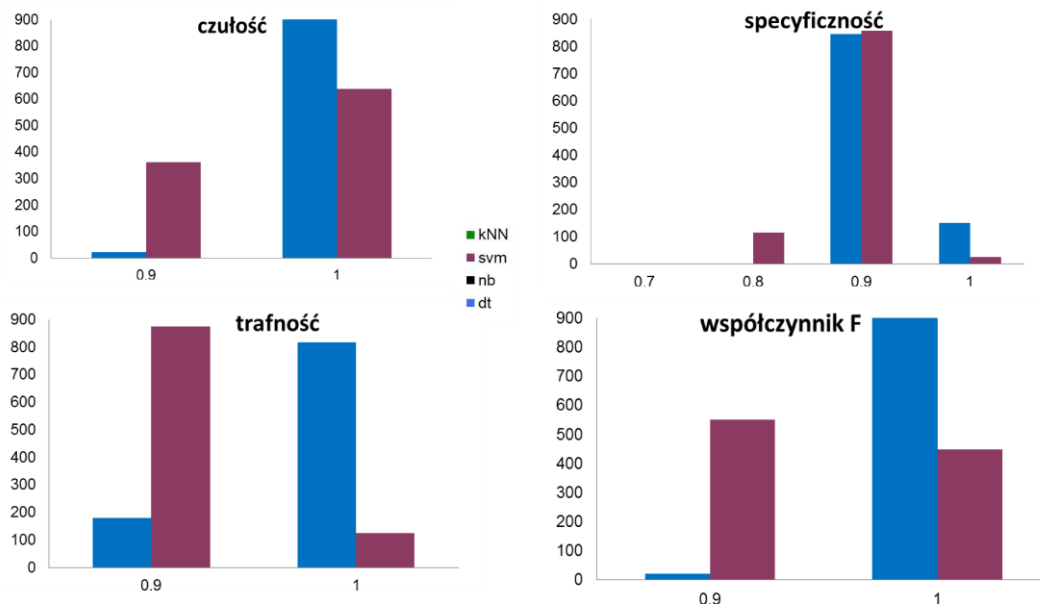
4.8.6. Wymiar manii

Domena manii, wykryta we wszystkich analizowanych, wygenerowała potencjalnie użyteczne modele. Zarówno przykładowa krzywa ROC (Ryc. 43A) jak i rozkład wartości AUC (Ryc. 43B) wskazują, że zarówno maszyna wektorów nośnych oraz drzewa decyzyjne są w stanie wygenerować wyniki o trafności klasyfikacji przekraczającej poziomy losowe. Co prawda w trakcie tysiąca powtórzeń procesu trenowania-testowania wskazują na nieliczną frakcję wyników o niskich poziomach AUC (0,6 oraz poniżej), niemniej jednak znacznie powszechniej obserwowano wartości z przedziału 0,7 – 0,8. W dalszej części modele uzyskane dla SVM/naiwnego Bayesa oraz drzew decyzyjnych zostaną dokładniej zanalizowane.



Rycina 43. Algorytmy i ich skuteczność dla domeny manii w całej analizowanej populacji. Krzywa ROC została przedstawiona w części A, zaś rozkład AUC w części B.

Liczbowe miary oceny jakości klasyfikatora, przedstawione na Rycinie 44, potwierdzają dobre dopasowanie modelu do danych. Trafność przewidywań, czułość oraz współczynnik F wynoszą 0,9 i więcej. W trakcie powtórnego 1000-razy procesu uczenia-testowania najczęściej obserwowano wartość specyficzności zbliżoną do 0,9.



Rycina 44. Ewaluacja klasyfikatorów dla domeny manii w całej analizowanej grupie. Miary oceny klasyfikatora: czułość, współczynnik F, trafność przewidywań oraz specyficzność.

Współczynniki oceny działania klasyfikatora dla drzew decyzyjnych, SVM oraz k-najbliższych sąsiadów osiągają bardzo wysokie wartości, to znaczy 0,9 i więcej. Oba omawiane algorytmy wydają się generować obiecujące modele.

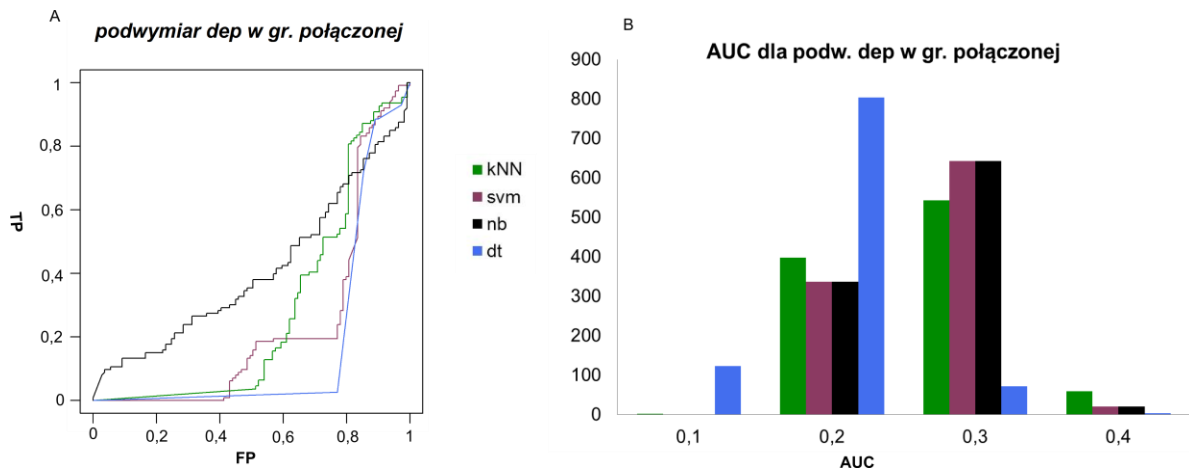
4.9. Rozróżnianie schorzeń na podstawie testu OPCRIT i wymiarów klinicznych.

Dysponując diagnozą kliniczną, badano możliwość rozróżniania pacjentów ze schizofrenią oraz schorzeniem afektywnym dwubiegunowym na podstawie wymiarów z OPCRIT. Wykorzystano w tym celu domeny znalezione w grupie połączonej. Ze względu na wielkość poszczególnych jednostek oraz ich występowania w danej populacji pacjentów, klasyfikację przeprowadzono w przypadku wymiarów: depresji, manii oraz psychotycznej. Nie brano pod uwagę domeny pozytywnej/urojeniowej oraz dezorganizacji, gdyż takowe nie zostały znalezione w grupie BP i symptomy ze wspomnianych grup nie są obserwowane w praktyce klinicznej.

4.9.1. Wymiar depresji

Dla podwymiaru depresji nie udało się zbudować modeli umożliwiających rozróżnienie między pacjentami ze schizofrenią a schorzeniem afektywnym dwubiegunowym. Główny podwymiar depresji umożliwiał predykcję obecności/braku obecności grupy objawów w grupie pacjentów, ale niezmienny we wszystkich analizowanych populacjach podwymiar nie

umożliwił rozróżnienia pacjentów. Na podstawie krzywej ROC oraz rozkładu wartości AUC, widać zbliżoną skuteczność wszystkich analizowanych algorytmów. Dla żadnego z nich nie zdołano osiągnąć nawet losowej skuteczności.

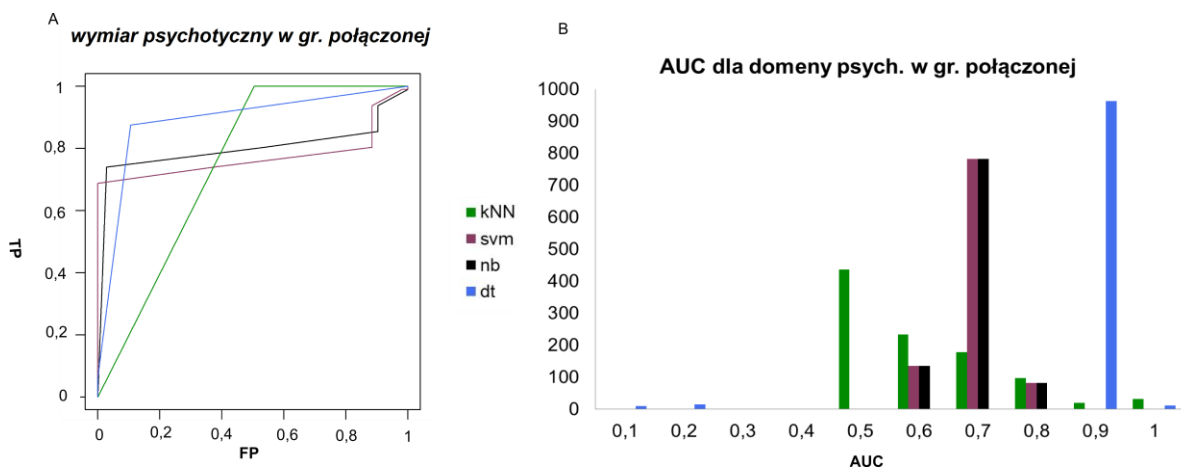


Rycina 45. Ewaluacja klasyfikatorów dla głównego podwymiaru depresji w grupie połączonej. Wykres A zawiera przykładową krzywą ROC, na wykresie B histogram wartości AUC.

Ponieważ dla analizowanej jednostki nie zdołano zbudować statystycznie istotnych modeli, dalsza analiza nie zostanie przeprowadzona.

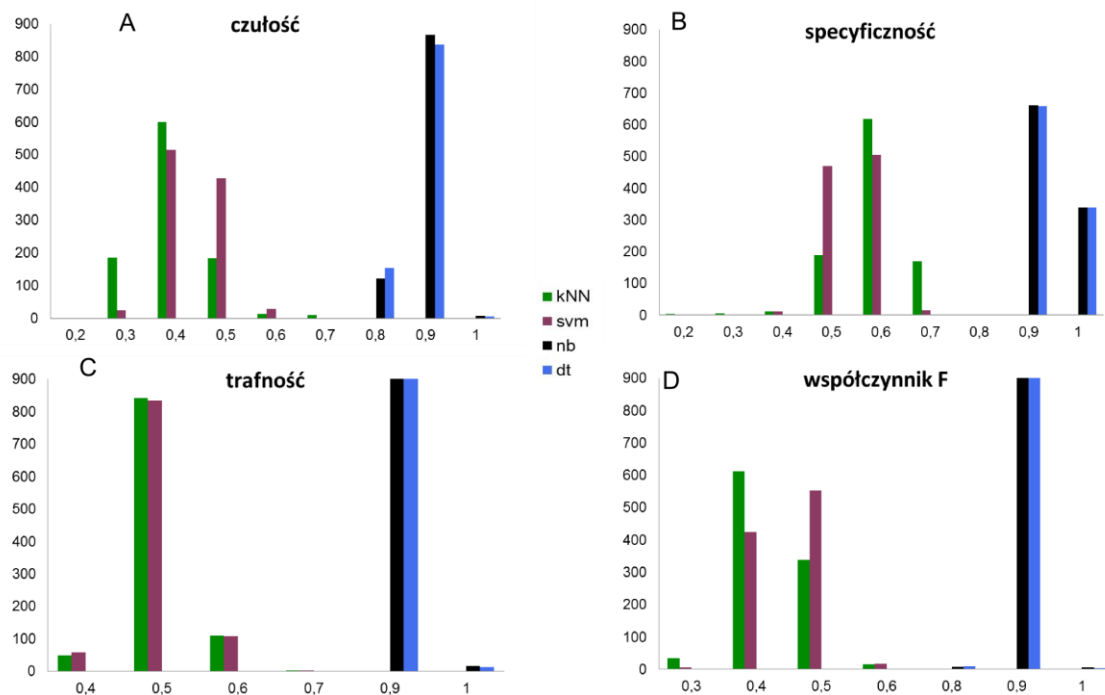
4.9.2. Wymiar psychotyczny

Domena psychotyczna, złożona z objawów występujących zarówno w przebiegu schizofrenii, jak i schorzenia afektywnego dwubiegunowego także mogła zostać użyta do klasyfikacji. O ile w poprzednio analizowanych grupach modele zbudowane dla tego wymiaru cechowała umiarkowana skuteczność, przy próbie rozróżnienia pacjentów na podstawie diagnozy wynikowe modele cechowały wysokie wartości AUC.



Rycina 46. Działanie klasyfikatorów dla wymiaru psychotycznego w połączonej. Po lewej widać przykładową krzywą ROC, po prawej rozkład wartości AUC.

Nawet dla najslabiej działającego klasyfikatora k-najbliższych sąsiadów dla kilkuset przypadków osiągnięto skuteczność działania algorytmów wyższą niż losowa (wartości AUC 0,6 i powyżej). Dla maszyny wektorów nośnych najczęściej osiągnano poziom 0,7, zaś dla drzew decyzyjnych 0,9. Krzywa ROC (Ryc. 46A) potwierdza, że badane klasyfikatory mają możliwość zbudowania statystycznie istotnych modeli. Ponieważ ROC dla SVM oraz naiwnego klasyfikatora Bayesa nie nakładają się na siebie, możliwe jest zaobserwowanie obu. Dlatego pozostałe parametry oceny działania algorytmu zostaną zanalizowane dla wszystkich stosowanych metod.

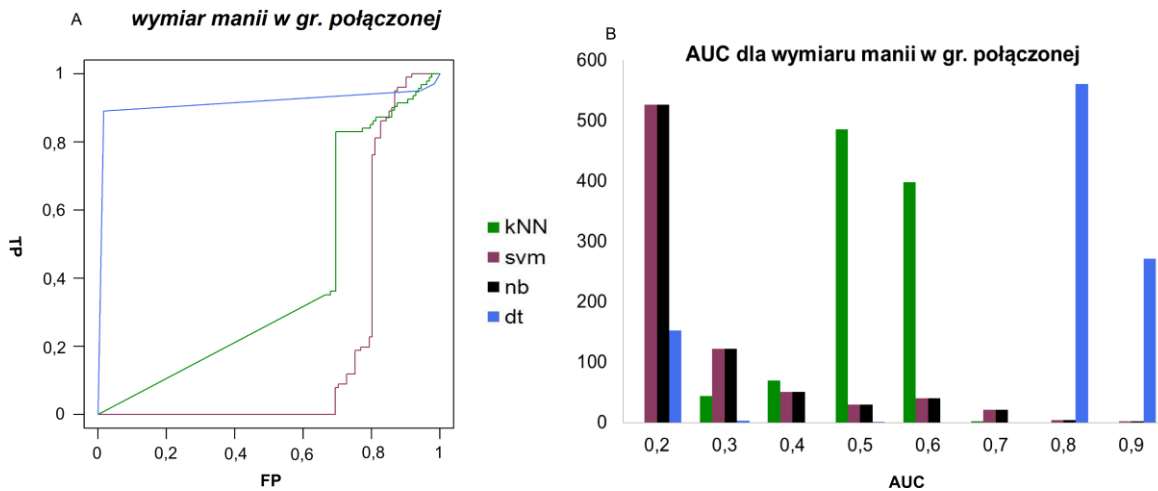


Rycina 47. Skuteczność działania algorytmów dla wymiaru psychotycznego w grupie połączonej. Szczegółowe miary: czułość, współczynnik F, trafność przewidywań oraz specyficzność.

Wykresy przedstawione na Rycinie 47, wyjaśniają czemu pomimo podobnych wartości AUC nie ma nałożenia między krzywymi ROC dla SVM oraz klasyfikatora naiwnego Bayesa. Tylko dla specyficzności otrzymano znaczny odsetek modeli (ok 800) gdy współczynnik osiąga wartości 0,6 i więcej. Analogiczną sytuację zaobserwowano w przypadku klasyfikatora k-najbliższych sąsiadów. Zakresy wartości osiągnięte przez maszynę wektorów nośnych oraz algorytm k-najbliższych sąsiadów są zbliżone. Na wszystkich wykresach Ryciny 47 widać dwa maksima osiągnięte dla par klasyfikatorów. Drzewa decyzyjne oraz klasyfikator naiwnego Bayesa pozwalają za zbudowanie silniejszych statystycznie i bardziej obiecujących modeli. Zarówno czułość jak i specyficzność nie spada poniżej 80%, zaś trafność przewidywań przekracza 0,9.

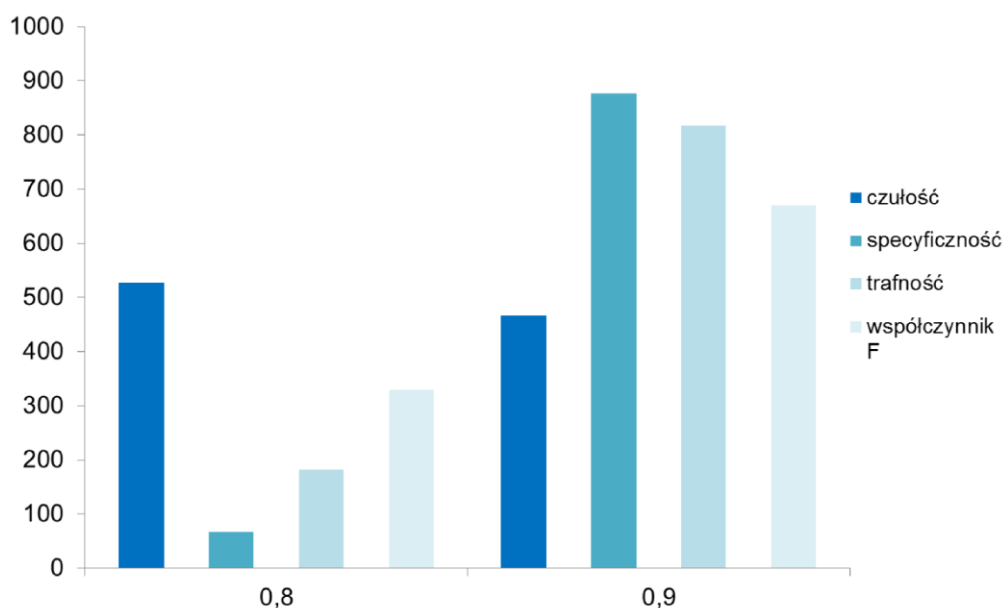
4.9.3. Wymiar manii

Ostatnim wymiarem możliwym do użycia w próbie rozróżniania pacjentów ze schizofrenią oraz schorzeniem afektywnym dwubiegunowym jest mania. Objawy pobudzenia występują w przebiegu obu schorzeń.



Rycina 48. Domena psychotyczna w grupie połączonej. W części A widać przykładową krzywą ROC, w sekcji B rozkład wartości AUC.

Dla drzew decyzyjnych wygenerowano statystycznie istotne modele. Zarówno krzywa ROC jak i rozkład wartości współczynnika AUC wskazują na istnienie obiecujących wyników. Tylko dla nielicznej frakcji wyników (153 obserwacji, czyli 15%) wartość AUC wynosiła około 0,2. Oznacza to niewielką, ale jednak istniejącą szansę na powstanie nieużytecznego modelu. W przypadku klasyfikatora k-najbliższych sąsiadów nie uzyskano znaczącej liczby modeli o AUC przekraczających poziom losowości, zaś dla maszyny wektorów nośnych oraz klasyfikatora naiwnego Bayesa najczęściej obserwowano poziom 0,2. Ponieważ najbardziej obiecujące modele uzyskano dla drzew decyzyjnych, pozostałe miary oceny działania klasyfikatora zostaną zanalizowane w przypadku tej metody.



Rycina 49. Skuteczność działania drzew decyzyjnych dla domeny manii w grupie połączonej. Miary oceny działania algorytmu: czułość, współczynnik F, trafność przewidywań oraz specyficzność.

Wartość poszczególnych współczynników (czułości, specyficzności, trafności oraz współczynnika F) nie spada poniżej 0,8. Potwierdza to wysokie poziomy osiągnięte przez AUC oraz kształty krzywej ROC. Jest to obiecujący model.

4.10. Czynniki demograficzne i kliniczne jako predykatory wystąpienia poszczególnych wymiarów klinicznych.

W poprzednich paragrafach opisywano potencjalną użyteczność i skuteczność modeli predykcji uzyskane z pomocą algorytmów uczenia maszynowego. Prócz przewidywania obecności/braku danej klinicznej domeny na podstawie wyników kwestionariusza OPCRIT, użyto czynników demograficznych i klinicznych w celu przewidywania wystąpienia poszczególnych wymiarów klinicznych. Opisywane czynniki dostępne są w kwestionariusza OPCRIT i zostały wybrane spośród pytań (itemów) nie wybranych do analiz redukcji wymiarowości. Omówione zostaną wyłącznie modele spełniające statyczne kryteria oceny oraz takie, które przeszły pozytywną weryfikację ze strony klinicysty.

W grupie schorzenia afektywnego dwubiegunowego model powstał jeden model klinicznie sensowny. Przebieg choroby stanowi czynnik predykcyjny dla objawów depresji. Wartość p dla modelu uzyskanego bez skalowania predyktorów wyniosła $5,4 * 10^{-17}$. W przypadku modelu ze skalowaniem, wartość p spadła do 0,0016. Pomimo znacznej istotności całego modelu, jedynie przebieg choroby stanowił istotny predyktor. Wartość r2 świadczy jednak o umiarkowanej użyteczności modelu prostego ($r^2=0,1$) jak i modelu wielomianowego

($r^2 = 0,28$, co daje 28% odsetka wyjaśnianej wariancji). Także współczynnik AIC wskazuje, że model przeskalowany wydaje się skuteczniej pasować do analizowanych danych (AIC=1322 oraz 1284 odpowiednio).

W całej analizowanej populacji, epizod manii może być prognozowany na podstawie obrazu klinicznego początku choroby oraz przebiegu choroby. Model wielomianowy okazał się bardziej istotny statycznie: stwierdzono wyraźny wzrost odsetka wyjaśnianej wariancji z 0,15 do 0,31 oraz spadku współczynnika AIC z 1824 do 1687.

Ani statycznie istotne, ani klinicznie wyjaśniane modele nie pojawiły się w grupie schizofrenii.

5. Dyskusja

- **Analiza wymiarów klinicznych schizofrenii i schorzenia afektywnego dwubiegunowego**

Nowe podejście do zagadnienia identyfikacji wymiarów w schizofrenii i chorobie afektywnej dwubiegunowej oparto na dwóch założeniach. W pierwszym przypadku zamiast redukcji wyników testu OPCRIT do postaci binarnej (0: cecha nieobecna, 1: obecna), zastosowano skalowanie do zakresu 0:3. W ten sposób zachowano informację na temat oryginalnej zmienności i natężenia badanych symptomów (na przykład długości trwania omamów) przy jednoczesnym dostosowaniu matrycy do wymogów statystycznych. Drugi parametr zakładał wybieranie zmiennych zawartych w teście OPCRIT bazując wyłącznie na kryteriach statystycznych, bez angażowania wiedzy eksperckiej. Wiedza kliniczna była niezbędna do właściwego zinterpretowania wyników końcowych oraz do weryfikowania poszczególnych etapów analiz. Zastosowanie nowego podejścia umożliwiło określenie złożonej, hierarchicznej struktury obu schorzeń oraz pozwoliło na odkrycie nowej domeny 'funkcjonowania społecznego'.

Zmienne, które zazwyczaj pomijano w analizach wyników testu OPCRIT, pozwoliły w mojej pracy na identyfikację wymiaru uzależnieniowego oraz społecznego. Nie stanowią one objawów chorobowych ale są czynnikami klinicznymi i demograficznymi powiązаныmi ze schorzeniem (ang. *illness-related items*). Wpływ zażywania substancji psychoaktywnych na zdrowie psychiczne został szeroko opisany w literaturze [164-167]. Poprzednio Rosenmann [108] opisał wymiar uzależnieniowy analizując grupę pacjentów z psychozą korzystając z kwestionariusza OPCRIT oraz SCAN (ang. *Schedules for Clinical Assessment in Neuropsychiatry*). Z kolei Pawsey [165] oraz Bizzarri i wsp. [166] wskazywali na związek między klinicznym continuum schorzeń psychicznych a zażywaniem substancji psychoaktywnych. Innym, często opisywanym czynnikiem związanym ze schorzeniami psychicznymi jest funkcjonowanie w społeczności. Nyeri [168] wykazał związek między stanem cywilnym a klinicznym przebiegiem schizofrenii w średnim wieku, w szczególności w kontekście symptomów depresyjnych oraz myśli samobójczych. Dodatkowo, w badaniach stwierdzono, że uczestnictwo w szkolnych zajęciach oraz podjęcie pracy zmniejsza negatywny wpływ schorzeń psychicznych na życie w społeczeństwie [169]. Można zatem twierdzić, że przedstawiona w niniejszej pracy identyfikacja dwóch nowych wymiarów ma swoje potwierdzenie w pracach badawczych przeprowadzonych przez inne grupy.

Możliwość istnienia więcej niż pięciu wymiarów schizofrenii [170] a także istnienie złożonej, wielowymiarowej struktury zidentyfikowanych jednostek [171] była już wcześniej sugerowana przez inne grupy badawcze. W poprzednich badaniach korzystano jednak z innych testów diagnostycznych. Dlatego dokonując porównania wyników moich analiz mających na celu identyfikację i charakterystykę wymiarów klinicznych dostrzegalne są różnice wynikające z własności badanej populacji i źródła danych [172]. Podwymiary kliniczne, chociaż zwykle nie wyróżniane w analizach kwestionariusza OPCRIT, mają uzasadnienie i umocowanie w praktyce lekarskiej. Na przykład, zakłócenia snu są częstym objawem zaburzeń psychicznych [173-175] oraz samej schizofrenii [176], a wymiar atypowej depresji został poprzednio wyróżniony przez Serettiego [177] w grupie pacjentów ze schorzeniem afektywnym dwubiegunowym i jednobiegunowym. Ponadto, w niniejszej pracy potwierdzono obecność wymiarów pozytywnego, dezorganizacji oraz negatywnego: [12, 125, 126, 178]. W powyższej pracy jednak doszło podziału wymiaru pozytywnego na dwie niezbyt odległe i skorelowane domeny, co było sugerowane przez [107].

Podobnie jak w przypadku schizofrenii, struktura wymiarowa w grupie schorzenia afektywnego dwubiegunowego wykazuje złożony charakter. Zgodnie z uprzednio publikowanymi wynikami [177] w wyniku prowadzonych analiz zidentyfikowano wymiar atypowej depresji. W przeciwieństwie jednak do wyników przedstawianych przez inne grupy [98, 110] nie stwierdzono złożonej struktury wymiarów manii i hipomanii. Zaobserwowana różnica może wynikać z faktu, że wspomniani badacze korzystali z innych kwestionariuszy diagnostycznych. Dodatkowo, w analizowanej grupie klinicznej wyróżniono zgodnie z wcześniejszymi doniesieniami [179] domenę psychotyczną. Podobnie jak w grupie chorych na schizofrenię, w przypadku schorzenia afektywnego dwubiegunowego wykryto dwa, rzadko opisywane w literaturze wymiary: uzależnieniowy oraz funkcjonowania społecznego. Już wcześniej sugerowano wpływy i zależności między kompetencjami społecznymi a chorobą afektywną dwubiegunową.

Podobnie jak w grupie schizofrenii, wykryto dwa zwykle nie opisywane wymiary: uzależnieniowy oraz społecznego funkcjonowania. Wcześniej [167] wykazał wpływy i zależności między kompetencjami społecznymi a chorobą afektywną dwubiegunową. Negatywny wpływ schorzeń na codzienne życie został szerzej omówiony we wcześniejszych podrozdziałach.

Analiza danych pochodzących z grupy połączonej, podobnie jak w poprzednio analizowanych przypadkach, wykazuje złożoną strukturę w obrębie domeny depresji,

pozytywnej/urojeniowej oraz uzależnieniowej. Obecność pierwszej z nich nie zaskakuje, bowiem symptomy, z których się składa, tak zwane I-rzędowe objawy schizofrenii Schneidera występują nie tylko w schizofrenii, ale także w innych psychozach [5, 180]. Generalnie, z uzyskanych danych można wnioskować, że struktura grupy połączonej w większym stopniu przypomina tę uzyskaną dla populacji schizofrenii niż schorzenia afektywnego dwubiegunowego.

- **Identyfikacja asocjacji genetycznych z wymiarami schizofrenii i schorzenia afektywnego dwubiegunowego**

Określenie struktury wymiarów badanej populacji otworzyło możliwości badania asocjacji genetycznych między zmiennością sekwencji wybranych genów kandydujących a jednostkami składającymi się na oba schorzenia. Przeprowadzone analizy umożliwiły identyfikację związku między markerami receptora melatoniny a domeną psychotyczną. Uzyskane wyniki były zaskakujące, ponieważ na podstawie dotychczasowych danych oczekiwano relacji między markerami genu *MTNR1A* a zaburzeniami rytmów okołodobowych. Z drugiej strony jednak inne grupy badawcze wykryły związek między szlakiem melatoniny a m. in. schorzeniami związanymi z zaburzeniami uwagi i nadmierną aktywnością (ang. *hyperactivity and attention-deficit disorders*) [181]. W literaturze można znaleźć dane na temat powiązań między receptorem melatoniny a bezsennością [182] czy opóźnioną dyskinezą w schizofrenii TD (ang. *antipsychotics-induced tardive dyskinesia*) wywołaną przez leki psychotropowe [183]. W roku 2009 pojawiła się praca wiążąca procesy śnienia i objawy psychoz [184]. Region mózgu SCN (ang. *suprachiasmatic nucleus*), kontrolujący procesy snu może być więc zaangażowany w patogenezę schizofrenii. Co więcej, nieprawidłowa sekrecja melatoniny w połączeniu z zaburzeniami fazy śnienia REM stanowi prawdopodobnie czynnik ryzyka rozwoju psychozy. Ponadto istnieją dowody na powiązania rytmów dziennych z układem dopaminergicznym, który jest kluczowy w rozwoju schizofrenii [185]. pacjentów ze schizofrenią obserwowane są zmniejszone poziomy melatoniny, co wpływa na rozwój oraz patogenezę schorzenia [186].

- **Wspomaganie obliczeniowe diagnostyki w oparciu o dane zawarte w wynikach testu OPCRIT**

Ze względu na znaczne nałożenie podłoża genetycznego schizofrenii oraz schorzenia afektywnego dwubiegunowego próby rozdzielenia pacjentów w oparciu o dane genetyczne przynosiły ograniczone rezultaty [153]. Z powodu obecności grup objawów wspólnych dla

obu schorzeń (symptomy depresji, manii/hipomanii czy psychozy) sugerowano w literaturze, że wydzielenie oddzielnych jednostek chorobowych jest nieuzasadnione [187, 188]. Badania funkcjonalnego neuroobrazowania wskazują jednak jednoznacznie na różnice między tymi schorzeniami [189, 190]. W związku z tym jedna z koncepcji sugeruje konieczność poszukiwania mniejszych, łatwiejszych do zdefiniowania jednostek, takich jak endofenotypy czy wymiary kliniczne, które umożliwią klasyfikację schorzenia.

Przedstawiona praca przedstawia nowatorskie badania nad określeniem możliwości użycia danych z testu OPCRIT do klasyfikacji schorzenia i przewidywania obecności poszczególnych wymiarów u badanych pacjentów.

- **Przewidywanie obecności/braku danego wymiaru klinicznego**

Rezultaty przedstawione w niniejszej pracy opisują analizę wydajności powszechnie stosowanych algorytmów uczenia maszynowego w procesie automatycznej identyfikacji obecności określonych wymiarów chorobowych na podstawie wyników testu OPCRIT. Uzyskane wyniki różniły się w zależności od zastosowanej metody klasyfikacji oraz użytej populacji chorych.

W przypadku analizy danych chorych na schizofrenię testowane narzędzia nie pozwoliły na powstanie statystycznie stabilnych modeli przewidywania obecności wybranych wymiarów. W wielokrotnych testach krzyżowych część narzędzi prowadziła do powstania modeli generujących wyniki losowe lub gorsze. W przypadku niektórych algorytmów uzyskiwane wyniki predykcji wykazywały bardzo zmienny charakter, a na wykresach rozkładu wartości AUC można było zaobserwować najczęściej dwa sygnały dominujące. W mojej opinii takie zróżnicowanie jakości uzyskanych modeli dla niektórych klasyfikatorów związane jest ze specyficzną strukturą dostępnych danych klinicznych użytych do analiz. Potwierdzeniem takiego wyjaśnienia obserwowanych wyników jest fakt, że w grupie połączonej tego typu zjawisko było obserwowane znacznie rzadziej.

Badania prowadzone na danych dotyczących grupy schorzenia afektywnego dwubiegunowego umożliwiły uzyskanie modelu spełniającego statystyczne kryteria istotności dla głównego wymiaru depresji. Zarówno dla maszyny wektorów nośnych, naiwnego klasyfikatora Bayesa, jak i drzew decyzyjnych powstały modele o wysokich wartościach AUC. Niestety, rozkład wartości AUC wskazuje, że nawet w przypadku tych algorytmów istnieje prawdopodobieństwo uzyskania modelu o współczynniku specyficzności wynoszącym mniej niż 50%. Mimo tego uważam, że modele wysokiej jakości uzyskane dla domeny depresji w grupie schorzenia afektywnego dwubiegunowego wskazują na wysoką

wewnętrzną integralność zbioru użytego do predykcji i stanowią wskazówkę, że dla tego wymiaru istnieje możliwość zastosowania w praktyce klinicznej.

W grupie reprezentującej populację wszystkich pacjentów analizowano pełen zestaw wymiarów wykrytych w analizie czynnikowej. W efekcie uzyskałam w tym przypadku najwięcej modeli o wysokich wartościach parametrów statystycznych. W przypadku podwymiaru depresji klasyfikator drzew decyzyjnych umożliwił uzyskanie modeli o wysokich wartościach współczynnika AUC. Także w odniesieniu do wymiaru pozytywnego 1 zastosowanie algorytmu maszyny wektorów nośnym SVM doprowadziło do uzyskania modeli, które wykazywały wysokie wartości współczynników jakości klasyfikatora. Dodatkowo oba algorytmy (drzew decyzyjnych oraz maszyny wektorów nośnym SVM) okazały się bardzo skuteczne w przypadku przewidywania obecności domeny pobudzenia/manii w grupie połączonej. Wszystkie otrzymane w tym przypadku modele spełniają statyczne kryteria oceny jakości modelu i charakteryzują się wysokimi wartościami wszystkich współczynników.

Wyniki otrzymane podczas testowania klasyfikatorów w różnych konfiguracjach danych wyraźnie wskazują na wpływ efektu populacji na jakość uzyskanych modeli. W następnych etapach analiz konieczne będzie wygenerowanie i ewaluacja modeli dla innych populacji. Umożliwi to znalezienie odpowiedzi na pytania dotyczące problemów z uzyskaniem predykcji w przypadku grupy chorych na schizofrenię oraz umożliwi ocenę wpływu wielkości, struktury i składu populacji na wyniki tego typu badań. Osobnym zagadnieniem powinno być przetestowanie innych algorytmów (np. sieci neuronowych), szczególnie w tych przypadkach gdzie zastosowane metody generowały modele, których jakość predykcyjna była zbliżona do losowej lub gorsza. Jak wskazują analizy zaprezentowane w niniejszej pracy problem detekcji obecności poszczególnych domen w obu schorzeniach jest skomplikowany i bardzo złożony. Przedstawione przykłady, w których udało się skonstruować modele predykcyjne dla niektórych wymiarów powinny być traktowane jako punkt wyjściowy do potencjalnych zastosowań praktycznych w diagnostyce medycznej oraz wstęp dla dalszych badań mających na celu dopracowanie parametrów oraz zastosowanie i rozwój nowych metod

- **Rozróżnianie pacjentów ze schizofrenią i schorzeniem afektywnym dwubiegunowym.**

Zastosowanie metod predykcji obecności wymiarów opartych na algorytmach uczenia maszynowego dla grupy połączonej oferuje także możliwość rozróżniania typu schorzenia u badanych pacjentów. Określenie obecności wymiaru, który jest specyficzny dla danego schorzenia jest najprostszym identyfikatorem typu choroby. Ze względu na ograniczoną

skuteczność przewidywania tych wymiarów, co zostało omówione powyżej, podjęto w niniejszej pracy próbę wykorzystania do tego celu domen wspólnych dla obu schorzeń.

Z trzech testowanych wymiarów, domena psychotyczna oraz wymiar manii umożliwiły stworzenie modeli statystycznych o wysokiej zdolności predykcyjnej. W obu przypadkach najlepsze wyniki uzyskano stosując algorytm drzew decyzyjnych i dlatego zastosowanie tej metody jest bardzo obiecujące dla dalszych, praktycznych zastosowań diagnostycznych. Należy jednak pamiętać, że uzyskane wyniki dotyczą danych reprezentujących chorych z regionu Wielkopolski. Otwartym pozostaje pytanie, czy predykcje o zbliżonej jakości będą możliwe w odniesieniu do danych z innych ośrodków klinicznych. Powtarzalność wyników oraz aspekt populacyjny jest niezwykle istotny w przypadku badań asocjacyjnych. Klasyfikację przedstawioną w niniejszej pracy przeprowadzono na grupie homogenicznej, co było wymogiem wykonania analiz asocjacji genetycznej. Z tego powodu uzyskane wyniki należy traktować jako specyficzne dla populacji wielkopolskiej. Weryfikacja analiz przy pomocy danych z innych ośrodków reprezentujących różne regiony Polski umożliwi określenie uniwersalności wyników przedstawionych w niniejszej pracy.

- **Zastosowanie modeli regresji do prognozowania obecności/nasilenia grup objawów klinicznych**

Zgodne z wcześniejszymi wynikami [125] ograniczoną użyteczność wykazało zastosowanie modeli regresji do prognozowania obecności grup objawów klinicznych. Należy zauważyć, że podobnie jak w przypadku analizy z wykorzystaniem algorytmów uczenia maszynowego, najlepsze rezultaty uzyskano w grupie połączonej. W niniejszej pracy wykorzystywano modele regresji liniowej oraz modele, w których zmienne takie jak wiek zachorowania, czy czas trwania najdłuższej epizodu poddano transformacji wielomianowej, która zalecana jest jako najbardziej skuteczna w przypadku nieliniowych zależności i rozkładów [191]. Zastosowanie w przyszłości innych transformacji oraz modeli może spowodować poprawę wyników prognozowania.

W przeprowadzonych analizach obraz kliniczny początku choroby oraz przebieg choroby okazały się użytecznymi predyktorami obecności/nasilenia dla zespołu objawów manii. Zaobserwowane dodatnie wartości współczynnika dla obrazu klinicznego pozwalają przewidywać, że im cięższy jest początek choroby tym cięższe będą epizody manii. Natomiast negatywna wartość współczynnika dla przebiegu choroby wskazuje, że w uciążliwym przebiegu schorzenia (krótkie okresy remisji, niepełna remisja) objawy manii

cechuje mniejsze nasilenie. Uzyskane w niniejszej pracy modele statycznie potwierdzają słusność obserwacji klinicznych.

W przypadku schorzenia afektywnego dwubiegunowego, obecność/nasilenie objawów w czasie epizodu depresji mogą być przewidywane na podstawie przebiegu choroby. W praktyce klinicznej obserwuje się, że po ustąpieniu epizodu depresji pacjenci cierpią czasem z powodu pojedynczych objawów depresyjnych (tzw. objawy resztkowe). Przedstawione w niniejszej pracy modele sugerują, że pojawienie się objawów resztkowych oznacza pojawienie się lub nasilenie w objawów depresyjnych późniejszym okresie. Podobnie jak w przypadku epizodu manii, uzyskane wyniki korelacji potwierdzają w statystyczny sposób praktykę kliniczną.

6. Podsumowanie

Celem pracy było określenie struktury wymiarów schizofrenii oraz schorzenia afektywnego dwubiegunowego poprzez zastosowanie nowego podejścia do analizy wyników testu OPCRIT.. W rezultacie udało się potwierdzić opisaną w literaturze strukturę wymiarów obu schorzeń oraz dodatkowo zidentyfikowano obecność nowych jednostek (wymiar funkcjonowania społecznego). Wyniki badań zostały opublikowane w 2012 roku w czasopiśmie *Schizophrenia Research* [114].

Uzyskaną strukturę wymiarów wykorzystano do przeprowadzenia analiz asocjacji genetycznych. W rezultacie zidentyfikowano statystycznie znaczące powiązanie między markerami receptora melatoniny a domeną psychotyczną. Uzyskane wyniki wskazują na nowe, interesujące kierunki badań.

Zidentyfikowane w oparciu o analizę wyników testu OPCRIT wymiary kliniczne zostały wykorzystane w celu sprawdzenia możliwości statystycznego wspomaganie diagnostyki klinicznej. W Tabeli 9 przedstawiono podsumowanie wyników przewidywania obecności poszczególnych wymiarów wymiarów obu schorzeń poprzez zastosowanie szeregu powszechnie stosowanych metod uczenia maszynowego.

Tabela 9. Podsumowanie wyników działania metod uczenia maszynowego. W kolumnach znajdują się grupy w których przeprowadzono obliczenia, wiersze oznaczają wymiary/podwymiary. Brak wymiaru oznacza, że w danej populacji nie wykryto/nie analizowano danej jednostki. SVM, DT: oznaczenia algorytmów.

	SCH	BP	SCH+BP (obecny/nieobecny)	SCH+BP (sch/bp)
główny podw. dep	-	SVM, DT	DT	-
mania	-	-	SVM, DT	DT
psych	-	-	-	SVM, DT
poz 1	-	brak wymiaru	-	brak wymiaru
poz 2	-	brak wymiaru	SVM	brak wymiaru
dezorganizacja	-	brak wymiaru	-	brak wymiaru

Przeprowadzone w ramach niniejszej pracy badania i analizy dostarczyły szeregu nowych wyników dotyczących struktury oraz właściwości schizofrenii i schorzenia afektywnego dwubiegunowego w oparciu o badania chorych z regionu Wielkopolski. Uzyskane wyniki potwierdzają, że kreatywne podejście do analizy istniejących danych oraz efektywne zastosowanie dostępnych narzędzi informatycznych i statystycznych może prowadzić do uzyskania interesujących wyników i formowania nowych hipotez badawczych.

7. Spis tabel i rycin

	str
Tabela 1	Najważniejsze analizowane w ostatnich latach geny kandydujące w schizofrenii oraz pełnione przez nie funkcje biologiczne 12
Tabela 2	Populacja badana, opublikowane w [114]. 25
Tabela 3	Markery genów <i>FAT1</i> oraz <i>MTNRIA</i> analizowane w pracy 26
Tabela 4	Markery genu <i>DISC1</i> analizowane w pracy 27
Tabela 5	Markery wybranych genów kandydujących, analizowane w pracy 28
Tabela 6	Liczba błędów popełnianych w trakcie testów. Oznaczenie: N- brak wykrycia; D- wykrycie; T- prawdziwy wynik; F- fałszywy wynik; m- liczba analizowanych hipotez [130] 34
Tabela 7	Wyjaśnienia oznaczeń, dla układu dwuklasowego. Klasę „obecny” oznaczono jako 1 i odpowiada ona klasie pozytywnej. Klasę „nieobecny” oznaczono jako 0 i będzie ona określana mianem klasy negatywnej. 40
Tabela 8	Wartości współczynnika α Cronbacha dla oznaczonych wymiarów oraz podwymiarów w analizowanych grupach. 56
Tabela 9	Podsumowanie wyników działania metod uczenia maszynowego. W kolumnach znajdują się grupy w których przeprowadzono obliczenia, wiersze oznaczają wymiary/podwymiary. Brak wymiaru oznacza, że w danej populacji nie wykryto/nie analizowano danej jednostki. SVM, DT: oznaczenia algorytmów. 98
Rycina 1	Ryzyko zachorowania na schizofrenię w zależności do stopnia pokrewieństwa z osobą chorą. Na podstawie: [6]. 11
Rycina 2	Markery używane w analizach asocjacji (SNP) oraz ich związek z haplotypami. Na podstawie: [75] . 16
Rycina 3	Wymiary kliniczne schizofrenii, na podstawie: [3]. 22
Rycina 4	Etapy analizy czynnikowej i głównych składowych, za [114]. 32
Rycina 5	Działanie algorytmu k-najbliższych sąsiadów, dla nowego obiektu, który na rysunku oznaczony został czerwoną kropką. X oznacza nowy obiekt. Linie oraz krzyżyki wskazują na obiekty jednej z dwóch znanych klas. Aby określić, do której z nich należy x należy obliczyć dystans do k najbliższych sąsiadów: czarny okrąg k=1, czerwony okrąg k=2, zielony okrąg k=3. Na podstawie: [144]. 36
Rycina 6	Działanie drzew decyzyjnych, za [146]. Obiekt może zostać zaklasyfikowany do jednej z dwóch klas (oznaczonych za pomocą kół i kwadratów), po spełnieniu odpowiednich warunków. 37
Rycina 7	Działanie algorytmu wektorów skośnych jako klasyfikatora dwuklasowego. Klasy zostały oznaczone jako +1 i -1 (w literaturze nazywane klasami pozytywnymi i negatywnymi). Niebieskie i zielone kule oznaczają obiekty należące do każdej z klas. X oznacza obiekt nieznaney klasy. Na podstawie: [150]. 39
Rycina 8.	Krzywa ROC oceniająca działanie klasyfikatora. Kolory oznaczają jakość modelu: czerwony: słaby model (odpowiednik AUC 0,5-0,7); niebieski kolor: dobry model (odpowiednik AUC 0,7-0,9); zielony: bardzo dobry klasyfikator (AUC 0,9 i wyżej). 42
Rycina 9	Definiowanie klasy w systemie obecny (1) / nieobecny (0). 44
Rycina 10	Prosta regresji w przypadku liniowej zależności między zmienną 46

	objaśniającą (x) a objaśnianą (y) [157].	
Rycina 11	Schemat bazy danych w MySQL powstałej z połączenia danych kwestionariusza OPCRIT oraz danych genetycznych. Kolorem czerwonym oznaczone są klucze główne, kolorem niebieskim klucze obce. Strzałki oznaczają kierunki relacji, czyli w jaki sposób powstają połączenia między tabelami. Oznaczenia relacji: 1:M jeden do wielu; M:M wielu do wielu.	48
Rycina 12	Schemat działania narzędzia obliczeniowego, które automatycznie wylicza asocjacje poj. SNP z danego genu z wymiarami w wybranej grupie.	50
Rycina 13	Schemat skalowania kwestionariusza OPCRIT, opublikowane w [114].	51
Rycina 14	Struktura czynnikowa schizofrenii [114]. Kolorami oznaczono wymiary i podwymiary: niebieski: depresja; zielony: mania; fioletowy: wymiar pozytywny/urojeniowy; pomarańczowy: wymiar dezorganizacyjny; różowy: wymiar funkcjonowania społecznego; ciemny różowy: wymiar psychotyczny; żółty: wymiar negatywny; czerwony: wymiar uzależnieniowy; szary: wymiar zbiorczy. PCA, ML: metody redukcji wymiarowości. W tabeli przedstawiono ładunki czynnikowe z zastosowaniem rotacji <i>varimax</i> .	53
Rycina 15	Współczynniki korelacji między wymiarami schizofrenii [114]. Oznaczenia wymiarów/podwymiary: dep1- główny podwymiar depresji, poz 1, poz 2- podwymiary pozytywne/urojeniowe, psych- psychotyczny, dez- dezorganizacji, uzal.-uzależnieniowy, zab.post. - zaburzenia postrzegania, ne- negatywny, spol- funkcjonowania społecznego, zab.ap- zaburzenia apetytu.	55
Rycina 16	Zmienność i stabilność uzyskanej struktury (użyto rotacji <i>varimax</i>) [114]. Oznaczenia wymiarów i podwymiary: dep: depresja, suic- tendencji samobójczych, zab.ap- zaburzenia apetytu, at- atypowa depresja, poz- pozytywny/urojeniowy, psych- psychotyczny, dez- dezorganizacyjny, ne- negatywny, zab.snu- zaburzeń snu, zab.pos- zaburzenia postrzegania, nn- wymiar klinicznie niewyjaśniany. Oznaczenia zdarzeń: m- dzielenie się wymiarów, ** całkowity rozpad wymiaru, * częściowy rozpad wymiaru. Oś X przedstawia liczbę wyróżnionych wymiarów, natomiast oś Y liczbę możliwych do klinicznej interpretacji.	56
Rycina 17	Struktura czynnikowa schorzenia afektywnego dwubiegunowego [114]. Kolorami oznaczono wymiary i podwymiary: niebieski: depresja; zielony: mania; różowy: funkcjonowania społecznego; ciemny różowy: psychotyczny; żółty: negatywny; czerwony: uzależnieniowy; szary: niewyjaśniany. PCA, ML: metody redukcji wymiarowości. W tabeli przedstawiono ładunki czynnikowe z zastosowaniem rotacji <i>varimax</i> .	59
Rycina 18	Współczynniki korelacji między wymiarami schorzenia afektywnego dwubiegunowego, opublikowane w [114]. Oznaczenia wymiarów/podwymiary: dep1- główny podwymiar depresji, psych- psychotyczny, dez- dezorganizacji, uzal.- uzależnieniowy, zab.post- zaburzenia postrzegania, ne- negatywny, spol- funkcjonowania społecznego, zab.ap- zaburzenia apetytu.	60
Rycina 19	Zmienność i stabilność uzyskanej struktury (rotacja <i>varimax</i>), o publikowane w [114]. Oznaczenia wymiarów/podwymiary: dep: depresja, suic- tendencji samobójczych, zab.ap- zaburzenia apetytu, at- atypowa depresja, psych- psychotyczny, ne- negatywny, zab.snu- zaburzeń snu, zab.pos- zaburzenia postrzegania,	61

	nn- wymiar klinicznie niewyjaśniany. Oznaczenia zdarzeń: m- dzielenie się wymiarów, ** całkowity rozpad wymiaru, * częściowy rozpad wymiaru. Na osi X przedstawiono liczbę wyróżnionych wymiarów, na osi Y liczbę wyjaśnianych klinicznie wymiarów.	
Rycina 20	Struktura czynnikowa grupy połączonej [114]. Kolorami oznaczono wymiary i podwymiary: niebieski: depresja, zielony: mania, fioletowy: wymiar pozytywny/urojeniowy, pomarańczowy: wymiar dezorganizacyjny, różowy: wymiar funkcjonowania społecznego, ciemny różowy: wymiar psychotyczny, żółty: wymiar negatywny, czerwony: wymiar uzależnieniowy, szary: łączny. PCA, ML: metody redukcji wymiarowości. W tabeli przedstawiono ładunki czynnikowe, z zastosowaniem rotacji promax.	62
Rycina 21	Współczynniki korelacji między wymiarami grupy połączonej, za [114]. Oznaczenia wymiarów/podwymiary: dep1- główny podwymiar depresji; poz1, poz2- podwymiary pozytywne/urojeniowe; psych- psychotyczny; dez- dezorganizacji; uzal.- uzależnieniowy; al- uzależnienie od alkoholu; ne- negatywny; spol- funkcjonowania społecznego; zab.ap- zaburzenia apetytu.	64
Rycina 22	Zmienność i stabilność uzyskanej struktury (rotacja promax). Oznaczenia wymiarów/podwymiary: dep: depresja, suic-suicydalny; zab.ap- zaburzenia apetytu; at- atypowa depresja, poz.- pozytywny/urojeniowy; psych- psychotyczny; dez- dezorganizacyjny; ne – negatywny; zab.snu- zaburzeń snu; zab.pos- zaburzenia postrzegania; nn- wymiar klinicznie niemożliwy do opisanie. Oznaczenia zdarzeń: m- dzielenie się wymiarów, ** całkowity rozpad wymiaru, * częściowy rozpad wymiaru. Oś X przedstawia liczbę wyróżnionych wymiarów, oś Y liczbę wymiarów wyjaśnianych klinicznie.	65
Rycina 23	Analizy asocjacji z wymiarem jako cechą ilościową, wygenerowane w programie PLINK. Oznaczenia wymiarów/podwymiary: psych: domena psychotyczne, zab.snu: podwymiar zaburzeń snu.	66
Rycina 24	Liczności genotypów dla markera rs6553013 w grupie schizofrenii oraz całej analizowanej populacji.	66
Rycina 25	Analizy asocjacji z wymiarem jako cechą ilościową wygenerowane z pomocą testu Kruskala-Wallisa. Oznaczenia wymiarów/podwymiary: psych: domena psychotyczna; zab.snu: podwymiar zaburzeń snu.	67
Rycina 26	Liczności genotypów dla markera rs11721818 w grupie schizofrenii oraz całej analizowanej populacji	67
Rycina 27	Działanie klasyfikatorów dla głównego podwymiary depresji w grupie schizofrenii. Oznaczenia algorytmów: maszyna wektorów nośnych (SVM); k-najbliższych sąsiadów (kNN); drzewa decyzyjne (DT). Na wykresie A znajduje się losowa krzywa ROC; na wykresie B rozkład wartości AUC uzyskanych w czasie kolejnych powtórzeń procesu trenowania-testowania algorytmu.	69
Rycina 28	Działanie klasyfikatorów dla podwymiary pozytywnego 2 w grupie schizofrenii. Na wykresie A przedstawiono ROC uzyskane w badanej grupie, na wykresie B rozkład wartości AUC uzyskanych w czasie kolejnych powtórzeń procesu trenowania-testowania algorytmu.	71
Rycina 29	Działanie klasyfikatorów dla podwymiary urojeniowego 1 w grupie SCH. Na wykresie A przedstawiono ROC uzyskane w badanej grupie, na wykresie B rozkład wartości AUC uzyskanych w czasie kolejnych powtórzeń procesu trenowania-testowania algorytmu.	71

Rycina 30	Algorytmy i ich działanie dla domeny dezorganizacji w populacji schizofrenii. Wykres A ilustruje krzywą ROC; B rozkład wartości AUC uzyskanych w czasie kolejnych powtórzeń procesu trenowania-testowania algorytmu	72
Rycina 31	Działanie klasyfikatorów w wymiarze psychotycznym. Wykres A ilustruje krzywą ROC zaś wykres B rozkład wartości AUC.	73
Rycina 32	Skuteczność klasyfikatorów dla domeny manii w grupie schizofrenii. Po lewej przedstawiono ROC uzyskane w badanej grupie, po prawej wartości AUC.	74
Rycina 33	Działanie klasyfikatorów dla głównego podwymiaru depresji w populacji BP. Po lewej przedstawiono ROC uzyskane w badanej grupie, po prawej AUC.	75
Rycina 34	Działanie klasyfikatorów dla głównego podwymiaru depresji w grupie BP, mierzone poprzez czułość, współczynnik F, trafność przewidywań oraz specyficzności. Na osi X przedstawiono wartość współczynnika zaś na osi Y ile razy dana wartość wystąpiła w trakcie 1000 powtórzeń procesu trenowania i testowania modelu.	76
Rycina 35	Działanie algorytmów dla wymiaru psychotycznego w grupie schorzenia afektywnego dwubiegunowego. Po lewej przedstawiono ROC uzyskane w badanej grupie, po prawej wartości AUC.	77
Rycina 36	Działanie klasyfikatorów dla głównego podwymiaru depresji w grupie BP. Wykres A przedstawia przykładową krzywą ROC, zaś B rozkład wartości AUC.	78
Rycina 37	Działanie drzew decyzyjnych dla głównego podwymiaru depresji w grupie połączonej. Na osi X przedstawiono wartość współczynnika zaś na osi Y ile razy dana wartość wystąpiła w trakcie 1000 powtórzeń procesu trenowania i testowania modelu.	79
Rycina 38	Ewaluacja algorytmów dla domeny psychotycznej w grupie połączonej. Na wykresie A widać przykładową krzywą ROC, w sekcji B rozkład wartości AUC.	80
Rycina 39	Ewaluacja klasyfikatorów dla wymiaru dezorganizacji w grupie połączonej. W części A widać przykładową krzywą ROC, na wykresie B wartości AUC.	81
Rycina 40	Działanie klasyfikatorów w podwymiarze pozytywnego 2 dla całej analizowanej populacji. W części A widać przykładową krzywą ROC, zaś B ilustruje rozkład wartości AUC.	82
Rycina 41	Klasyfikatory i ich skuteczność dla podwymiaru pozytywnego 1 w grupie połączonej. Część A ilustruje przykładową krzywą ROC, część B rozkład wartości AUC.	83
Rycina 42	Skuteczność klasyfikatora SVM dla podwymiaru pozytywnego 1 w grupie połączonej, mierzone przez: czułość, współczynnik F, trafność przewidywań i specyficzność.	83
Rycina 43	Algorytmy i ich skuteczność dla domeny manii w całej analizowanej populacji. Krzywa ROC została przedstawiona w części A, zaś rozkład AUC w części B.	84
Rycina 44	Ewaluacja klasyfikatorów dla domeny manii w całej analizowanej grupie. Miary oceny klasyfikatora: czułość, współczynnik F, trafność przewidywań oraz specyficzność.	85
Rycina 45	Ewaluacja klasyfikatorów dla głównego podwymiaru depresji w grupie połączonej. Wykres A zawiera przykładową krzywą ROC,	86

	na wykresie B histogram wartości AUC.	
Rycina 46	Działanie klasyfikatorów dla wymiaru psychotycznego w połączonej. Po lewej widać przykładową krzywą ROC, po prawej rozkład wartości AUC.	86
Rycina 47	Skuteczność działania algorytmów dla wymiaru psychotycznego w grupie połączonej. Szczegółowe miary: czułość, współczynnik F, trafność przewidywań oraz specyficzność.	87
Rycina 48	Domena psychotyczna w grupie połączonej. W części A widać przykładową krzywą ROC, w sekcji B rozkład wartości AUC.	88
Rycina 49	Skuteczność działania drzew decyzyjnych dla domeny manii w grupie połączonej. Miary oceny działania algorytmu: czułość, współczynnik F, trafność przewidywań oraz specyficzność.	89

8. Wykaz skrótów

SCH	-	schizofrenia
BP	-	zaburzenie afektywne dwubiegunowe
DA	-	dopamina
GABA	-	kwas gamma-aminomasłowy
H	-	odziedziczalność
GWAS	-	analizy asocjacyjne w skali genomu (ang. <i>genome-wide association studies</i>)
SNP	-	polimorfizm pojedynczego nukleotydu (ang. <i>single nucleotide polymorphism</i>)
CNV	-	zmienność liczny kopii (ang. <i>copy number variation</i>)
PCA	-	analiza głównych składowych (ang. <i>principal components analysis</i>)
FA	-	analiza czynnikowa (ang. <i>factor analysis</i>)
KMO	-	współczynnik stosowalności KMO (ang. <i>Kaiser-Meyer-Olkin measure of sample adequacy</i>)
STV	-	odsetek liczby przypadków do zmiennych (ang. <i>subject to variables ratio</i>)
ML	-	algorytm maksymalnego prawdopodobieństwa (ang. <i>maximum likelihood</i>)
FDR	-	spodziewany odsetek wyników fałszywie pozytywnych (ang. <i>false discovery rate</i>)
NB	-	klasyfikator Naiwnego Bayesa (ang. <i>naïve Bayes</i>)
DT	-	klasyfikator drzew decyzyjnych (ang. <i>decision trees</i>)
SVM	-	maszyna wektorów nośnych (ang. <i>support vector machines</i>)
TP	-	wyniki prawdziwie pozytywne (ang. <i>true positives</i>)
FP	-	wyniki fałszywie pozytywne (ang. <i>false positives</i>)
TN	-	wyniki prawdziwie negatywne (ang. <i>true negatives</i>)
FN	-	wyniki fałszywie negatywne (ang. <i>false negatives</i>)
AUC	-	pole pod krzywą czułością i specyficzności (ang. <i>area under curve</i>)
ROC	-	graficzna reprezentacja odsetka wyników prawdziwie pozytywnych (TP) do fałszywie pozytywnych (FP) (ang. <i>receiver operator characteristic curve</i>)
AIC	-	kryterium informacyjne Akaikego (ang. <i>Akaike information criteria</i>)
FRS	-	objawy pierwszorządowe Schneidera (ang. <i>Schneiderian First Rank symptoms</i>)

9. Narzędzia informatyczne wykorzystane w pracy

Poniżej zamieszczam listę programów/pakietów R wykorzystanych w mojej pracy.

9.1. Redukcja wymiarowości

Pakiet R	Użyta funkcja	Cel
psych	principal()	Przeprowadzenie analiz redukcji wymiarowości metodą analizy głównych składowych
podstawowa wersja R	fa()	Przeprowadzenie analiz redukcji wymiarowości metodą analizy czynnikowej

9.2. Asocjacje genetyczne

Pakiet R/użyty program	Użyta funkcja	Cel
PLINK	--linear, --logistic	Asocjacje genetyczne z wykorzystaniem prostych modeli regresji
podstawowa wersja R	kruskal.test()	Wyliczenie asocjacji genotyp:cecha ilościowa
	wilcox.test()	Określenie istotnych genotypów dla asocjacji z korekcją FDR

9.3. Klasyfikacja

Pakiet R	Użyta funkcja	Cel
e1071	tune()	Określenie optymalnych parametrów dla SVM
	svm()	Budowa modelu SVM
	naiveBayes()	Budowa modelu dla klasyfikatora naiwnego Bayesa
rpart	rpart()	Budowa modelu drzew decyzyjnych
kkn	train.kknn()	Określenie liczby najbliższych sąsiadów do których zostanie przeprowadzona klasyfikacja
	kknn()	Budowa modelu
ROC	performance()	Określenie paramentów jak AUC, odsetek TP i FP dla zbioru trenującego
	plot()	Wygenerowanie krzywej ROC

9.4. Modele regresji

Pakiet R	Użyta funkcja	Cel
podstawowa wersja R	lm()	Budowa modelu regresji
	extractAIC()	Wyliczenie wartości AIC dla modelu

10. Piśmiennictwo

1. Adam, B., *Psychiatria. Podręcznik dla studentów medycyny*. 2003, Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL. 748.
2. Stanisław Pużyński, J.R., Jacek Wciórka, *Psychiatria. Psychiatria kliniczna*. Vol. II. 2011, Wrocław: Elsevier Urban & Partner. 703.
3. Adam Bilikiewicz, S.P.J.R.J.W., *Psychiatria, psychiatria kliniczna*. Vol. 2. 2002, Wrocław: Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner. 751.
4. Rosen, C., et al., *Diagnostic and prognostic significance of Schneiderian first-rank symptoms: a 20-year longitudinal study of schizophrenia and bipolar disorder*. *Comprehensive psychiatry*, 2011. **52**(2): p. 126-131.
5. González-Pinto, A., et al., *Age-dependence of Schneiderian psychotic symptoms in bipolar patients*. *Schizophrenia research*, 2003. **61**(2-3): p. 157-162.
6. Riley, B. and K.S. Kendler, *Molecular genetic studies of schizophrenia*. *European journal of human genetics: EJHG*, 2006. **14**(6): p. 669-680.
7. Sullivan Pf, K.K.S., *Schizophrenia as a complex trait: Evidence from a meta-analysis of twin studies*. *Archives of General Psychiatry*, 2003. **60**(12): p. 1187-1192.
8. Marek, J., *Leksykon schizofrenii*. I ed. 2010, Poznan: Termedia Wydawnictwa Medycznedyczne. 166.
9. Hamshere, M.L., et al., *Genome wide significant linkage in schizophrenia conditioning on occurrence of depressive episodes*. *Journal of medical genetics*, 2006. **43**(7): p. 563-567.
10. Bressan, R.A., et al., *Depressive episodes in stable schizophrenia: critical evaluation of the DSM-IV and ICD-10 diagnostic criteria*. *Psychiatry research*, 2003. **117**(1): p. 47-56.
11. Caldwell, C.B. and I.I. Gottesman, *Schizophrenics Kill Themselves Too: A Review of Risk Factors for Suicide*. *Schizophrenia Bulletin*, 1990. **16**(4): p. 571-589.
12. Craddock, N. and P. Sklar, *Genetics of bipolar disorder: successful start to a long journey*. *Trends in Genetics*, 2009. **25**(2): p. 99-105.
13. MacQueen, G.M., T. Hajek, and M. Alda, *The phenotypes of bipolar disorder: relevance for genetic investigations*. *Molecular psychiatry*, 2005. **10**(9): p. 811-826.
14. Kropiwnicki, P. *Choroba afektywna dwubiegunowa*. Choroba afektywna dwubiegunowa [strona szpitala]; Available from: http://www.csk.lodz.pl/depresja/Choroba_afektywna_dwubiegunowa.htm.
15. Offord, J., *Genetic approaches to a better understanding of bipolar disorder*. *Pharmacology & Therapeutics*, 2012. **133**(2): p. 133-141.
16. Kunugi, H., S. Nanko, and R.M. Murray, *Obstetric complications and schizophrenia: prenatal underdevelopment and subsequent neurodevelopmental impairment*. *The British journal of psychiatry. Supplement*, 2001. **40**: p. s25-29.
17. Oskvig, D.B., et al., *Maternal immune activation by LPS selectively alters specific gene expression profiles of interneuron migration and oxidative stress in the fetus without triggering a fetal immune response*. *Brain, behavior, and immunity*, 2012. **26**(4): p. 623-634.
18. Schmidt-Kastner, R., et al., *An environmental analysis of genes associated with schizophrenia: hypoxia and vascular factors as interacting elements in the neurodevelopmental model*. *Molecular psychiatry*, 2012.
19. Sadetzki, S., et al., *Childhood exposure to ionizing radiation to the head and risk of schizophrenia*. *Radiation research*, 2011. **176**(5): p. 670-677.

20. Torrey, E.F., et al., *Birth seasonality in bipolar disorder, schizophrenia, schizoaffective disorder and stillbirths*. Schizophrenia research, 1996. **21**(3): p. 141-149.
21. Demler, T.L., *Challenging the hypothesized link to season of birth in patients with schizophrenia*. Innovations in clinical neuroscience, 2011. **8**(9): p. 14-19.
22. Hori, H., et al., *Relationships between season of birth, schizotypy, temperament, character and neurocognition in a non-clinical population*. Psychiatry Research, 2012. **195**(1-2): p. 69-75.
23. Husted, J.A., et al., *Early environmental exposures influence schizophrenia expression even in the presence of strong genetic predisposition*. Schizophrenia research, 2012. **137**(1-3): p. 166-168.
24. Bourque, F., et al., *Immigration, social environment and onset of psychotic disorders*. Curr Pharm Des, 2012. **18**(4): p. 518-26.
25. Ampadu, E., *The impact of immigration on the development of adolescent schizophrenia*. J Child Adolesc Psychiatr Nurs, 2011. **24**(3): p. 161-7.
26. Perron, H., et al., *Molecular characteristics of Human Endogenous Retrovirus type-W in schizophrenia and bipolar disorder*. Transl Psychiatry, 2012. **2**: p. e201.
27. Christensen, T., *HERVs in neuropathogenesis*. J Neuroimmune Pharmacol, 2010. **5**(3): p. 326-35.
28. Nyegaard, M., et al., *No association of polymorphisms in human endogenous retrovirus K18 and CD48 with schizophrenia*. Psychiatric Genetics, 2012. **22**(3): p. 146-8.
29. Zubin, J. and B. Spring, *Vulnerability--a new view of schizophrenia*. J Abnorm Psychol, 1977. **86**(2): p. 103-26.
30. Ciompi, L., *Affect logic: an integrative model of the psyche and its relations to schizophrenia*. The British journal of psychiatry. Supplement, 1994(23): p. 51-5.
31. Waddington, J.L. and H.A. Youssef, *Is schizophrenia a neurodevelopmental disorder?* British medical journal (Clinical research ed.), 1987. **295**(6604): p. 997-998.
32. Ashe, P.C., M.D. Berry, and A.A. Boulton, *Schizophrenia, a neurodegenerative disorder with neurodevelopmental antecedents*. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry, 2001. **25**(4): p. 691-707.
33. Done, D.J., et al., *Childhood antecedents of schizophrenia and affective illness: social adjustment at ages 7 and 11*. BMJ (Clinical research ed.), 1994. **309**(6956): p. 699-703.
34. Rapoport, J.L., et al., *The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005*. Molecular Psychiatry, 2005. **10**(5): p. 434-449.
35. Nicodemus, K.K., et al., *Serious obstetric complications interact with hypoxia-regulated/vascular-expression genes to influence schizophrenia risk*. Molecular psychiatry, 2008. **13**(9): p. 873-877.
36. Schmidt-Kastner, R., et al., *Gene regulation by hypoxia and the neurodevelopmental origin of schizophrenia*. Schizophrenia Research, 2006. **84**(2-3): p. 253-271.
37. Crow, T.J., *Molecular pathology of schizophrenia: more than one disease process?* Br Med J, 1980. **280**(6207): p. 66-8.
38. Owen, M.J., H.J. Williams, and M.C. O'Donovan, *Schizophrenia genetics: advancing on two fronts*. Current opinion in genetics & development, 2009. **19**(3): p. 266-270.
39. Cacabelos, R. and R. Martínez-Bouza, *Genomics and Pharmacogenomics of Schizophrenia*. CNS Neuroscience & Therapeutics, 2011. **17**(5): p. 541-565.
40. Gershon, E.S., N. Alliey-Rodriguez, and C. Liu, *After GWAS: Searching for Genetic Risk for Schizophrenia and Bipolar Disorder*. American Journal of Psychiatry, 2011. **168**(3): p. 253-256.

41. Tiwari, A.K., et al., *Genetics in schizophrenia: where are we and what next?* Dialogues in Clinical Neuroscience, 2010. **12**(3): p. 289-303.
42. Rudin, E., *Zur Vererbung und Nuenentstehung der Dementia Praecox*, 1916, Springer-Verlag, Berlin.
43. McGuffin, P., *Seminars in psychiatric genetics*, in *Schizophrenia*. 1994, Royal College of Psychiatrists: London. p. 87-109.
44. Girard, S.L., et al., *Where are the missing pieces of the schizophrenia genetics puzzle?* Current Opinion in Genetics & Development, 2011. **21**(3): p. 310-316.
45. St Clair, D., et al., *Association within a family of a balanced autosomal translocation with major mental illness*. Lancet, 1990. **336**(8706): p. 13-6.
46. Bennett, M.R., *Schizophrenia: susceptibility genes, dendritic-spine pathology and gray matter loss*. Progress in Neurobiology, 2011. **95**(3): p. 275-300.
47. Jaaro-Peled, H., et al., *Neurodevelopmental mechanisms of schizophrenia: understanding disturbed postnatal brain maturation through neuregulin-1-ErbB4 and DISC1*. Trends in Neurosciences, 2009. **32**(9): p. 485-495.
48. Kurnianingsih, Y.A., et al., *Neurocognitive-genetic and neuroimaging-genetic research paradigms in schizophrenia and bipolar disorder*. Journal of Neural Transmission, 2011. **118**(11): p. 1621-1639.
49. Soyka, M., *Neurobiology of Aggression and Violence in Schizophrenia*. Schizophrenia Bulletin, 2011. **37**(5): p. 913-920.
50. Harrison, P.J. and D.R. Weinberger, *Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence*. Mol Psychiatry, 2005. **10**(1): p. 40-68; image 5.
51. Labrie, V., A.H.C. Wong, and J.C. Roder, *Contributions of the d-serine pathway to schizophrenia*. Neuropharmacology, 2012. **62**(3): p. 1484-1503.
52. Itokawa, M., T. Arinami, and M. Toru, *Advanced research on dopamine signaling to develop drugs for the treatment of mental disorders: Ser311Cys polymorphisms of the dopamine D2-receptor gene and schizophrenia*. Journal of pharmacological sciences, 2010. **114**(1): p. 1-5.
53. Ayalew, M., et al., *Convergent functional genomics of schizophrenia: from comprehensive understanding to genetic risk prediction*. Molecular psychiatry, 2012. **17**(9): p. 887-905.
54. Mah, S., et al., *Identification of the semaphorin receptor PLXNA2 as a candidate for susceptibility to schizophrenia*. Molecular Psychiatry, 2006. **11**(5): p. 471-478.
55. O'Donovan, M.C., et al., *Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up*. Nat Genet, 2008. **40**(9): p. 1053-5.
56. Takata, A., et al., *A Population-Specific Uncommon Variant in GRIN3A Associated with Schizophrenia*. Biol Psychiatry, 2012.
57. Janusz Rybakowski, J.J., *Leksykon manii i depresji*, 1, Editor 2010, Termedia Wydawnictwo Medyczne: Poznan.
58. Krefetz, D.G., et al., *Convergent validity of the Beck depression inventory-II with the reynolds adolescent depression scale in psychiatric inpatients*. J Pers Assess, 2002. **78**(3): p. 451-60.
59. Beck, A.T., *Cognitive therapy of depression*. The Guilford clinical psychology and psychotherapy series. 1979, New York: Guilford Press. 425 p.
60. Barnett, J.H. and J.W. Smoller, *The genetics of bipolar disorder*. Neuroscience, 2009. **164**(1): p. 331-343.
61. Heun, R. and W. Maier, *The distinction of bipolar II disorder from bipolar I and recurrent unipolar depression: results of a controlled family study*. Acta psychiatrica Scandinavica, 1993. **87**(4): p. 279-84.

62. Smoller, J.W. and C.T. Finn, *Family, twin, and adoption studies of bipolar disorder*. American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics, 2003. **123C**(1): p. 48-58.
63. Craddock, N., M.C. O'Donovan, and M.J. Owen, *The genetics of schizophrenia and bipolar disorder: dissecting psychosis*. J Med Genet, 2005. **42**(3): p. 193-204.
64. De Luca, V., et al., *Tryptophan hydroxylase 2 gene expression and promoter polymorphisms in bipolar disorder and schizophrenia*. Psychopharmacology (Berl), 2005. **183**(3): p. 378-82.
65. Harvey, A.G., *Sleep and circadian rhythms in bipolar disorder: seeking synchrony, harmony, and regulation*. The American journal of psychiatry, 2008. **165**(7): p. 820-9.
66. Shi, J., et al., *Clock genes may influence bipolar disorder susceptibility and dysfunctional circadian rhythm*. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2008. **147B**(7): p. 1047-55.
67. Baum, A.E., et al., *A genome-wide association study implicates diacylglycerol kinase eta (DGKH) and several other genes in the etiology of bipolar disorder*. Mol Psychiatry, 2008. **13**(2): p. 197-207.
68. Wellcome Trust Case Control, C., *Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls*. Nature, 2007. **447**(7145): p. 661-78.
69. Ferreira, M.A., et al., *Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder*. Nat Genet, 2008. **40**(9): p. 1056-8.
70. Miro, X., et al., *Studies in humans and mice implicate neurocan in the etiology of mania*. The American journal of psychiatry, 2012. **169**(9): p. 982-90.
71. Kim, J.Y., et al., *Interplay between DISC1 and GABA signaling regulates neurogenesis in mice and risk for schizophrenia*. Cell, 2012. **148**(5): p. 1051-64.
72. Rebhan, M., et al., *GeneCards: a novel functional genomics compendium with automated data mining and query reformulation support*. Bioinformatics, 1998. **14**(8): p. 656-664.
73. Kamiya, A., T.W. Sedlak, and M.V. Pletnikov, *DISC1 Pathway in Brain Development: Exploring Therapeutic Targets for Major Psychiatric Disorders*. Front Psychiatry, 2012. **3**: p. 25.
74. Barrett, J.C., *Haploview: Visualization and analysis of SNP genotype data*. Cold Spring Harb Protoc, 2009. **2009**(10): p. pdb ip71.
75. International HapMap, C., *The International HapMap Project*. Nature, 2003. **426**(6968): p. 789-96.
76. Grayton, H.M., et al., *Copy number variations in neurodevelopmental disorders*. Prog Neurobiol, 2012. **99**(1): p. 81-91.
77. Wellcome Trust Case Control, C., et al., *Genome-wide association study of CNVs in 16,000 cases of eight common diseases and 3,000 shared controls*. Nature, 2010. **464**(7289): p. 713-20.
78. Silverman, E.K. and L.J. Palmer, *Case-control association studies for the genetics of complex respiratory diseases*. Am J Respir Cell Mol Biol, 2000. **22**(6): p. 645-8.
79. Kim, Y., et al., *Schizophrenia Genetics: Where Next?* Schizophrenia Bulletin, 2011. **37**(3): p. 456-463.
80. Maher, B.H. and L.R. Griffiths, *Identification of molecular genetic factors that influence migraine*. Mol Genet Genomics, 2011. **285**(6): p. 433-46.
81. Agopian, A.J. and L.E. Mitchell, *MI-GWAS: a SAS platform for the analysis of inherited and maternal genetic effects in genome-wide association studies using log-linear models*. BMC Bioinformatics, 2011. **12**: p. 117.

82. Pearson, T.A. and T.A. Manolio, *How to interpret a genome-wide association study*. JAMA, 2008. **299**(11): p. 1335-44.
83. Girard, S.L., P.A. Dion, and G.A. Rouleau, *Schizophrenia Genetics: Putting All the Pieces Together*. Current Neurology and Neuroscience Reports, 2012. **12**(3): p. 261-266.
84. O'Donovan, M.C., et al., *Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up*. Nature genetics, 2008. **40**(9): p. 1053-1055.
85. Schanze, D., et al., *Evaluation of risk loci for schizophrenia derived from genome-wide association studies in a German population*. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2011. **156**(2): p. 198-203.
86. Stefansson, H., et al., *Common variants conferring risk of schizophrenia*. Nature, 2009. **460**(7256): p. 744-747.
87. International Schizophrenia, C., et al., *Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder*. Nature, 2009. **460**(7256): p. 748-52.
88. Jia, P., et al., *Network-assisted investigation of combined causal signals from genome-wide association studies in schizophrenia*. PLoS Comput Biol, 2012. **8**(7): p. e1002587.
89. Fanous, A.H., et al., *Genome-wide association study of clinical dimensions of schizophrenia: polygenic effect on disorganized symptoms*. The American journal of psychiatry, 2012. **169**(12): p. 1309-17.
90. Schulze, T.G., *Genetic research into bipolar disorder: the need for a research framework that integrates sophisticated molecular biology and clinically informed phenotype characterization*. The Psychiatric clinics of North America, 2010. **33**(1): p. 67-82.
91. Schulze, T.G., et al., *Two variants in Ankyrin 3 (ANK3) are independent genetic risk factors for bipolar disorder*. Molecular psychiatry, 2009. **14**(5): p. 487-491.
92. Smith, E.N., et al., *Genome-wide association study of bipolar disorder in European American and African American individuals*. Molecular psychiatry, 2009. **14**(8): p. 755-763.
93. Schulze, T.G., *Genetic research into bipolar disorder: the need for a research framework that integrates sophisticated molecular biology and clinically-informed phenotype characterization*. The Psychiatric clinics of North America, 2010. **33**(1): p. 67-82.
94. Wooster, R., et al., *Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13*. Science (New York, N.Y.), 1994. **265**(5181): p. 2088-2090.
95. Huang, J., et al., *Cross-disorder genomewide analysis of schizophrenia, bipolar disorder, and depression*. The American journal of psychiatry, 2010. **167**(10): p. 1254-63.
96. Moskvina, V., et al., *Gene-wide analyses of genome-wide association data sets: evidence for multiple common risk alleles for schizophrenia and bipolar disorder and for overlap in genetic risk*. Mol Psychiatry, 2009. **14**(3): p. 252-60.
97. Ma, J. and C.I. Amos, *Principal components analysis of population admixture*. PLoS ONE, 2012. **7**(7): p. e40115.
98. Gottesman, II and T.D. Gould, *The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions*. The American journal of psychiatry, 2003. **160**(4): p. 636-45.
99. McGuffin, P., A. Farmer, and I. Harvey, *A polydiagnostic application of operational criteria in studies of psychotic illness. Development and reliability of the OPCRIT system*. Archives of General Psychiatry, 1991. **48**(8): p. 764-70.
100. Craddock, M., et al., *Concurrent validity of the OPCRIT diagnostic system. Comparison of OPCRIT diagnoses with consensus best-estimate lifetime diagnoses*.

- The British journal of psychiatry: the journal of mental science, 1996. **169**(1): p. 58-63.
101. Farmer, A.E., et al., *Methodological issues in using a polydiagnostic approach to define psychotic illness*. The British journal of psychiatry: the journal of mental science, 1992. **161**: p. 824-30.
 102. Pawlak, J., *Czynniki związane z ryzykiem samobójstwa u osób z zaburzeniami nastroju* in *Katedra Psychiatrii* 2011, Uniwersytet Medyczny im Karola Marcinkowskiego Poznaniu: Poznań. p. 155.
 103. Cardno, A.G., et al., *Factor analysis of schizophrenic symptoms using the OPCRIT checklist*. Schizophr Res, 1996. **22**(3): p. 233-9.
 104. Toomey, R., et al., *Negative, positive, and disorganized symptom dimensions in schizophrenia, major depression, and bipolar disorder*. J Nerv Ment Dis, 1998. **186**(8): p. 470-6.
 105. Serretti, A., et al., *Major psychoses symptomatology: factor analysis of 2241 psychotic subjects*. European archives of psychiatry and clinical neuroscience, 2001. **251**(4): p. 193-8.
 106. Allardyce, J., et al., *Do symptom dimensions or categorical diagnoses best discriminate between known risk factors for psychosis?* Social psychiatry and psychiatric epidemiology, 2007. **42**(6): p. 429-37.
 107. Cicero, D.C. and J.G. Kerns, *Multidimensional factor structure of positive schizotypy*. J Pers Disord, 2010. **24**(3): p. 327-43.
 108. Rosenman, S., et al., *Dimensional vs. categorical diagnosis in psychosis*. Acta psychiatrica Scandinavica, 2003. **107**(5): p. 378-84.
 109. Benazzi, F., *Factor structure of recalled DSM-IV hypomanic symptoms of bipolar II disorder*. Comprehensive psychiatry, 2004. **45**(6): p. 441-6.
 110. Contreras, J., et al., *Principal domains of quantitative anxiety trait in subjects with lifetime history of mania*. Journal of affective disorders, 2012. **136**(1-2): p. e69-75.
 111. MacQueen, G.M., T. Hajek, and M. Alda, *The phenotypes of bipolar disorder: relevance for genetic investigations*. Mol Psychiatry, 2005. **10**(9): p. 811-26.
 112. Ivleva, E.I., et al., *Genetics and intermediate phenotypes of the schizophrenia--bipolar disorder boundary*. Neurosci Biobehav Rev, 2010. **34**(6): p. 897-921.
 113. Drabant, E.M., et al., *Catechol O-methyltransferase val158met genotype and neural mechanisms related to affective arousal and regulation*. Archives of General Psychiatry, 2006. **63**(12): p. 1396-406.
 114. Maciukiewicz, M., et al., *Analysis of OPCRIT results indicate the presence of a novel 'social functioning' domain and complex structure of other dimensions in the Wielkopolska (Poland) population*. Schizophr Res, 2012. **138**(2-3): p. 223-32.
 115. Thomson, P.A., et al., *Association between the TRAX/DISC locus and both bipolar disorder and schizophrenia in the Scottish population*. Molecular psychiatry, 2005. **10**(7): p. 657-668, 616.
 116. Hodgkinson, C.A., et al., *Disrupted in schizophrenia 1 (DISC1): association with schizophrenia, schizoaffective disorder, and bipolar disorder*. American journal of human genetics, 2004. **75**(5): p. 862-872.
 117. Kähler, A.K., et al., *Association study of PDE4B gene variants in Scandinavian schizophrenia and bipolar disorder multicenter case-control samples*. American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics: the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics, 2010. **153B**(1): p. 86-96.
 118. Riva, A. and I.S. Kohane, *SNPper: retrieval and analysis of human SNPs*. Bioinformatics, 2002. **18**(12): p. 1681-5.

119. Michael, J.C., *R book*. 2007, Imperial College London at Silwood Park, UK: John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England. 942.
120. *Eksploracyjna analiza danych. Metody rzutowania: analiza składowych głównych oraz skalowanie wielowymiarowe*.
121. Costello, A. and J. Osborne, *Best practices in exploratory factor analysis: Four recommendations for getting the most from your analysis*. Practical Assessment, Research & Evaluation, 2005. **10**: p. 173-178.
122. *Analiza danych (W10)*, in *wyklad: Collegium Mathematicum Umultowska 87 61-614 Poznań*.
123. *Principal Component Analysis vs. Exploratory Factor Analysis*: University of Northern Colorado.
124. H, K., *An index of factorial simplicity*. Psychometrika, 1974. **39**: p. 31-36.
125. Allardyce, J., et al., *Do symptom dimensions or categorical diagnoses best discriminate between known risk factors for psychosis?* Social psychiatry and psychiatric epidemiology, 2007. **42**(6): p. 429-437.
126. Cardno, A.G., et al., *Factor analysis of schizophrenic symptoms using the OPCRIT checklist*. Schizophrenia research, 1996. **22**(3): p. 233-239.
127. Franklin, S.B., et al., *Parallel Analysis: a method for determining significant principal components*. Journal of Vegetation Science, 1995. **6**(1): p. 99-106.
128. Bland, J.M. and D.G. Altman, *Cronbach's alpha*. BMJ, 1997. **314**(7080): p. 572.
129. Herve, A., *Holm's Sequential Bonferroni Procedure*, 2010, Thousand Oaks, CA: Sage.
130. *A Tutorial on False Discovery Control*.
131. Hochberg, Y.B.a.Y., *Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing*. Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological), 1995. **57**(1): p. 289-300.
132. JohnRos, *Is there a nonparametric equivalent of Tukey HSD?*, in *CrossValidated*.
133. Koji, Y., *Statistics for HCI Research : KruskalWallis*, in *Koji Yatani, Ph.D. personal page*.
134. Michael, M., *post-hoc test with kruskal.test()*, in *R help*.
135. Ji-Qian, F., *Medical statistics and computer experiments*. third ed. 2005: World Scientific Publishing Co.Pte.Ltd. 911.
136. Mark Hall, E.F.G.H.B.P.P.R.I.H.W., *The WEKA Data Mining Software: An Update*. SIGKDD Explorations, 2009. **11**(1).
137. Team, R.C., *R: A Language and Environment for Statistical Computing*, 2012, R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria.
138. Jensen, L.J. and A. Bateman, *The rise and fall of supervised machine learning techniques*. Bioinformatics, 2011. **27**(24): p. 3331-2.
139. Lanzi, P.L., *Machine Learning and Data Mining*, 2007, Politecnico di Milano.
140. Moore, A.W. *Statistical Data Mining Tutorials*. 2006 [cited 2012; Available from: <http://www.autonlab.org/tutorials/>].
141. Ng, A. *Open Classroom, Machine Learning*. 2010 [cited 2011; Available from: <http://openclassroom.stanford.edu/MainFolder/CoursePage.php?course=MachineLearning>].
142. Jerzy Stefanowski, M.K., Krzysztof Krawiec. *Uczenie maszynowe i sieci neuronowe 2010* [cited 2011; Available from: <http://www.cs.put.poznan.pl/jstefanowski/mlteaching.html>].
143. Klaus, S. and H. Klaus, *kknn: Weighted k-Nearest Neighbors*, 2011.
144. *Machine Learning and Data Mining: 13 Nearest Neighbor and Bayesian*, 2007.

145. David Meyer, E.D., Kurt Hornik, Andreas Weingessel and Friedrich Leisch, *e1071: Misc Functions of the Department of Statistics (e1071), TU Wien*, 2012.
146. *Machine Learning and Data Mining: 11 Decision Trees*, 2007.
147. Terry, M.T. and R.p.b.B.R. Beth Atkinson, *rpart: Recursive Partitioning*, 2012.
148. *Chapter 6. Classification and Prediction*, 2010: Department of Computer Science University of Illinois at Urbana-Champaign.
149. *Lecture12 - SVM*, 2009.
150. Mountrakis, G., J. Im, and C. Ogole, *Support vector machines in remote sensing: A review*. ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing, 2011. **66**(3): p. 247-259.
151. Andrew, W.M., *Cross-validation for detecting and preventing overfitting*, 2009: School of Computer Science Carnegie Mellon University.
152. I. Stanimirova, M.D.i.B.W., *Metody uczenia z nadzorem – kalibracja, dyskryminacja i klasyfikacja*, in *Chemometria w analityce*. 2008, IES: Krakow.
153. Schulze, T.G., et al., *Molecular genetic overlap in bipolar disorder, schizophrenia, and major depressive disorder*. The world journal of biological psychiatry: the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry, 2012.
154. Purcell, S., et al., *PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses*. American Journal of Human Genetics, 2007. **81**(3): p. 559-75.
155. Perroud, N., et al., *Genetic predictors of increase in suicidal ideation during antidepressant treatment in the GENDEP project*. Neuropsychopharmacology, 2009. **34**(12): p. 2517-28.
156. Yatani, K. *HCStats*. 2012; Available from: <http://yatani.jp/HCStats/KruskalWallis>.
157. *Chapter13, Simple Linear Regression & Correlation Inferential Method*, 2007: Rochester Institute of Technology.
158. *Understanding Six Sigma Basics: Regression Analysis*, in *Understanding Six Sigma Basics*.
159. StatSoft, *Electronic Statistics Textbook*. 2012: StatSoft, Inc.
160. *Regression*, in *lecture2010*: University of California.
161. Wagenmakers, E.-J. and S. Farrell, *AIC model selection using Akaike weights*. Psychonomic Bulletin & Review, 2004. **11**(1): p. 192-196.
162. Revelle, W., *psych: Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research*, 2012, Northwestern University: Evanston, Illinois.
163. Jarek, T., *caTools: Tools: moving window statistics, GIF, Base64, ROC AUC, etc*, 2012.
164. Hall, W., *The mental health risks of adolescent cannabis use*. PLoS medicine, 2006. **3**(2).
165. Pawsey, B. and D. Castle, *Substance use and psychosis*. Australian family physician, 2006. **35**(3): p. 110-112.
166. Bizzarri, J.V., et al., *Substance use in severe mental illness: self-medication and vulnerability factors*. Psychiatry research, 2009. **165**(1-2): p. 88-95.
167. Maldonado, J.R., *An approach to the patient with substance use and abuse*. The Medical clinics of North America, 2010. **94**(6): p. 1169-1205, x-i.
168. Nyer, M., et al., *The relationship of marital status and clinical characteristics in middle-aged and older patients with schizophrenia and depressive symptoms*. Annals of clinical psychiatry: official journal of the American Academy of Clinical Psychiatrists, 2010. **22**(3): p. 172-179.

169. Dickerson, F.B., et al., *Predictors of occupational status six months after hospitalization in persons with a recent onset of psychosis*. *Psychiatry research*, 2008. **160**(3): p. 278-284.
170. Cuesta, M.J. and V. Peralta, *Integrating psychopathological dimensions in functional psychoses: a hierarchical approach*. *Schizophrenia research*, 2001. **52**(3): p. 215-229.
171. Cicero, D.C. and J.G. Kerns, *Multidimensional factor structure of positive schizotypy*. *Journal of personality disorders*, 2010. **24**(3): p. 327-343.
172. McGrath, J.A., et al., *Familiality of novel factorial dimensions of schizophrenia*. *Archives of general psychiatry*, 2009. **66**(6): p. 591-600.
173. Uchiyama, M., et al., [*Management of insomnia and hypersomnia associated with psychiatric disorders*]. *Seishin shinkeigaku zasshi = Psychiatria et neurologia Japonica*, 2010. **112**(9): p. 899-905.
174. Dikeos, D. and G. Georgantopoulos, *Medical comorbidity of sleep disorders*. *Current opinion in psychiatry*, 2011. **24**(4): p. 346-354.
175. Holsten, F., S. Pallesen, and B. Sivertsen, [*Sleep disturbances in patients with mental disorders*]. *Tidsskrift for den Norske lægeforening: tidsskrift for praktisk medicin, ny række*, 2011. **131**(7): p. 688-691.
176. Batterham, P.J., N. Glozier, and H. Christensen, *Sleep disturbance, personality and the onset of depression and anxiety: Prospective cohort study*. *The Australian and New Zealand journal of psychiatry*, 2012.
177. Serretti, A., et al., *Analysis of depressive symptomatology in mood disorders*. *Depression and anxiety*, 1998. **8**(2): p. 80-85.
178. Cummings, E., et al., *Clinical symptomatology and the psychosis risk gene ZNF804A*. *Schizophr Res*, 2010. **122**(1-3): p. 273-5.
179. Mitchell, P.B. and G.S. Malhi, *Bipolar depression: phenomenological overview and clinical characteristics*. *Bipolar Disord*, 2004. **6**(6): p. 530-9.
180. Salvatore, P., et al., *McLean-Harvard International First-Episode Project: two-year stability of ICD-10 diagnoses in 500 first-episode psychotic disorder patients*. *The Journal of clinical psychiatry*, 2011. **72**(2): p. 183-193.
181. Chaste, P., et al., *Genetic variations of the melatonin pathway in patients with attention-deficit and hyperactivity disorders*. *J Pineal Res*, 2011. **51**(4): p. 394-9.
182. Park, H.J., et al., *Association of polymorphism in the promoter of the melatonin receptor 1A gene with schizophrenia and with insomnia symptoms in schizophrenia patients*. *J Mol Neurosci*, 2011. **45**(2): p. 304-8.
183. Lai, I.C., et al., *Analysis of genetic variations in the human melatonin receptor (MTNR1A, MTNR1B) genes and antipsychotics-induced tardive dyskinesia in schizophrenia*. *World J Biol Psychiatry*, 2011. **12**(2): p. 143-8.
184. Trbovic, S.M., *Schizophrenia as a possible dysfunction of the suprachiasmatic nucleus*. *Med Hypotheses*, 2010. **74**(1): p. 127-31.
185. Krupman, W.A., *The uniform issue*. *J Am Health Care Assoc*, 1976. **2**(5): p. 56-63.
186. Anderson, G. and M. Maes, *Melatonin: an overlooked factor in schizophrenia and in the inhibition of anti-psychotic side effects*. *Metab Brain Dis*, 2012. **27**(2): p. 113-9.
187. Bramon, E. and P.C. Sham, *The common genetic liability between schizophrenia and bipolar disorder: a review*. *Curr Psychiatry Rep*, 2001. **3**(4): p. 332-7.
188. Laursen, T.M., E. Agerbo, and C.B. Pedersen, *Bipolar disorder, schizoaffective disorder, and schizophrenia overlap: a new comorbidity index*. *J Clin Psychiatry*, 2009. **70**(10): p. 1432-8.
189. Palaniyappan, L. and P.F. Liddle, *Diagnostic Discontinuity in Psychosis: A Combined Study of Cortical Gyrification and Functional Connectivity*. *Schizophr Bull*, 2013.

190. Whalley, H.C., et al., *Review of functional magnetic resonance imaging studies comparing bipolar disorder and schizophrenia*. *Bipolar Disord*, 2012. **14**(4): p. 411-31.
191. McDonald, C. *Handbook of Biological Statistics*. 2010; Available from: <http://udel.edu/~mcdonald/statintro.html>.