

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRDU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 20.05.2021. godine, broj 9700/14-BR, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Sudskomedicinski i klinički značaj povezanosti polimorfizama gena *FKBP5*, *NR3C1* i *SKA2* i nivoa ekspresije odgovarajućih proteina sa poremećajem hipotalamo-hipofizno-adrenalne ose u etiologiji samoubistva“

kandidata dr Bojane Radnić, zaposlene u Institutu za sudsku medicinu “Milovan Milovanović” Medicinskog fakulteta u Beogradu. Mentor je prof. dr Tatjana Atanasijević, a komentori prof. dr Nataša Petronijević i prof. dr Nađa Marić Bojović

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. dr Vesna Popović, profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
2. dr Oliver Stojković, profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
3. dr Aleksandar Jovanović, profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
4. dr Tatjana Nikolić, docent, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
5. dr Dušan Vapa, docent, Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Bojane Radnić napisana je na ukupno 89 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: Uvod, Ciljevi, Materijal i metode, Rezultati, Diskusija, Zaključci i

Literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 31 tabela, 28 grafikona, četiri sheme i tri ilustracije. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, podatke o komisiji, biografiju kandidata i pet priloga.

U **Uvodu** su definisani termini samoubistvo i suicidalnost, sa svojim brojnim faktorima rizika kao i njihov značaj u sudskoj medicini. Detaljno je opisana hipotalamo-hipofizno-adrenalna (HHA) osa i negativna povratna sprega kojom je ona regulisana. Pored glavnih anatomskih struktura koje čine ovu osu opisane su i druge strukture mozga uključene u njeno funkcionisanje – prefrontalni korteks, amigdale i hipokampus. Objašnjena je i povezanost ovih regiona i različitih neuropsihijatrijskih oboljenja. Prikazana su i psihijatrijska stanja koja su u uskoj vezi sa suicidalnošću i suicidom i to: afektivni poremećaji, anksioznost, bolesti zavisnosti i psihoze.

Posebno detaljno su obrađene molekularna i biohemijska osnova poremećaja HHA ose i njihova uloga u suicidu. Opisane su uloge glukokortikoidnog receptora (GR) i proteina SKA2 i FKBP5 koji se u literaturi najčešće dovode u vezu sa disregulacijom negativne povratne sprege HHA. Takođe, dat je uvid u polimorfizme u genima koji kodiraju za ove proteine (rs41423247 u *NR3C1*, rs1360780 u *FKBP5*, rs7205805 u *SKA2*) a koji su bili predmet različitih studija o etiologiji samoubistva.

Ciljevi rada su precizno definisani. Čine ih analiza ekspresije proteina GR, FKBP5 i SKA2 u prefrontalnom korteksu, amigdalama i hipokampusu kod žrtava suicida i osoba koje su umrle na drugi način (kontrolna grupa). Takođe, cilj je bio i analiza učestalosti varijanti polimorfizama u genima *NR3C1*, *FKBP5* i *SKA2* kod žrtava suicida i osoba koje su umrle na drugi način (kontrolna grupa), kao i analiza učestalosti varijanti polimorfizama u genima *NR3C1*, *FKBP5* i *SKA2* kod različitih načina izvršenja samoubistava. Konačno, kao cilj je postavljen predlog sudskomedicinskog modela-vodiča, protokola za ekspertizu samoubistva kroz definisanje faktora rizika za izvršenje samoubistva i odabira određenog načina samoubilačkog metoda, i njihovo povezivanje sa rezultatima dobijenim analizom učestalosti ekspresije proteina GR, FKBP5 i SKA2 i varijanti polimorfizama u odgovarajućim genima *NR3C1*, *FKBP5* i *SKA2*.

U poglavlju **Materijal i metode** je navedeno da istraživanje obuhvata studije slučajeva i kontrola kroz koje se ispituju genetička i biohemijska etiologija suicida, kao i deskriptivnu studiju kojom se analiziraju različiti sudskomedicinski značajni faktori rizika za izvršenje samoubistva. Sprovedeno je na Medicinskom fakultetu u Beogradu, tačnije na Institutu za

sudsku medicinu i na Institutu za medicinsku i kliničku biohemiju. Svi podaci za ovo istraživanje odnose se na umrle koji su obdukovani na Institutu za sudsku medicinu. Ova studija odobrena je od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Za ispitivanje ekspresije proteina GR, SKA2 i FKBP5 u tkivu mozga (prefrontalni korteks, amigdale i hipokampus) korišćena je metoda Western blot. Za studiju slučajeva i kontrola koja utvrđuje učestalost varijanti polimorfizama gena *NR3C1*, *SKA2* i *FKBP5* učinjena je genotipizacija Real Time PCR metodom sa TaqMan probama. Na ukupnom uzorku od oko 1800 slučajeva definisani su sudskomedicinski značajni faktori rizika za izvršenje samoubistva. Načini izvršenja samoubistva kategorisani su kao visokoletalni (engl. high lethality method, HLM) i niskoletalni (engl. low lethality method, LLM).

U poglavlju **Rezultati** detaljno su opisani i jasno tekstualno i grafički predstavljani svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Izvedeno je sedam **zaključaka** koji sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 159 referenci koje su navedene po vankuerskim pravilima za navođenje.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Na osnovu člana 9. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza u izveštaju iz programa iThenticate kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije „Sudskomedicinski i klinički značaj povezanosti polimorfizama gena FKBP5, NR3C1 i SKA2 i nivoa ekspresije odgovarajućih proteina sa poremećajem hipotalamo-hipofizno-adrenalne ose u etiologiji samoubistva”, autora Bojane Radnić, utvrđeno je da vrednost Similarity indeksa, odnosno podudaranje teksta, iznosi 8%. Ovaj stepen podudarnosti posledica je citata, bibliografskih podataka o korišćenoj literaturi i tzv. opštih mesta i podataka, što je u skladu sa gore pomenutim Pravilnikom.

C) Kratak opis postignutih rezultata

Ova studija je pokazala da u osoba koje su izvršile samoubistvo postoji statistički značajno niža ekspresija GR u amigdalama, a što nije slučaj sa ostalim ispitivanim strukturama mozga, kao ni sa proteinima SKA2 i FKBP5. Kada su upoređivane ekspresije proteina između različitih kategorija identifikovanih psihijatrijskih oboljenja uočeno je da je u osoba sa depresivno-anksioznim stanjima snižena ekspresija GR u prefrontalnom korteksu u odnosu na one bez psihijatrijskog oboljenja.

Testiranjem uticaja proksimalnih i distalnih stresnih životnih događaja na izvršenje suicida, statistički značajne razlike uočene su u oba ova intervala, kao i u odnosu na ukupan broj životnih događaja, u smislu da je njihov broj bio veći u grupi samoubistava. Međutim, ispitivanjem udela skorašnjih stresnih događaja u ukupnim životnim događajima u ispitivanim grupama, nije uočena statistički značajna razlika između osoba koje su izvršile suicid i onih koje su umrle na drugi način.

Jedan od najznačajnijih rezultata ovog istraživanja je podatak da prisustvo C alela u rs41423247 u genu *NR3C1* (koji kodira za GR) povećava rizik za suicid 3,48 puta. Za druga dva ispitivana polimorfizma u genima *SKA2* i *FKBP5* nije utvrđena povezanost sa poreklom smrti. Takođe, ustanovljena je povezanost ekspresije proteina FKBP5 u prefrontalnom korteksu sa rizičnim genotipom (CT+TT) nezavisno od ispitivanog porekla smrti.

U ukupnom uzorku koji se sastojao od 1809 slučajeva samoubistava, 76,5% žrtava činili su muškarci. Najčešći način izvršenja bilo je vešanje (76,1%). Ključne razlike među polovima u izboru načina uočene su po vatrenom oružju u korist muškaraca, a po trovanju, skoku sa visine i utopljenju u korist žena. Visokoletalni načini samoubistva su svakako bili češći, ali su ih i učestalije birali muškarci. Primećeno je da su osobe sa psihijatrijskim oboljenjem češće birale niskoletalne načine suicida. Kao zanimljiv rezultat prikazana je i činjenica da su osobe koje su samoubistvo pokušavale ranije tokom života učestalije birale niskoletalne načine samoubistva. Na kraju, na ovako velikom uzorku, utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika po učestalosti kategorija alkoholemije u odnosu na nivo letalnosti načina suicida. Naime, alkoholemija u rasponu od 1,5 do 2,99 mg/mL predstavlja faktor rizika za izvršenje samoubistva visokoletalnim načinom. Vrednosti alkoholemije preko 3 mg/mL značajno obaraju mogućnost visokoletalnog metoda.

D) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Ova studija pokazala je značajno veću učestalost rizičnog alela C u rs41423247 u genu NR3C1 u grupi samoubistava u odnosu na kontrole. Učestalost alela C u kontrolnoj grupi odgovara uočenim učestalostima ovog alela u brojnim bazama podataka (na internet stranici <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs41423247>). Ovako visoka učestalost rizičnog alela povećala je rizik za suicid za nosioce C alela (sa genotipovima GC i CC) 3,48 puta u odnosu na osobe koje su homozigoti za alel G. U tom smislu, rezultati su konzistentni sa onima u literaturi (Park i sar., 2016). Takođe, brojni autori došli su do sličnog zaključka kada je u pitanju depresija (Peng i sar., 2018. Krishnamurthy i sar., 2008), te postoji mogućnost da je povezanost ovog polimorfizma sa suicidom posredovana psihijatrijskim oboljenjem. Niža ekspresija GR u amigdalama u grupi osoba koje su izvršile samoubistvo opisana je i u literaturi, s tim što je opisana i u prefrontalnom korteksu (Perez-Ortiz i sar., 2013, Pandey i sar., 2013). Takođe, ovim literaturnim podacima odgovara i uočeni izostanak razlike u ekspresiji GR između ispitivanih grupa u tkivu hipokampusa.

Izostanak razlike u ekspresiji proteina FKBP5 u ispitivanim strukturama mozga između grupa, kao i razlike u učestalosti rizičnog alela u rs1360780 u genu *FKBP5* nisu u saglasnosti sa dostupnom literaturom (Hernandez-Diaz i sar., 2021, Leszczynska-Rodziewicz i sar., 2013. Perez-Ortiz i sar., 2013). Uzroci ovakvih odstupanja detaljno su obrađeni u odeljku Diskusija.

Takođe, razlika u ekspresiji proteina SKA2 u uzorcima moždanog tkiva nije uočena, kao ni razlika u učestalosti rizičnog alela u rs7208505 u genu *SKA2* što predstavlja odstupanje od rezultata različitih publikovanih radova koji su ovaj gen nazivali biomarkerom suicida (Kaminsky i sar., 2015, Pandey i sar., 2016.). I za ove diskrepance data su brojna moguća objašnjenja.

Vešanje, kao najčešći način suicida, kao i učestalost ostalih načina koji se koriste i njihova razlika među polovima najvećim delom se poklapa sa podacima iz literature za našu populaciju (Ilić, Ilić, 2016), ali sa razlikom u stopi suicida između polova u odnosu na podatke Svetske zdravstvene organizacije za 2019. godinu. Takođe, već je opisana ustanovljena činjenica da muškarci daleko češće biraju visokoletalne načine samoubistva (Rutz, Rihmer, 2009) što može biti posledica i dostupnosti sredstava za izvršenje (vatreno oružje). Zaključak o češćem odabiru niskoletalnih načina suicida od strane osoba sa psihijatrijskim oboljenjem nalazi se i u Korejskoj nacionalnoj studiji (Yeum i sar., 2018).

Takođe, u ovom istraživanju osobe koje su prethodno birale niskoletalne načine samoubistva nisu menjale svoj izbor. O uticaju prethodnog pokušaja na poslednji postoje brojni radovi. Rezultat Goñi-Sarriés i saradnika iz 2018. u skladu je sa rezultatom ove disertacije. Ipak, postoje i oni koji tvrde da su osobe koje su već pokušavale suicid kasnije birale visokoletalne načine (Soukas i sar., 2001). Rezultat koji su Park i saradnici na višestruko manjem uzorku objavili 2017. godine, a prema kojem je alkoholemija u intervalu 1,5 do 1,99 promila značajan faktor rizika za visokoletalni način samoubistva, delimično je potvrđen u ovoj tezi gde se taj opseg proširuje na 1,5 do 2,99 mg/mL. Objašnjenja za ovakve rezultate detaljno su navedena u studiji i dobro potkrepljena literaturnim podacima (McCarthy i sar., 2012, Kaplan i sar., 2013, Baca-Garcia i sar., 2001, Spokas i sar., 2012).

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Radnic B, Bogdanovic M, Durmic T, Popovic V, Mihailovic Z, Soldatovic I, Atanasijevic T. Can blood alcohol concentration have a role in choosing high lethality method of suicide? Aust J Forensic Sci. 2020 May 5. doi: 10.1080/00450618.2020.1757759. [Epub ahead of print]

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Sudskomedicinski i klinički značaj povezanosti polimorfizama gena *FKBP5*, *NR3C1* i *SKA2* i nivoa ekspresije odgovarajućih proteina sa poremećajem hipotalamo-hipofizno-adrenalne ose u etiologiji samoubistva“ dr Bojane Radnić, kao prvi ovakav rad u našoj populaciji, predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju etiologije samoubistva. Ovaj rad je obradio sudskomedicinski značajne faktore rizika za izvršenje suicida, kao i za određene načine izvođenja, i analizirao ih u svetlu njegove molekularne i biohemijske osnove. Dobijen je i konačan predlog sudskomedicinskog modela-vodiča, protokola za ekspertizu samoubistva koji obuhvata multidisciplinarnan pristup. Naime, uzimanje uzoraka krvi za genetičko testiranje na polimorfizam rs41423247 u *NR3C1* genu, kao i uzoraka tkiva mozga u cilju ispitivanja ekspresije proteina $GR\alpha$, a uz kombinovani sudskomedicinski i psihijatrijski intervju trebalo bi da doprinesu sveobuhvatnom sagledavanju multidimezionalnog fenomena samoubistva.

Ova doktorska disertacija je napisana prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su jasno definisani, naučni pristup je originalan, a metodologija rada savremena.

Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, te iz njih nedvosmisleno proizilaze odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, a imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Bojane Radnić i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 10.06.2021.

Članovi Komisije:

Prof. dr Vesna Popović

Prof. dr Oliver Stojković

Prof. dr Aleksandar Jovanović

Doc. dr Tatjana Nikolić

Doc. dr Dušan Vapa

Mentor:

prof. dr Tatjana Atanasijević

Komentori:

prof. dr Nataša Petronijević

prof. Nađa Marić Bojović
