

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Bojana T. Radnić

**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**

Doktorska disertacija

Beograd, 2021

UNIVERSITY OF BELGRADE

MEDICAL FACULTY

Bojana T. Radnić

**Medicolegal and clinical significance of the
association of *FKBP5*, *NR3C1* and *SKA2* gene
polymorphisms and corresponding protein
expression with hypothalamo-pituitary-adrenal axis
disregulation in suicide etiology**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2021

Mentor: dr Tatjana Atanasijević, profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Komentori: dr Nataša Petronijević, profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Nađa Marić Bojović, vanredni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Članovi komisije:

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

Datum odbrane: _____

Veliku zahvalnost dugujem svojoj mentorki prof. Tatjani Atanasijević koja me je bezrezervno podržavala i to ne samo tokom izrade ove teze, već tokom cele moje sudskomedicinske priče. Važnije od toga, postavila se kao prijatelj i bila uz mene u svim lepim i manje lepim trenucima.

Takođe, zahvaljujem se svojim komentorkama prof. Nataši Petronijević i prof. Nađi Marić Bojović što su me pustile da zavirim u njihove stručne oblasti i počnem da spoznajem značaj i ulogu biohemije i psihijatrije koje se na tako mnogo nivoa ukrštaju sa sudskom medicinom.

Posebnu zahvalnost dugujem svom komentoru „iz senke“, prof. Oliveru Stojkoviću, koji je nesebično pomagao svojim znanjem, strpljenjem i razumevanjem za sve što sam tek otkrivala u humanoj genetici.

Dr Tihomiru Stojkoviću upućujem veliko hvala za dragoceno vreme koje je utrošio na ovaj projekat. Uvek je bio spreman da preuzme uzorke, provodio je sate u laboratoriji i bio tu da odgovori na moja pitanja.

Dr Sanji Andrić, mojoj pre svega drugarici, a zatim i saradnici pripisujem zaslugu za seme ideje ovog rada. Takođe, bez njenog učešća u prikupljanju podataka i nesebične pomoći ova disertacija ne bi imala ovakvu širinu. Hvala ti.

Neizmernu zahvalnost dugujem svojim roditeljima, Oliveri i Tomislavu, koji su dali sve od sebe da pomognu, budu podrška i oslonac tokom mog rada na ovoj tezi i tokom čitavog mog života.

Na kraju, sve ovo ne bi bilo moguće bez mog supruga, mog Peđe, koji je razumeo značaj svega što radim i davao mi preko potrebnu ljubav i sigurnost.

Ovu doktorsku disertaciju posvećujem svojim ćerkama, Katarini i Veri.

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

SAŽETAK

Uvod. Značajan biološki faktor rizika za samoubistvo je poremećaj hipotalamo-hipofizno-adrenalne (HHA) ose. Proteini i odgovarajući geni koji se najčešće dovode u vezu sa disregulacijom negativne povratne sprege HHA ose su glukokortikoidni receptor (GR), FKBP5 i SKA2.

Ciljevi. Analiza ekspresije navedenih proteina u prefrontalnom korteksu, amigdalama i hipokampusu i analiza učestalosti varijanti polimorfizama u genima *NR3C1*(rs41423247), *FKBP5*(rs1360780) i *SKA2*(rs7208505) kod žrtava suicida i osoba umrlih na drugi način. Predlog sudskomedicinskog vodiča za ekspertizu suicida kroz definisanje različitih, pa i bioloških, faktora rizika.

Materijal i metode. Studije slučajeva i kontrola kroz koje se ispituju genetička i biohemijska etiologija suicida i deskriptivna studija koja analizira sudskomedicinski značajne rizikofaktore za izvršenje samoubistva. Podaci se odnose na umrle obdukovane na Institutu za sudsku medicinu. Posmatranu grupu čine slučajevi suicida, a kontrolnu osobe koje su umrle na drugi način. Ekspresija proteina u gorenavedenim delovima mozga analizirana je tehnikom *Western blot*. Odabrane varijacije genotipizovane su Real Time PCR metodom. Sociodemografski i psihijatrijski podaci o ispitanicima dobijeni su heteroanamnestičkim intervjuom.

Rezultati. Visokoletalni načini suicida češći su sa alkoholemijom 1,5-3mg/mL i udruženi sa nižom ekspresijom FKBP5 proteina u hipokampusu. Prisustvo C alela u rs41423247 povećava rizik za suicid 3,48 puta. Ekspresija GR u amigdalama je niža u grupi suicida ($p=0,016$).

Zaključci. U sagledavanju fenomena samoubistva, pored obdukcije, potrebni su: složen heteroanamnestički intervju, uzimanje uzoraka krvi za genetičko testiranje i uzoraka mozga za ispitivanje ekspresije proteina GR i FKBP5 i detaljna hemijsko-toksikološka analiza.

Ključne reči: samoubistvo, hipotalamo-hipofizno-adrenalna osa, FKBP5, GR, NR3C1, SKA2, depresivno-anksiozna stanja, bolesti zavisnosti, alkoholemija, letalnost načina suicida

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Molekularna medicina

UDK broj _____

Medicolegal and clinical significance of the association of *FKBP5*, *NR3C1* and *SKA2* gene polymorphisms and corresponding protein expression with hypothalamo-pituitary-adrenal axis dysregulation in suicide etiology

SUMMARY

Introduction. An important biological risk factor for suicide is the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis dysregulation. Proteins and corresponding genes that are most commonly associated with the HPA dysregulation are the glucocorticoid receptor (GR), FKBP5 i SKA2.

Aims. The analysis of the abovementioned protein expression in the prefrontal cortex, amygdala and hippocampus and the analysis of the allele frequency in the following genes: *NR3C1*(rs41423247), *FKBP5*(rs1360780) i *SKA2*(rs7208505) in suicide victims and persons who died in a different manner. Proposition of a forensic guide for suicide expertise through defining different, including biological, risk factors.

Material and methods. Case control studies investigating genetic and biochemical suicide etiology and a descriptive study analyzing forensic risk factors for suicide. All data refers to the autopsy cases from the Institute of Forensic Medicine. The cases consisted of completed suicides, while the control group was made of cases with a different manner of death. Protein expression was analyzed by *Western blot* technique. The chosen polymorphisms were genotyped by Real Time PCR method. Sociodemographic and psychiatric data was gained through a heteroanamnestic interview.

Results. High lethality suicide methods are associated with blood alcohol levels 1,5-3mg/mL at the time of death as well as lower expression of FKBP5 in the hippocampus. The presence of C allele in rs41423247 represents a 3,48 times greater risk for suicide. The GR expression in the amygdala is lower in suicides ($p=0,016$).

Conclusions. For a complete suicide perception, besides an autopsy, a complex heteroanamnestic interview, blood samples for genetic testing, brain samples for GR and FKBP5 protein expression investigation and a detailed toxicological analysis are needed.

Key words: suicide, hypothalamo-pituitary-adrenal axis, FKBP5, GR, NR3C1, SKA2, depression, substance abuse, blood alcohol levels, suicide lethality method

Academic Expertise: Medicine

Field of Academic Expertise: Molecular Medicine

UDK number _____

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Hipotalamo-hipofizno-adrenalna (HHA) osa	2
1.2. Regioni mozga uključeni u funkcionisanje HHA ose.....	3
1.3. Psihijatrijska stanja povezana sa samoubistvom	6
1.4. Molekularna i biohemijska osnova poremećaja HHA ose i suicida.....	7
2. CILJEVI	11
3. MATERIJAL I METODE	12
3.1. Studija slučajeva i kontrola - ispitivanje ekspresije proteina GR, SKA2 i FKBP5.....	12
3.1.1. Uzimanje uzoraka.....	13
3.1.2. Određivanje pH tkiva mozga	13
3.1.3. Protokol <i>Western blot</i> metode.....	13
3.2. Studija slučajeva i kontrola - ispitivanje prisustva varijanti polimorfizama gena <i>NR3C1</i> , <i>SKA2</i> i <i>FKBP5</i>	15
3.2.1. Biološki uzorci i izolacija molekula DNK	15
3.2.2. Genotipizacija Real Time PCR metodom sa TaqMan probama.....	16
3.3. Definisanje sudskomedicinski značajnih faktora rizika u ukupnom uzorku	18
3.4. Statistička obrada podataka	18
4. REZULTATI	20
4.1. Rezultati studije slučajeva i kontrola za ispitivanje ekspresije proteina GR, SKA2 i FKBP5...	20
4.2. Rezultati studije slučajeva i kontrola za ispitivanje prisustva varijanti polimorfizama gena <i>NR3C1</i> , <i>FKBP5</i> i <i>SKA2</i>	43
4.3. Rezultati studije za definisanje sudskomedicinski značajnih faktora rizika u ukupnom uzorku	50
5. DISKUSIJA	59
6. ZAKLJUČCI	76
7. LITERATURA	78

1. UVOD

Samoubistvo, odnosno svesno i namerno uništenje sopstvenog života [1], predstavlja globalni fenomen i dešava se u svim životnim razdobljima. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije približno 800 000 ljudi izvrši samoubistvo svake godine, što je približno jedna osoba na svakih 40 sekundi. Takođe, postoje procene da na svaku odraslu osobu koja je počinila samoubistvo postoji još 20 koje su pokušale da ga izvrše [2]. U Srbiji je 2019. godine stopa samoubistava na 100 000 stanovnika bila 11,4 (evropski prosek 12,8) što nas stavlja ispod proseka među pedeset evropskih zemalja [3].

Suicidalnost je multidimenzionalni fenomen koji se može gradirati u četiri stepena – 1) suicidalna ideja, koja podrazumeva misli o bezvrednosti života, 2) suicidalna želja, odnosno razmišljanje o okončanju sopstvenog života kao načinu prekida patnji, 3) suicidalna namera, gde postoji odluka o samoubistvu i pravi se plan izvršenja, i 4) pokušaj (lat. *tentamen suicidii*), izvršen, neuspeli pokušaj samoubistva. [4] Smatra se da ključnu ulogu u genezi suicidalnosti ima interakcija bioloških, psiholoških i socijalnih faktora. Za ostvarenje je neophodno istovremeno delovanje suicidogene dispozicije i suicidogenih motiva. Suicidogena dispozicija je manjak nagona samoodržanja, koji može biti urođeni ili stečeni, dok je suicidogeni motiv subjektivna kategorija koju samoubica doživljava kao razlog za uništenje sopstvenog života [5]. Brojni faktori rizika u literaturi se povezuju sa suicidalnošću. Pored bioloških, odnosno genetičkih karakteristika, po značaju se izdvajaju i određene socio-demografske karakteristike (pol, uzrast), postojanje psihopatologije (naročito depresivnog poremećaja i bolesti zavisnosti) i psihosocijalni faktori poput traumatizacije u ranom životnom dobu, stresnih životnih događaja i neadekvatne socijalne podrške [6,7].

Jedna od mogućih podela načina suicida je i ona koja ih deli na visokoletalne i niskoletalne. Izbor načina samoubistva verovatno zavisi od dostupnosti i prihvatljivosti sredstava za izvršenje. Međutim, na izvršenje samoubistva, pa i izbor samog načina njegovog izvođenja mogu uticati akutna stanja kao što su akutno napito stanje ili trenutno dejstvo psihoaktivnih supstanci, bilo droga ili lekova [8,9].

Problematika samoubistva čini veliki deo sudske medicine kao discipline. Neretko je poseban izazov opredeliti poreklo nasilne smrti, odnosno da li se radi o samoubistvu, ubistvu ili zadesu. Saznanje o različitim faktorima rizika u svakom pojedinačnom slučaju mogu značajno uticati na konačan zaključak o uzroku i poreklu smrti. Mali je broj istraživanja koja su se bavila sveobuhvatnom analizom samoubistva uključujući forenzičke, biohemijske, genetičke i psihijatrijske aspekte na istom uzorku. Prema našem najboljem saznanju, do sada nije bilo istraživanja koja su se bavila ovakvom problematikom u našoj zemlji.

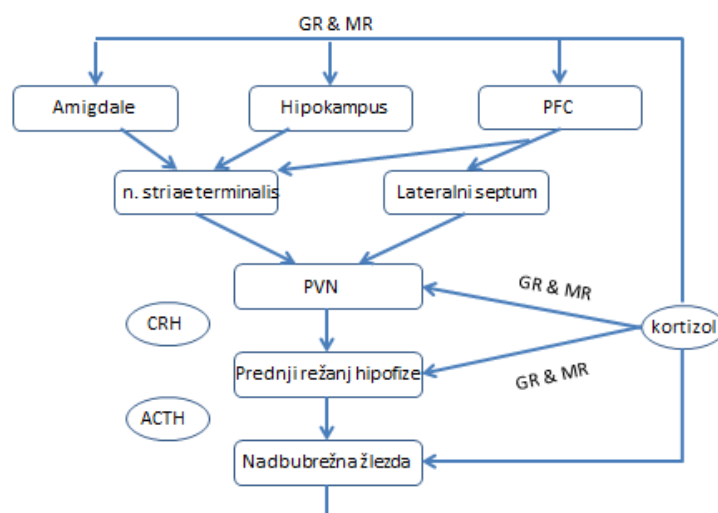
1.1. Hipotalamo-hipofizno-adrenalna (HHA) osa

Savremene molekularnobiološke studije ukazuju na postojanje biološke osnove suicidalnosti. Pokazano je da poremećaji neurobiologije, zajedno sa genetičkim faktorima i faktorima sredine, mogu da igraju ključnu ulogu u razvoju suicidalnosti, a da je stres značajan okidač suicidalnog ponašanja i suicida [10,11].

Dobra regulacija nivoa kortizola je neophodna za preživljavanje, te preniski ili previsoki nivoi ovog steroidnog hormona mogu naneti ozbiljnu štetu organizmu. Iz tog razloga i bazalni i stresom izazvani nivoi kortizola su precizno regulisani. Zdrav odgovor na stres se karakteriše brzim porastom nivoa kortizola, koji je praćen brzim padom sa završetkom delovanja stresora. Ipak, kada je organizam izložen kumulativnom dejstvu stresa, opterećenje kortizolom raste. Ovo rezultira "trošenjem" organskih sistema izlaganjem kataboličkim efektima glukokortikoida, stres peptidima i proinflamatornim citokinima. Krajnji ishod mogu biti neuropsihijatrijski [12] i metabolički poremećaji [13]. Zato je neophodno razumevanje sistema koji regulišu proizvodnju kortizola.

Anatomske strukture koje posreduju u odgovoru na stres se nalaze kako u centralnom nervnom sistemu, tako i u perifernim tkivima. Glavni efektori odgovora na stres se nalaze u paraventricularnom jedru (engl. *paraventricular nucleus*, PVN) hipotalamusa, prednjem režnju hipofize i nadbubrežnoj žlezdi. Skup ovih struktura se naziva hipotalamo-

hipofizno-adrenalna (HHA) osa. U PVN se sintetiše kortikotropin oslobađajući faktor (engl. *corticotropin-releasing hormone*, CRF) koji je glavi regulator HHA ose. Kao odgovor na stres, CRF se oslobađa u hipofizne portne krvne sudove i tako dolazi do hipofize, gde se vezuje za kortikotropne receptore, što dovodi do lučenja adrenokortikotropnog hormona (engl. *adrenocorticotrophic hormone*, ACTH) u sistemsku cirkulaciju. Ciljno tkivo za ovaj hormon je kora nadbubrežne žlezde, gde će stimulisati sintezu glukokortikoidnih hormona i sekreciju iz zone fascikulate. Glikokortikoidi su nishodni efektori HHA ose i regulišu fiziološki odgovor u različitim tkivima organizma. Fiziološki efekti su uglavnom adaptivni, ali prekomerna aktivacija HHA ose može dovesti do razvoja brojnih patoloških stanja [14]. Takođe, u funkcionisanje HHA ose i odgovor na stres uključeni su i brojni drugi delovi mozga. Značajan uticaj na oslobađanje glukokortikoida i bihevioralni odgovor na stres imaju grupe neurona u prefrontalnom korteksu (engl. *prefrontal cortex*,



Shema HHA ose sa uključenim drugim, za njeno funkcionisanje značajnim delovima mozga. GR - glikokortikoidni receptor; MR - mineralokortikoidni receptor, PFC - prefrontalni korteks, PVN - paraventricularno jedro, CRH - kortikotropin-oslobađajući hormon, ACTH - adrenokortikotropni hormon

PFC), amigdalama i hipokampusu. Ovo su anatomske strukture odgovorne za formiranje memorije i emotivni odgovor, i predstavljaju vezu između sistema odgovora na stres i neuropsihijatrijskih bolesti [14–16].

HHA osa je regulisana negativnom povratnom spregom koju pokreću cirkulišući glukokortikoidi. Glavni deo sistema inhibicije odvija se kroz odloženi sistem povratne sprege koji reaguje na nivo glukokortikoida, odnosno kroz promene u transkripciji koje su regulisane glukokortikoidnim receptorima (engl. *Glucocorticoid Receptor*, GR) lokalizovanim u brojnim regionima mozga koji odgovaraju na stres [17].

Odgovor organizma na stres kroz HHA osu uslovljen je genetičkim faktorima i faktorima sredine u ranom životnom dobu i trenutnom izloženosti stresoru. Različiti načini dejstva genetičke varijabilnosti opisani su u odeljku 1.4.

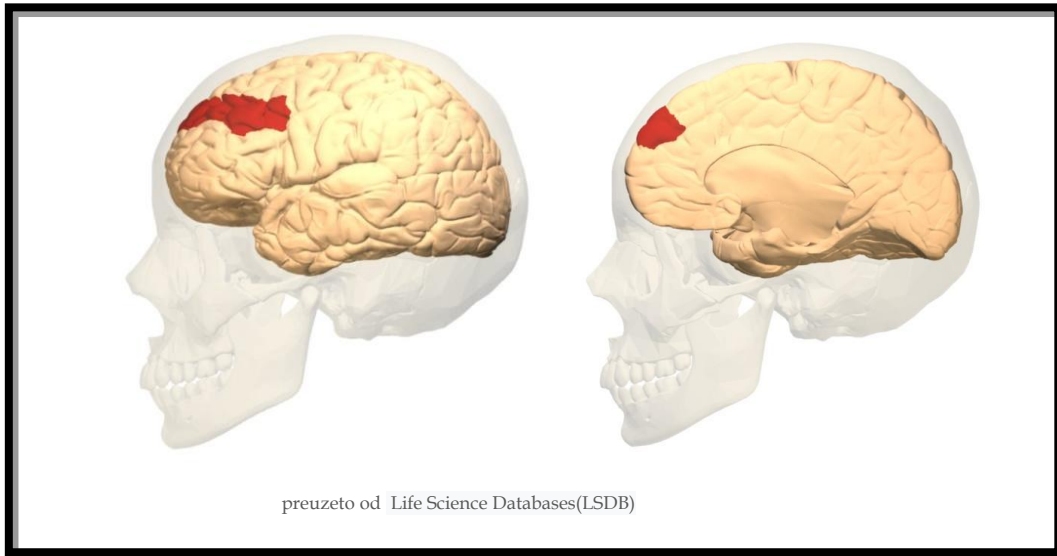
Stresore koji na jedinku deluju tokom života možemo podeliti na: prenatalne stresore, rane razvojne stresore (psihološke trauma u detinjstvu i mladosti) i stresore u kasnijim fazama životnog ciklusa. Prenatalni događaji, kao što su izloženost majke uticaju alkohola [18] i visoki nivoi stresa tokom trudnoće [19] utiču na reaktivnost HHA ose ploda tokom kasnijeg života, te na taj način i na razvoj bolesti zavisnosti, depresije, anksioznosti, pa i suicidalnosti. Slično je dokazano i za traume u detinjstvu kao što su seksualno i fizičko zlostavljanje [20]. Nezavisno od prenatalnih stresora i onih u ranim fazama životnog ciklusa, periodi jakog, hroničnog stresa u odraslom dobu (stresori kao što su porodični i finansijski problemi, učešće u ratnim dejstvima, hronične bolesti) menjaju funkcionisanje HHA ose i povećavaju opterećenje kortizolom. Hronični stres dovodi do promene i u normalnom cirkadijalnom ritmu kortizola, kao i u oslobađanju kortizola indukovanim stresom. U tom slučaju bazalni nivoi kortizola su povišeni, odgovor organizma na akutni stres je oslabljen, i potrebno je više vremena da se stresom indukovani nivoi kortizola spuste na normalni nivo [21]. Ovakva alostatska promena čini HHA osu osetljivijom, što rezultira povišenim nivoima kortizola i sledstvenim većim opterećenjem organizma sa svakom sledećom stresnom epizodom [22].

Dakle, može se zaključiti da stres, akutni ili hronični, dovodi do poremećaja hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine. Zato je poremećaj HHA ose čest nalaz u depresiji i samoubilačkom ponašanju [11]. Podaci iz literature pokazuju da su veliki depresivni poremećaj (engl. *major depressive disorder*, MDD) [23–25] i suicidalno ponašanje [26] povezani sa disregulacijom HHA osovine, odnosno poremećajem negativne povratne sprege i odgovora kortizola na stres.

1.2. Regioni mozga uključeni u funkcionisanje HHA ose

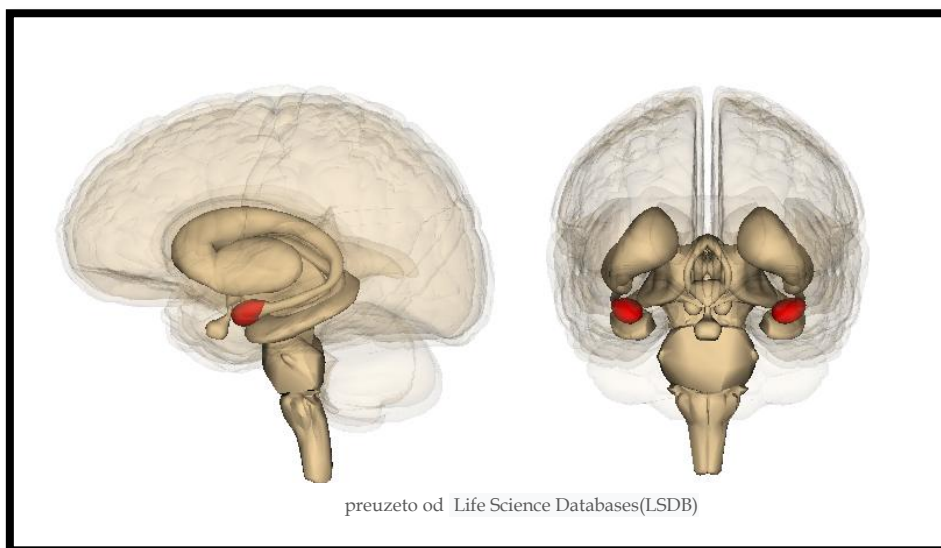
Prefrontalni korteks je evolutivno dostigao svoj maksimum u ljudskom mozgu, gde čini 30% čitavog korteksa. Iako je vrlo stara (1948. god.), i dalje je važeća definicija da PFC predstavlja deo kore mozga u koji se projektuje mediodorzalno jedro talamusa. Dalja podela ove regije je najčešće ona po Brodmanovoj kortikalnoj shemi i citoarhitektonskoj

numeraciji, odnosno podela na Brodmanova polja (engl. *Brodmann area*, BA). Kod ljudi to su Brodmanova polja od 8 do 14 i od 44 do 47. Međutim, najzastupljenija funkcionalna podela je ona koja ga deli na dorzolateralni, dorzomedijalni, ventromedijalni i orbitalni deo. Od ovih, za mentalne procese, najznačajniji je dorzolateralni deo koji čine BA9 i BA46. Prefrontalni korteks mozga je odgovoran za emocionalne, socijalne, motivacione i druge procese. Pažnja, radna memorija i donošenje odluka su kognitivne funkcije koje mu se uobičajeno pripisuju [27]. Kao jedna od posledica poremećene funkcije ili povreda ovog dela mozga, između ostalih, nalazi se i teški depresivni poremećaj [28].



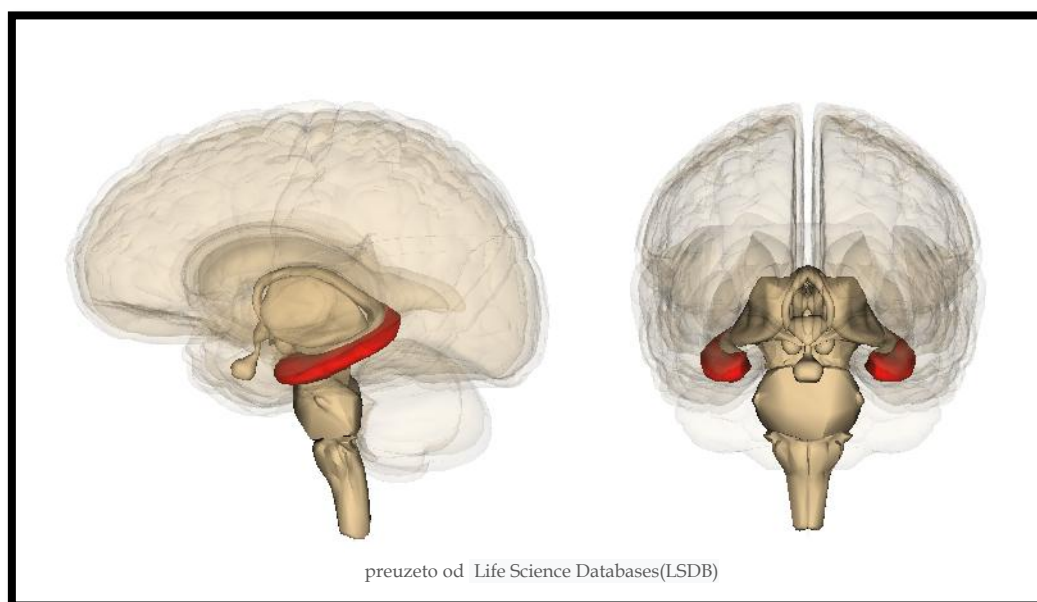
Brodmanova regija 9 (BA9)

Amigdale su deo limbičkog sistema i predstavljaju kompleksnu strukturu koja je uključena u širok spektar funkcija normalnog ponašanja i psihijatrijskih stanja. Prvi put su izdvojene kao region mozga u ranom 19. veku, a njihovo ime potiče iz grčkog jezika i označava strukturu oblika badema u medijalnom delu slepoočnog režnja. Međutim, amigdale nisu jedinstvena struktura, već se sastoje od različitih jedara. Široko prihvaćena podela je ona na kortikomedijalni region i bazolateralni, koji je evolutivno mlađi [29]. Amigdale procesuiraju informacije između prefrontalnog korteksa i hipotalamusa. Takođe, imaju ulogu u regulaciji anksioznosti, agresije, straha, emocionalne memorije i socijalne kognicije i regulišu bihevioralni i fiziološki odgovor na stres [30,31]. Brojne, uglavnom neuropsihijatrijske bolesti su povezane sa ovim delom mozga, među kojima su i depresija i posttraumatski stresni poremećaj [28,32].



Amigdale

Hipokampus je struktura slepoočnog režnja mozga koja čini deo limbičkog sistema. Grade ga dve lamine: zupčasta vijuga (lat. *girus dentatus*) i Amonov rog (lat. *Cornu Ammonis*) i to tako što je jedna uvijena u drugu, formirajući ispupčenje u slepoočnom rogu bočne moždane komore. Sastoji se iz tri anatomski dela: glave, tela i repa. Ključne uloge hipokampusa su u obradi memorije (engl. *memory processing*), učenju, regulisanju raspoloženja i emocijama [33,34]. Poremećaji u normalnom funkcionisanju hipokampusa, tačnije neurogenezi u odraslom dobu, povezuju se sa depresivno-anksioznim poremećajima, posttraumatskim stresnim poremećajem, psihozama i bolestima zavisnosti [35–37].



Hipokampus

1.3. Psihijatrijska stanja povezana sa samoubistvom

Kao što je već pomenuto, pokušaj i izvršenje samoubistva su veoma usko povezani sa različitim stanjima u psihijatriji, a među njima najčešće sa bolestima zavisnosti, afektivnim poremećajima, različitim psihozama, te i poremećajima ličnosti.

Afektivni poremećaji. Psihijatrijski poremećaji su prisutni u oko 90% osoba koje su izvršile samoubistvo i afektivni poremećaji su među najčešćim: više od polovine svih ljudi koji su izvršili suicid su ispunjavali kriterijume za aktuelni depresivni poremećaj [38,39]. Takođe, podaci pokazuju da 4% osoba sa MDD izvrši samoubistvo [40]. Posebno treba naglasiti da visok rizik od izvršenja samoubistva nose depresivne epizode u bipolarnom poremećaju, te čak 4-8% osoba sa ovakvim poremećajem izvrši suicid [41]. Dakle, veza između depresije/poremećaja raspoloženja i samoubistva je dobro poznata, te su suicidalne ideje i ponašanje često prisutni tokom depresivnih epizoda. Endokrinološka veza između samoubistva i depresije je prepoznata već pre oko 45 godina [42]. Decenijama kasnije potvrđeno je da je disfunkcija HHA ose prediktor samoubistva kod pacijenata sa depresijom [43]. U literaturi podaci nisu u potpunosti konzistentni. Postoje rezultati gde je u suicidalnih pacijenata konstatovana pojačana aktivnost HHA ose vidljiva kroz povišene nivoe 24-časovnog kortizola u urinu, izostanak supresije lučenja kortizola u deksametazonskom supresorskom testu (DST), povećane koncentracije CRH u hipotalamusu [44]. Međutim, postoje i potpuno suprotni zaključci, gde je hipokortizolemija definisana kao faktor rizika za suicid [25]. U svakom slučaju, hronični poremećaj sistema odgovora na stres u organizmu može dovesti do poremećaja aktivnosti regiona mozga odgovornih za memoriju i donošenje odluka, poremećaja koji se u literaturi povezuju sa samoubistvom u depresivnih pacijenata [45].

Anksioznost. O ulozi anksioznih poremećaja u riziku od samoubistva se i dalje raspravlja, međutim, uočeno je da je veza između depresije i anksioznih poremećaja sinergistička u smislu povećanja ovog rizika [46]. Mogući patofiziološki faktori koji depresiju i anksioznost povezuju sa suicidalnim rizikom nisu potpuno jasni, ali se pretpostavlja da ulogu, između ostalih, imaju genetika i HHA osa [47].

Bolesti zavisnosti. Ove bolesti su dugo priznate kao važan faktor rizika za samoubistvo [48]. Čak i kod osoba koje nemaju ustanovljenu dijagnozu bolesti zavisnosti, akutna intoksikacija nekom supstancom može biti povezana sa impulsivnošću i poremećajem u rasuđivanju, što olakšava suicidalno ponašanje i izvršenje samoubistva kod osoba sa rizikom [49,50]. Nacionalna studija u Sjedinjenim Američkim Državama pokazala je da kod odraslih sa bolestima zavisnosti postoji četiri puta veća šansa za suicidalne misli i pokušaj izvršenja suicida nego kod onih bez zavisnosti [51,52]. Takođe, osobe zavisne od alkohola ili droga su u većem riziku da imaju i afektivni poremećaj u odnosu na opštu populaciju [53]. Međutim, zavisnost od alkohola je sama po sebi, nezavisno od drugih psihijatrijskih oboljenja, faktor rizika za izvršenje suicida. [54] Uopšte gledano, postoji snažna veza između akutne i hronične zloupotrebe supstanci i suicidalnog ponašanja.

Psihoze. Rizik za izvršenje samoubistva tokom života kod osoba sa shizofrenijom i povezanim psihozama je procenjen na 5-7%, iako postoje procene koje su bliže 10%. Međutim, vrednost koja se najčešće pominje i uzima kao konsenzus je približno 5% [55,56]. Najjači faktori rizika za suicid, a u vezi sa shizofrenijom su broj prethodnih pokušaja, prisustvo depresivnih simptoma, zloupotreba supstanci, kao i određene vrste halucinacija [57]. Oko polovine pacijenata sa shizofrenijom tokom svoje bolesti iskusi bar jednu epizodu teške depresije, te je rizik za izvršenje suicida tokom ovih epizoda povećan [58].

1.4. Molekularna i biohemijska osnova poremećaja HHA ose i suicida

Genetički uticaj na varijabilnost u reaktivnosti HHA ose je delom posledica varijacija (polimorfizama) u genima koji kodiraju elemente uključene u regulaciju ose. Procenjeno je da je ukupni nasledni uticaj na raznolikost u nivou bazalnih nivoa glukokortikoida oko 62% [59]. Proteini i odgovarajući geni koji se u literaturi najčešće dovode u vezu sa disregulacijom negativne povratne sprege HHA osovine su glukokortikoidni receptor (GR), FKBP5 i SKA2 [60–62].

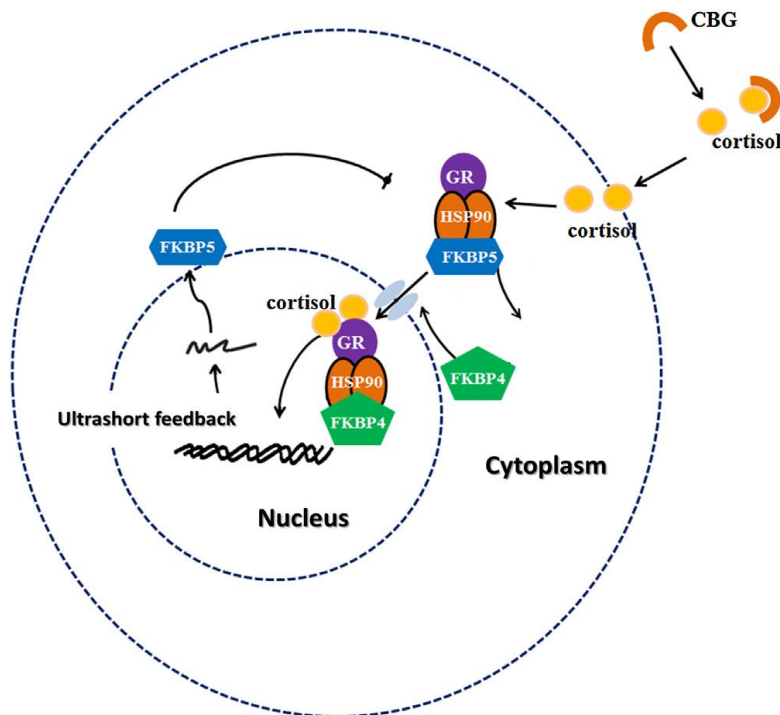
Glukokortikoidni receptor je ligand-zavisni transkripcioni faktor koji se nalazi neaktivan u citoplazmi, vezan za proteine toplotnog šoka (engl. *heat shock proteins* -HSP). Vezivanje liganda inicira proces koji kulminira ulaskom kompleksa ligand-receptor u jedro uz pomoć mreže mikrotubula. U ovom procesu aktivacije GR učestvuje multiproteinski kompleks sačinjen od šaperona i ko-šaperona koji su značajni za savijanje, sazrevanje, prenos do jedra i vezivanje za DNK. Aktivirani GR se vezuje za jedinstvena mesta na DNK povezana sa genima odgovornim za hormonsku regulaciju. GR utiče na ove gene ili direktnim vezivanjem za DNK, na GRE (engl. *glucocorticoid response element*) sekvencama ili kroz interakciju sa drugim transkripcionim faktorima. Kada se GR veže za GRE sekvencu on služi kao osnova za formiranje složenog kompleksa potrebnog za funkcionisanje transkripcione mašinerije. Ovaj proces naziva se trans-aktivacija i prisutan je u metaboličkoj regulaciji krvnog pritiska, povećavanju glikemije, glukoneogenezi itd. Međutim, GR može funkcionisati i tako što smanjuje transkripciju vezivanjem za nGRE (engl. *negative GRE*) sekvence koje funkcionišu suprotno trans-aktivaciji, tj. trans-represijom. Ovo se dešava u slučaju kontrole HHA ose i negativne povratne sprege, i to, između ostalog, smanjivanjem produkcije ACTH. Naime, GR sprečava transkripciju gena za proopiomelanokortin (engl. *proopiomelanocortin*, POMC) koji predstavlja prekursor ACTH. Poremećaj u funkcionisanju ovog receptora, kao i njegova smanjena ekspresija, dovode do poremećaja negativne povratne sprege HHA ose. [63]

Uzroci poremećaja normalnog funkcionisanja GR mogu se pojaviti već na nivou samog gena *NR3C1* (engl. *nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1*) koji kodira za GR, tj. njegove slabije ekspresije i to zbog genetičke varijacije [64,65] ili epigenetskih promena [66]. Jedan od mogućih kandidata u genu *NR3C1* je bialelski polimorfizam rs41423247 (C/G) za koji je pokazano da je homozigotna forma za mutirani alel povezana sa depresivnim poremećajem [67] i samoubistvom [62], tačnije, nosioci G varijante

odgovaraju sniženim vrednostima kortizola nakon psihosocijalnih stresora [62]. Naime, ovaj polimorfizam može uticati na obradu primarnih GR transkripata dovodeći do hipersenzitivnosti GR, koja dalje utiče na negativnu povratnu spregu HHA ose. Potencijalni uzrok poremećene funkcije GR može biti i smanjena ekspresija šaperona vezanih sa GR. Šaperoni zajedno sa svojim ko-šaperonima mogu da menjaju aktivnost GR i zbog toga imaju veliki značaj za

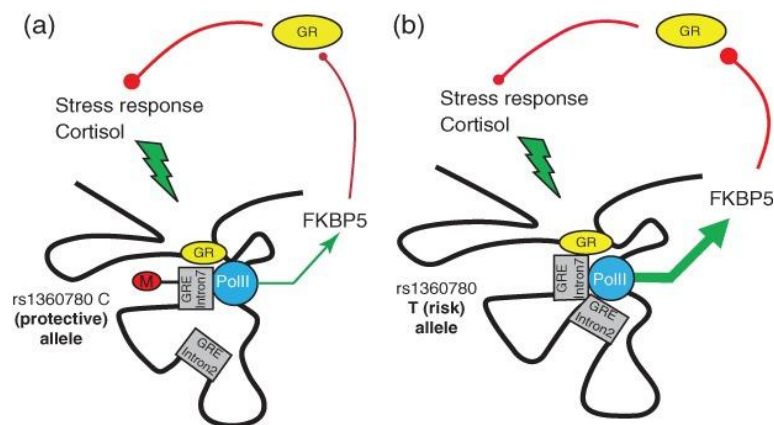
patofiziologiju poremećaja povezanih sa stresom. Već je pomenuto da u procesu aktivacije GR učestvuje multiproteinski kompleks sačinjen od šaperona i ko-šaperona. Tačnije ovaj kompleks se sastoji od samog receptora, HSP90 (engl. *Heat shock protein 90*) dimera, molekula p23 i jednog od TPR proteina (engl. *tetratricopeptide repeat*). HSP se vezuje direktno za receptor-ligand vezujući protein, što je neophodno kako za vezivanje samog hormona tako i za premeštanje čitavog kompleksa u jedro. Molekul p23 je uključen u stabilizaciju konformacije

kompleksa kada je vezan za hormon i vezuje se direktno za HSP90. U TPR proteine spadaju FKBP5 (FKBP51), FKBP4 (FKBP52), Cyp40 i PP5, i vezuju se za receptor preko HSP90 dimera. Koji od ova četiri proteina će biti vezan zavisi od toga da li je GR vezan za hormon ili ne, ali i tipa samog receptora [63]. U disregulaciji funkcionisanja GR i odgovora na stres posebno se izdvaja FKBP5 (FK506-vezujući protein 5, engl. *FK506-binding protein 51*, *FKBP51*). Podaci iz literature ukazuju na povezanost poremećaja u njegovoj regulaciji sa MDD [68]. Naime, GR koji je vezan za FKBP5 ima nizak afinitet za kortizol i smanjenu translokaciju u jedro. Ipak, kada se kortizol veže za kompleks, FKBP5 se odvaja i na njegovo mesto se vezuje protein FKBP4 koji dozvoljava da GR uđe u jedro i izvrši svoju ulogu kao transkripcioni faktor, što između ostalog dovodi i do transkripcije i povećane količine proteina FKBP5. Ovo konačno smanjuje afinitet GR za svoj ligand, čime se zatvara negativna povratna sprega senzitivnosti GR na intracelularnom nivou, tzv. ultrakratka povratna veza. Na taj način, povećana transkripcija *FKBP5* gena dovodi do pojačanog oslobađanja kortizola [69].



Preuzeto od De la Cruz-Cano E. Association between FKBP5 and CRHR1 genes with suicidal behavior: A systematic review. *Behav Brain Res.* 2017 Jan 15;317:46-61. doi: 10.1016/j.bbr.2016.09.032.

Postoji veliko interesovanje za razjašnjavanje veze između nekih SNP (engl. *Single Nucleotide Polymorphism*) u *FKBP5* i suicida [70]. Među ispitivanim varijacijama je i



Preuzeto od Zannas et al. Gene-environment interactions at the *FKBP5* locus: sensitive periods, mechanisms and pleiotropism. *Genes Brain Behav.* 2014;13(1):25-37.

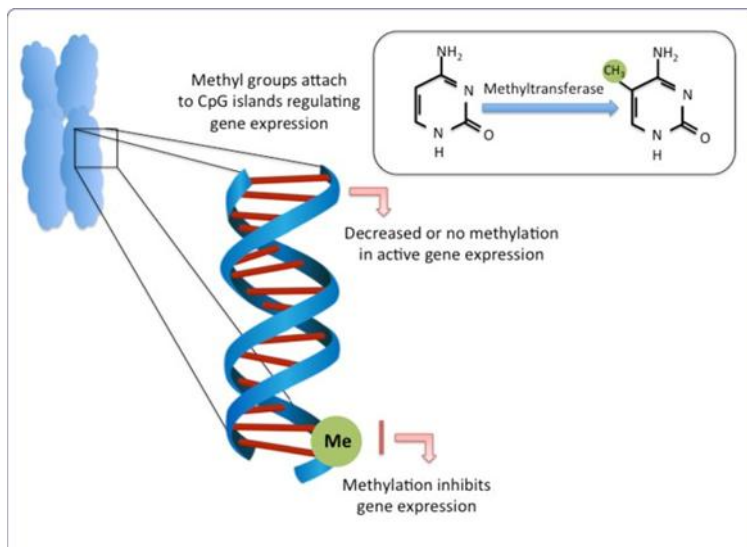
rs1360780 koja utiče na trodimenzionalnu konformaciju DNK. Naime, citozin (C) varijanta se ponaša kao protektivna, jer je u njenom slučaju smanjen fizički kontakt GRE sekvence u intronu 2 sa mestom početka transkripcije, te je smanjena stresom indukovana transkripcija *FKBP5*. U ovakvom slučaju negativna povratna sprega je očuvana. Međutim, T (rizična) varijanta promoviše direktan

kontakt GRE sekvence introna 2 sa "start" mestom transkripcije i favorizuje demetilaciju GRE sekvence u intronu 7. Sve ovo dovodi do povećane transkripcije *FKBP5* i sledstvene disregulacije HHA ose, odnosno glukokortikoidne rezistencije koju karakterišu povišeni nivoi ovog proteina i kortizola u odgovoru na stresor [71]. Ova varijanta je u različitim studijama predstavljena kao faktor rizika za razvoj depresije, posttraumatskog stresnog poremećaja, bipolarnog poremećaja, psihoza, ali i samoubistva [60,72-74].

SKA2 protein (engl. *spindle and kinetochore-associated protein 2*) je produkt istoimenog gena. Njegova funkcija u deobi ćelije detaljno je proučena. Za segregaciju (odvajanje) hromozoma tokom deobe ćelije neophodno je njihovo vezivanje za mikrotubule deobnog vretena, u čemu ovaj kompleks ima važnu ulogu. Da bi se anafaza mitoze (faza deobe u kojoj se hromatide hromozoma razdvajaju i postepeno pomeraju ka polovima deobnog vretena) pravilno odigrala neophodan je SKA kompleks (engl. *spindle and kinetochore associated complex*), a njega čine najmanje dva proteina SKA1 i SKA2. Naime, SKA1 se po vezivanju za mikrotubule vezuje za kinetohore tokom prometafaze i na taj način učestvuje u vezivanju hromozoma za deobno vreteno. Interakcija SKA1 i SKA2 je neophodna za stabilnost kompleksa. Nedostatak bilo kojeg od ova dva proteina dovodi do gubitka čitavog kompleksa sa kinetohora [75].

Ipak, uočeno je da SKA2 učestvuje i u transportu GR iz citoplazme u jedro, i tako modulira negativnu povratnu spregu HHA ose i ima neuroprotektivnu ulogu pojačavajući aktivaciju GR [76]. Guintivano i sar. su epigenetičkom analizom postmortalnih uzoraka moždanog tkiva imali za cilj identifikaciju gena povezanih sa samoubistvom. Na taj način došli su do *SKA2* gena, odnosno pokazali su da u neuronima prefrontalnog korteksa osoba koje su izvršile suicid postoji viši stepen metilacije *SKA2* i smanjena ekspresija u odnosu na kontrole. Metilacija DNK ima cis regulatornu ulogu i predstavlja epigenetičku promenu koja podrazumeva metilovanje citozina u regionu DNK koji je bogat citozin-guanin (CG) baznim parovima (CpG region) [77]. Ishod ovakve hemijske modifikacije, odnosno

pojačana metilacija, dovodi do smanjene ekspresije odgovarajućeg gena, a samim tim i do smanjenog nivoa produkta, što će uticati na tok ili intenzitet određenog procesa u koji je proteinski produkt uključen. U tom smislu, kod SKA2 gena postoji polimorfizam jednog nukleotida (*Single Nucleotide Polymorphism* – SNP) u rs7208505 gde se umesto timina (T) koji je prisutan u uobičajenoj (divljoj) varijanti nalazi citozin (C) koji je je alternativna varijanta ovog SNP-a. Tako nastaje CpG region u kojem je moguća metilacija citozina. U slučaju divlje (nerizične) varijante CpG region ne postoji te nije moguća ni metilacija.



Preuzeto od Nevin C, Carroll M. Sperm DNA Methylation, Infertility and Transgenerational Epigenetics. *J Hum Genet Clin Embryol* 2015, 1 (004): 1(004):9–10.

Takođe, pokazano je i da je metilacija SKA2 u krvi bolji prediktor suicidalne ideacije i smanjene supresije bazalnog kortizola od genotipa [61].

Slične nezavisne studije potvrdile su ove nalaze i pokazale smanjeni nivo SKA2 proteina u krvi osoba koje su pokušale da izvršile suicid u odnosu na kontrole iz opšte populacije [78] te je čak predložen za biomarker suicida. Smanjena ekspresija ovog gena pronađena je u uzorcima prefrontalnog korteksa mozga žrtava suicida i u drugim studijama [79,80]. Pored metilacije, u kontroli nivoa ekspresije SKA2 učestvuje i mikroRNK (miRNA) koja predstavlja kratak jednolančani nekodirajući RNK molekul (koji se sastoji od oko 22 nukleotida). Ona učestvuje u RNK utišavanju (*silencing*) i posttranskripcionoj regulaciji genske ekspresije. U literaturi se najčešće pominje miR-301 koja se nalazi u prvom intronu SKA2 gena, ali se poremećaji na ovom nivou uglavnom povezuju sa tumorogenezom [81,82].

Konačno, hipoteza kojom smo se vodili u izradi ove disertacije je da je sklonost ka samoubistvu biološki definisana. Proučavanjem različitih potencijalnih genetičkih i biohemijskih faktora, pokušali smo da pronađemo biomarkere koji bi u sudskomedicinskoj praksi, a delom i u psihijatrijskoj dijagnozi i terapiji, bili od pomoći u prepoznavanju suicidalnosti i suicida.

2. CILJEVI

1. 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) i korelacija ispitivanih parametara.
2. Analiza učestalosti varijanti polimorfizama u genima *NR3C1*, *FKBP5* i *SKA2* kod žrtava suicida i osoba koje su umrle na drugi način (kontrolna grupa) i korelacija ispitivanih parametara.
3. Analiza učestalosti varijanti polimorfizama u genima *NR3C1*, *FKBP5* i *SKA2* kod različitih načina izvršenja samoubistava i korelacija ispitivanih parametara.
4. 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 genima *NR3C1*, *FKBP5* i *SKA2*.

3. MATERIJAL I METODE

Ovo 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.

Istraživanje je sprovedeno na Medicinskom fakultetu u Beogradu i to 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. Svi podaci o ispitanicima su striktno depersonalizovani. Slučajevi korišćeni za ovo istraživanje su obeleženi S brojem, kako se zavode u Institutu za sudsku medicinu, a zatim im je dodeljeno novo numeričko obeležje tako da na osnovu dobijenih rezultata nije moguće identifikovati ispitanika.

Etički odbor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu dao je odobrenje za izvođenje istraživanja (odluka broj:1322/XII-20).

3.1. Studija slučajeva i kontrola - ispitivanje ekspresije proteina GR, SKA2 i FKBP5

Za studiju slučajeva i kontrola koja ispituje etiološku ulogu ekspresije proteina GR, SKA2 i FKBP5 u tkivu mozga formirane su dve grupe: eksperimentalna (46 ispitanika) i kontrolna (46 ispitanika), a na osnovu sledećih jasno definisanih inkluzionih kriterijuma. Eksperimentalnu grupu čine identifikovane žrtve samoubistva koje su umrle na licu mesta. Kontrolnu grupu čine osobe koje su iznenada umrle (naprasna srčana smrt, zadesi, ubistva) bez pokušaja lečenja neposredno pred smrt, te je na taj način isključena dugotrajna reakcija organizma na stres. Ova grupa usaglašena je sa eksperimentalnom po polu i starosti. Zaključci o poreklu smrti izvedeni su iz obdukcionog nalaza, policijskih izveštaja sa lica mesta i heteroanamnestičkih podataka uzetih od članova porodice ili bliskih prijatelja (koji su sastavni deo intervjuja koji se obavlja u Institutu za sudsku medicinu - Prilog 1). Iz studije su isključeni svi slučajevi gde je postmortalni period bio duži od 48 sati ili su postojali očigledni znaci postmortalnih promena. Takođe isključeni su i oni slučajevi gde su destruktivne povrede u ispitivanim delovima mozga onemogućavale uzorkovanje. Period uzorkovanja trajao je od marta 2017. do marta 2020. godine. Načini izvršenja samoubistva podeljeni su u grupe visokoletalnih (engl. *high lethality method*, HLM) i niskoletalnih (engl. *low lethality method*, LLM) na osnovu kriterijuma detaljno objašnjenih u delu 3.3.

Za sve umrle koji su zadovoljili kriterijume uključenja u studiju, pored opštih sociodemografskih podataka dobijenih standardnim upitnikom detaljno je utvrđivano eventualno prisustvo psihijatrijskog oboljenja na osnovu medicinske dokumentacije, ili, ako ona nije dostupna, na osnovu heteroanamnestičkih podataka dobijenih od najbližih srodnika u sklopu redovnog intervjuisanja, koje se obavlja u vezi sa svakom

sudskomedicinskom obdukcijom na Institutu za sudsku medicinu u Beogradu. Specijalista psihijatrije je sa srodnikom preminulog uradio opšti psihijatrijski intervju (Prilog 2) koji je bio modifikacija semistrukturisanog standardizovanog Mini Internacionalnog Psihijatrijskog Intervjua prilagođenog za potrebe aktuelnog istraživanja, a koji je namenjen ispitivanju kriterijuma potrebnih za postavljanje dijagnoze psihijatrijskih poremećaja prema važećem klasifikacionom sistemu (MKB-10). Na ovaj način, u obe ispitivane grupe formirane su po dve grupe - sa psihijatrijskim oboljenjem i bez parametara koji bi ukazivali na takvo oboljenje. Psihijatrijska oboljenja su podeljena u sledeće grupe: bolesti zavisnosti (F10-F19), psihoze (F20-F29 i F31), depresivno-anksiozna stanja (F32, F33, F34, F40, F41, F42, F43, F44, F45, F48, F50) i psihijatrijski komorbiditet. Takođe, za sve učesnike studije su preko trećeg lica utvrđeni i značajni događaji u odnosu na vreme smrti: u proteklih šest meseci (proksimalni) i u vremenu koje je prethodilo ovom periodu (distalni) i to na osnovu Liste ugrožavajućih životnih događaja (engl. *List of threatening experiences*, LTE) (Prilog 3).

Za umrle iz obe grupe učinjene su hemijskotoksikološke analize koje su obuhvatale etil-alkohol i najčešće korišćene droge i lekove (Prilog 4). Akutno napito stanje je definisano kao alkoholemija u vrednosti 0,3 mg/mL i više, jer se tada javljaju prve psihomotorne promene u funkcionisanju [83]. Takođe, uzeti su i uzorci krvi koji su korišćeni za genotipizaciju u odnosu na polimorfizme u genima *NR3C1*, *FKBP5* i *SKA2*.

3.1.1. Uzimanje uzoraka

Uzorci su uzimani tokom obdukcije, neposredno nakon vađenja mozga iz lobanjske duplje i to iz prefrontalnog korteksa (BA9), amigdala i hipokampusa (Prilog 5). Zatim su stavljani u tečni azot i čuvani do daljih analiza koje su bile sprovedene u Institutu za medicinsku i kliničku biohemiju Medicinskog fakulteta u Beogradu.

3.1.2. Određivanje pH tkiva mozga

Za određivanje pH *postmortem* tkiva mozga izdvojeno je 200–250 mg tkiva prefrontalnog korteksa, hipokampusa i amigdala i izvršena je mehanička homogenizacija u 10 puta većoj zapremini destilovane vode u odnosu na masu izdvojenog tkiva. Zatim je homogenat centrifugiran tokom 3 minuta na 8000 g na +4°C. Izdvojen je supernatant u kome je izmeren pH na pH-metru (*Hanna Instruments*, Srbija) prethodno kalibrisanom sa 2 standarda pH=4,01 i pH=7,01 [84].

3.1.3. Protokol *Western blot* metode

Ekspresija ispitivanih proteina praćena je tehnikom *Western blot*-a. Strukture dorzolateralnog prefrontalnog korteksa, hipokampusa i amigdala (po 100–150 mg) preparisane su na hladno i tkivo je zatim homogenizovano u RIPA puferu (50 mmol/L TRIS pH=8,0, 150 mmol/L NaCl, 0,1% SDS, 0,5% Na-deoksiholat, 1,0% NP-40) uz dodatak

smeše inhibitora fosfataza i proteaza (koktel inhibitora proteaza - PIC, 1 mmol/L fenilmetilsulfonil-fluorid, 10 mmol/L NaF, 0,1 mmol/L Na-ortovanadat). Nakon inkubacije u trajanju od 30 minuta na ledu, uzorci su centrifugirani 15 min na 14000 g na +4°C, a dobijeni supernatant je upotrebljavan za analizu. Ukupna koncentracija proteina u uzorcima određena je metodom po *Bradford*-u [85].

Razdvajanje proteina iz uzoraka izvedeno je elektroforezom na SDS-poliakrilamidnom gelu (SDS-PAGE) [86]. Pre nalivanja na gel, uzorci su pripremljeni u 2X *Laemmli* puferu (125 mmol/L TRIS pH=6,8, 4% SDS, 20% glicerol, 0,004% bromofenol-plavo, 10% 2-merkaptotanol) kako bi se učinila denaturacija i omogućila uniformna negativna naelektrisanost proteina. Jednake zapremine uzoraka sa istom količinom proteina (10 µg) su nalivene na gelove različite gustine (8, 12 ili 15%) u odnosu na veličinu proteina od interesa. Posle elektroforeze izveden je transfer proteina sa gela na nitroceluloznu membranu (*Bio-Rad*, SAD). Membrane su nakon toga inkubirane u 5% rastvoru nemasnog mleka u TBS-T-u (100 mmol/L TRIS, pH=7,6, 150 mmol/L NaCl, 0,05% Tween-20) kako bi se blokirala nespecifična mesta vezivanja. Nakon blokiranja, membrane su inkubirane preko noći na +4°C sa sledećim primarnim antitelima: anti-GRα (1:500, zečje monoklonsko, *Abcam*, Velika Britanija), anti-FKBP51 (1:500, zečje poliklonsko, *Abcam*, Velika Britanija) i anti-SKA2 (1:500, zečje poliklonsko, *Abcam*, Velika Britanija). Po inkubaciji višak primarnog antitela je uklonjen ispiranjem u TBS-T-u, a potom su membrane inkubirane sa odgovarajućim sekundarnim antitelima (1:2000, anti-zečje, *Southern Biotech*, SAD) sa vezanom peroksidazom rena (HRP, engl. *horseradish peroxidase*) tokom 60 minuta. Višak sekundarnog antitela je uklonjen na isti način kao višak primarnog antitela. Membrane su potom izložene radnom rastvoru luminola koji je aktiviran 30% rastvorom H₂O₂. U reakciji koju katališe HRP dolazi do produkcije fotona svetlosti, a intenzitet hemiluminiscence je direktno proporcionalan količini proteina od interesa koji je vezan za membranu [87]. Vizuelizacija specifičnih proteinskih traka je izvršena pomoću *ChemiDoc* aparata (*Bio-Rad*, SAD). Sa svih membrana su onda uklonjena vezana antitela pomoću „*stripping* pufera“ koji sadrži TRIS, glicin i Tween-20 (pH=2,2), a zatim su membrane ponovo inkubirane sa anti-β-aktin antitelom (1:10000, mišje monoklonsko, *Sigma-Aldrich*, Nemčka) tokom 90 minuta, i nakon ispiranja primarnog antitela i odgovarajućim sekundarnim (1:2000, anti-mišje, *Southern Biotech*, SAD). Denzitometrijski signal poreklom β-aktina je na sličan način vizuelizovan. Konačno, ekspresija proteina koji su ispitivani je denzitometrijski kvantifikovana upotrebom softvera *ImageLab* i izražena je u odnosu na intenzitet ekspresije β-aktina u istom uzorku. Kvantifikacija proteina sa različitih membrana je normalizovana korišćenjem interne kontrole imunoblota koja je dobijena mešanjem istih zapremina svih uzoraka (posmatrane i kontrolne grupe) jedne moždane strukture [88].

3.2. Studija slučajeva i kontrola - ispitivanje prisustva varijanti polimorfizama gena *NR3C1*, *SKA2* i *FKBP5*

Za studiju slučajeva i kontrola koja utvrđuje učestalost varijanti polimorfizama gena *NR3C1*, *SKA2* i *FKBP5* takođe su formirane dve grupe. Posmatranu grupu činile su osobe koje su izvršile samoubistvo tokom 2017. godine (139 slučajeva), među kojima su i oni kojima su uzeti uzorci mozga za analizu ekspresije proteina od interesa. Kako u 16 slučajeva uzorci nisu bili adekvatni, konačan broj ispitivanih uzoraka je 123. Kontrolnu grupu činile su osobe koje su umrle na drugi način - naprasna srčana smrt, zadesi, ubistva (141 slučaj), izabrane tako da budu uparene po polu i starosti. Zaključci o poreklu smrti izvedeni su iz obdukcionog nalaza, policijskih izveštaja sa lica mesta i heteroanamnestičkih podataka uzetih od članova porodice ili bliskih prijatelja. Na osnovu standardnog intervjua koji se obavlja u Institutu za sudsku medicinu dobijeni su podaci o polu, starosti, prisustvu psihijatrijskog oboljenja. I u ovoj studiji slučajevi samoubistava su podeljeni na HLM i LLM grupe (detaljno objašnjeno u odeljku 3.3.). Pored toga načini samoubistva podeljeni su prema nivou mutilantnosti na visokomutilantni način i niskomutilantni način. U visokomutilantne načine spadaju skok sa visine, povređivanje eksplozivnim napravama, samospaljivanje, povrede šinskim vozilom, a u niskomutilantne vešanje, vatreno oružje, trovanje, utopljenje, povrede nastale oštrim predmetom. Retki načini koji nisu među navedenima svrstavani su prema stepenu mutilantnosti u odgovarajuću grupu.

3.2.1. Biološki uzorci i izolacija molekula DNK

Biološki uzorci prikupljeni su u toku obdukcija nanošenjem krvi na bris i čuvani su u suvom stanju. Iz prikupljenih uzoraka izolovana je ukupna DNK za analizu, pomoću komercijalno dostupnih kitova za ekstrakciju molekula DNK na kolonicama sa silikatnim česticama (Qiagen). Ova metoda podrazumeva nekoliko koraka: prvi korak je liziranje korišćenjem odgovarajućeg pufera koji sadrži deterdžente, haotropne soli i proteaze, i ima dvostuku ulogu. Deterdženti uzrokuju liziranje odnosno razgradnju ćelijskih membrana, kako plazma membrane tako i membrana pojedinačnih organela u ćeliji. Proteaze razgrađuju proteinsku frakciju ćelijskih komponenti, dok haotropne soli, zajedno sa temperaturom od 56°C na kojoj se ovaj korak obavlja, pomažu denaturaciji proteina kako bi proteaza mogla da deluje. Ovaj korak je neizostavni korak svake metode izolacije, jer se dezintegracija kako plazma membrane i membrana organela, a naročito jedra, smatra neophodnim korakom koji prethodi svakoj izolaciji molekula DNK. U primenjenom kompletu, koristi se proteinaza K, serin-proteinaza širokog spektra.

Nakon završene degradacije proteina, u trajanju od 15 minuta, dodaje se trećina zapremine (200µL) ledenog etanola, pa se potom kompletan rastvor (bez brisa) prebacuje

u Qiagen kolonicu. Uloga etanola u ovom procesu je višestruka: etanol promovira agregaciju DNK, odnosno promovira precipitaciju molekula DNK u našem uzorku.

Naredni koraci uključuju korišćenje pufera za ispiranje. U neorganskoj izolaciji molekula DNK korišćena su dva pufera, redom, opadajuće jonske jačine (engl. *wash buffer 2* je manje jonske jačine od engl. *wash buffer 1*). Prilikom rada sa kolonicama, različitim gore opisanim koracima promovisana je adsorpcija molekula DNK na silikonske kuglice prisutne u Qiagen kolonicama. Razlika između različitih kolonica bi bila samo u gustini kuglica, što se mora uzeti u obzir kada se razmatra koje je veličine molekul DNK u uzorku koji se izoluje. U ovom slučaju to je ukupna genomska DNK, pa je korišćena odgovarajuća kolonica za genomsku DNK.

Poslednji korak je elucija, odnosno oslobađanje molekula DNK sa silikonskih kuglica koristeći pufer za eluciju, ili običnu vodu, pri čemu se uzima u obzir da je engl. *elution buffer* najmanje jonske jačine u odnosu na pufer za „pranje“, koji omogućava „spiranje“ molekula DNK sa silikonskih kuglica, i ovim korakom je završena neorganska ekstrakcija molekula DNK, te se dobija čista DNK visoke koncentracije.

3.2.2. Genotipizacija Real Time PCR metodom sa TaqMan probama

Genotipizacija polimorfizama u ispitivanim genima *NR3C1* (NM_000176.3:c.1184+646C>G), *FKBP5* (NM_004117.4:c.106-2636A>T) i *SKA2* (NC_000017.11:g.59110368G>A), sprovedena je primenom metode hidrolize dvostruko obeleženih proba tokom lančane reakcije polimerizacije u realnom vremenu (*Real Time PCR*) na Real-Time PCR ViiA7 instrumentu (Applied Biosystems, SAD). Za sve navedene polimorfizme upotrebljeni su komercijalno dostupni eseji (TaqMan SNPs Genotyping Assay) sa razblaženjima 40 puta za probe i prajmere i 2 puta za reakcioni rastvor (Universal TaqMan Master Mix, Applied Biosystems, SAD).

Komercijalno dizajniran kit za TaqMan genotipizaciju sadrži takozvani *uzvodni* (engl. *Forward-F*) i *nizvodni* (engl. *Reverse-R*) prajmer i dve TaqMan probe komplementarne sa ciljanom sekvencom u kojoj se nalazi traženi SNP.

Na svom 5' kraju TaqMan probe su obeležene fluorescentnom bojom (FAM ili VIC), a njihovo oslobađanje i sledstvena fluorescencija se prate u realnom vremenu. Različito obeležene TaqMan probe koje se upotrebljavaju za detekciju tačkastih varijanti razlikuju se u jednom nukleotidu, zavisno od toga da li je sekvenca komplementarna divljem, neizmenjenom (engl. *wild type - wt*) alelu ili varijantnom alelu. U intaktnom stanju probe ne mogu da fluoresciraju jer se na 3' kraju probe nalazi prigušivač (engl. *quencher*) koji inhibira emisiju fluorescentnog signala preko FRET fenomena (engl. *Fluorescence Resonance Energy Transfer*) odnosno inhibira emisiju fluorescentnog signala transferom energije fluorescentnom rezonancijom. Korišćen je MGB (engl. *minor groove binding*) kvenčer. MGB kvenčer povećava tačku topljenja tj povećava specifičnost probe, tako da je za istu temperaturu topljenja potrebno koristiti kraću probu. Kod ovakve vrste fluorescencije dva molekula koja su udaljena više od 10nm, mogu da prenose energiju bez zračenja, tj.

rezonancijom. Energija fluorescencije sa hromofore (fluorescentne) prelazi na prigušivač ako su hromofora i prigušivač na malom rastojanju (na istoj probi). Fluorescenciju hromofore detektujemo ukoliko dođe do hidrolize probe, što razdvaja ove molekule.

Tabela 1. Genske pozicije i tipovi polimorfizama koji su analizirani TaqMan Assay-om
Polimorfna mesta prikazana su u uglastoj zagradi. Probe koje sadrže prvi varijantni nukleotid obeležene su VIC bojom, dok su probe sa drugom varijantom obeležene FAM bojom.

Gen	rs broj varijacije	HGVS nomenklatura	Sekvenca od interesa	ID TaqMan Assay
<i>NR3C1</i>	rs41423247	NM_000176.3:c.1184+646C>G	CACCAATTCCTCTCTTAAAGAGATT[G/C]ATCA GCAGACATAACTTGTCTACTT	C__86507873_10
<i>FKBP5</i>	rs1360780	NM_004117.4:c.106-2636A>T	GAAGGCTTTCACATAAGCAAAGTTA[C/T]ACA AAACAAAAATTCTTACTTGCTA	C_8852038_10
<i>SKA2</i>	rs7208505	NC_000017.11:g.59110368G>A	ATTATGATCTCTCCATGATACTACC[A/G]TTTT TCAATCCCAACAATCATCAT	C_23546_20

Nakon hibridizacije probe i prajmera sa ciljnom sekvencom, Taq polimeraza izvodi ekstenziju prajmera sa 3' kraja i hidrolizu komplementarne TaqMan probe sa 5' kraja, te se na taj način fluorescentna hromofora oslobađa u rastvor, udaljavajući se od prigušivača i ovo se detektuje kao fluorescencija u reakcionom rastvoru.

Imajući u vidu da se radi o bialelskim varijacijama, za svaki analizirani gen postoje tri različita genotipa: homozigotni genotipovi mogu biti bilo homozigoti za neizmenjeni alel wt/wt ili homozigoti za varijantni alel mut/mut - pri čemu aparat detektuje samo jednu boju (najčešće VIC za wt, a FAM za mut), dok će prisustvo heterozigota pokazivati obe fluorescentne boje. Alel-specifične fluorescentne krive se očitavaju nakon završene reakcije i analiziraju.

Sve genetičke analize sprovedene su u genetičkoj laboratoriji Instituta za sudsku medicinu Medicinskog fakulteta u Beogradu.

3.3. Definisane sudskomedicinski značajnih faktora rizika u ukupnom uzorku

U ovaj deo istraživanja uključeni su svi slučajevi samoubistava u periodu od 1. januara 2006. do kraja marta 2020. godine (1809 slučajeva), koji uključuju i slučajeve samoubistava iz obe studije slučajeva i kontrola.

Na osnovu obdukcionih nalaza, policijskih izveštaja i heteroanamnestičkih podataka dobijenih od srodnika i prijatelja preminulih (koji su sastavni deo intervjuua koji se obavlja u Institutu za sudsku medicinu – Prilog 1) izvođen je zaključak o poreklu smrti i analizirane su sledeće sociodemografske katakarakteristike (pol, starost, bračni i radni status), somatska i psihijatrijska oboljenja (dijagnostikovana tokom života ili na osnovu jasnih izjava u heteroanamnestičkom intervjuu), način izvršenja samoubistva, prethodni pokušaji samoubistva, postojanje oproštajne poruke, alkoholemija i prisustvo psihotropnih lekova i droga u krvi u vreme umiranja. U slučajevima kada je telo bilo u stanju postmortalnih promena ili je osoba nadživljavala duže od 24 sata alkoholemija nije analizirana. Alkoholisanošć (akutno napito stanje) je i ovde definisana kao alkoholemija u vrednosti 0,3 mg/mL i više, jer se tada javljaju prve psihomotorne promene u funkcionisanju. [83] U slučaju alkoholisanošć vrednosti alkoholemije su podeljene u sledeće kategorije: 0,3-0,49mg/mL, 0,50-0,99mg/mL, 1,00-1,49mg/mL, 1,50-1,99mg/mL, 2,00-2,99mg/mL i ≥ 3 mg/mL.

Naćini izvršenja samoubistva kategorisani su kao visokoletalni (engl. *high lethality method*, HLM) i niskoletalni (engl. *low lethality method*, LLM) [9,89–91]. HLM grupu ćine vešanje, skok sa visine, povređivanje vatrenim oružjem i eksplozivnim napravama, utopljenje i samospaljivanje. LLM grupu ćine trovanja i povrede nastale ošćrim predmetom (sekotine i ubodine). Neuobićajeni naćini samoubistva, koji ne spadaju ni u jedan od navedenih, po stepenu ekstenzivnosti povreda svrstani su u neku od dve grupe.

3.4. Statistićka obrada podataka

U ovoj studiji korišćene su deskriptivne i analitićke statistićke metode. Od deskriptivnih korišćeni su: apsolutni i relativni brojevi (n,%), mere centralne tendencije (aritmetićka sredina, medijana), mere disperzije (standardna devijacija, percentili). Među analitićkim statistićkim metodama upotrebljeni su testovi razlike, i to: parametarski (t test, ANOVA), neparametarski (Pirsonov hi-kvadrat test, Mentel-Henšel hi-kvadrat test za trend, Fišerov test taćne verovatnoće, Man-Vitni test). Izbor testa za ispitivanje razlike zavisio je od tipa podataka i njihove raspodele. Parametarske metode korišćene su u slučajevima gde je raspodela bila normalna, dok su neparametarski korišćeni onda kada raspodela dobijenih vrednosti nije bila u skladu sa pretpostavkama normalne raspodele. Normalnost raspodele ispitivana je na osnovu deskriptivnih parametara, testova normalnosti raspodele (Kolmogorov-Smirnov i Shapiro-Wilks testa) i grafićkim metodama (histogram, boxplot, QQ plot). Za analizu povezanosti korišćena je logistićka regresiona analiza, univarijantna i multivarijantna. Nadalje, za ispitivanje povezanosti određenog

fenotipa i ekspresije proteina korišćena je dvofaktorska ANOVA gde su fiksni efekti bili poreklo smrti (samoubistvo i kontrola), i genotip (genotipovi su bili grupisani po modelu dominantnog efekta ispitivanog rizičnog alela).

Rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

Za ispitivanje unakrsnih odnosa i alelskih asocijacija u studiji slučajeva i kontrola za ispitivanje učestalosti varijanti ispitivanih gena izvršeno je primenom testa opisanog u radu Sasieni i sar. [92] (dostupan na <https://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>).

Svi ostali podaci obrađeni su u SPSS 20.0 (IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.) softverskom paketu i R 3.4.2 (R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.).

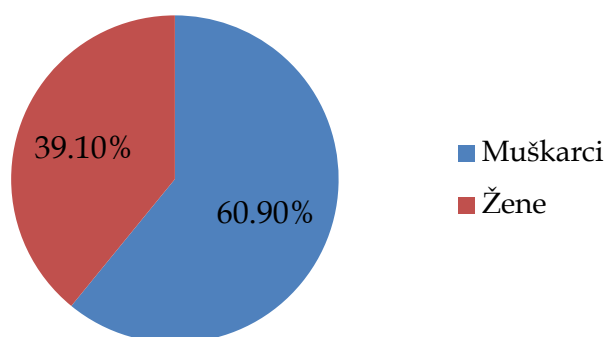
4. REZULTATI

4.1. Rezultati studije slučajeva i kontrola za ispitivanje ekspresije proteina GR, SKA2 i FKBP5

U uzorku za analizu ekspresije proteina GR, SKA2 i FKBP5 grupu suicida (posmatranu grupu) i kontrolnu grupu činilo je po 46 osoba, i to 66 (71,7%) muškaraca i 26 (28,3%) žena. Grupe su odabrane tako da budu podudarne po polu i godinama, a u Tabeli 2 prikazane su prosečne godine starosti.

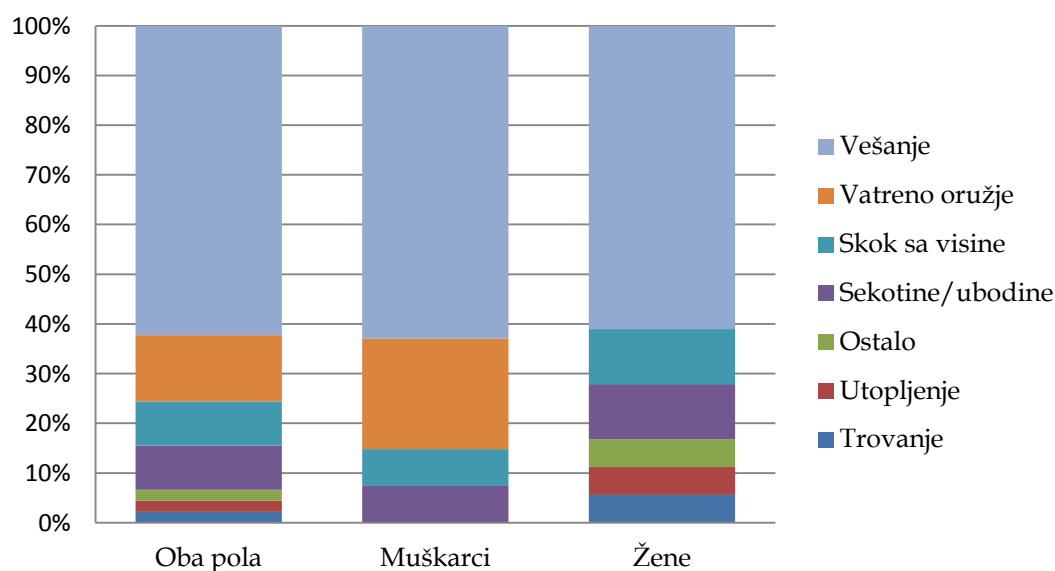
Tabela 2. Prosečna starost po grupama

Grupa	N	Srednja vrednost	Standardna devijacija	Minimum	Maksimum
Suicid	46	50.30	17.57	19	83
Kontrola	46	52.20	14.35	25	79



Grafikon 1. Distribucija samoubistava po polu

Među izabranim načinima samoubistva vodeće mesto u oba pola ima vešanje, a raspodela načina izvršenja prikazana je Grafikonom 2.



Grafikon 2. Distribucija načina samoubistava po polu

U Tabelama 3, 4, 5 i 6 prikazan je uticaj različitih sociodemografskih faktora (bračnog i radnog statusa, edukacije, i kohabitacije) na izvršenje samoubistva. Ni za jednu od kategorija nije uočena statistička značajnost.

Tabela 3. Povezanost bračnog statusa i izvršenja samoubistva

		Bračni status					Ukupno	
		Neoženjen	Oženjen	Razveden	Udovac	Vanbračna zajednica		
Grupa	Samoubistvo	N	15	16	5	8	2	46
		%	32.6%	34.8%	10.9%	17.4%	4.3%	100.0%
	Kontrola	N	16	18	8	1	3	46
		%	34.8%	39.1%	17.4%	2.2%	6.5%	100.0%
Ukupno		N	31	34	13	9	5	92
		%	33.7%	37.0%	14.1%	9.8%	5.4%	100.0%

Tabela 4. Povezanost edukacije i izvršenja samoubistva

		Edukacija				Ukupno	
		bez škole	Osnovna škola	Srednja škola	Visoko obrazovanje		
Grupa	Samoubistvo	N	2	10	24	9	45
		%	4.4%	22.2%	53.3%	20.0%	100.0%
	Kontrola	N	2	7	30	7	46
		%	4.3%	15.2%	65.2%	15.2%	100.0%
Ukupno		N	4	17	54	16	91
		%	4.4%	18.7%	59.3%	17.6%	100.0%

Tabela 5. Povezanost radnog statusa i izvršenja samoubistva

		Radni status						Ukupno	
		Učenik/ student	Nikad zaposlen	Aktuelno nezaposlen	Zaposlen	Penzija	Invalidska penzija		
Grupa	Samoubistvo	N	1	2	19	10	12	2	46
		%	2.2%	4.3%	41.3%	21.7%	26.1%	4.3%	100.0%
	Kontrola	N	2	2	13	19	9	1	46
		%	4.3%	4.3%	28.3%	41.3%	19.6%	2.2%	100.0%
Ukupno		N	3	4	32	29	21	3	92
		%	3.3%	4.3%	34.8%	31.5%	22.8%	3.3%	100.0%

Tabela 6. Povezanost kohabitacije i izvršenja samoubistva

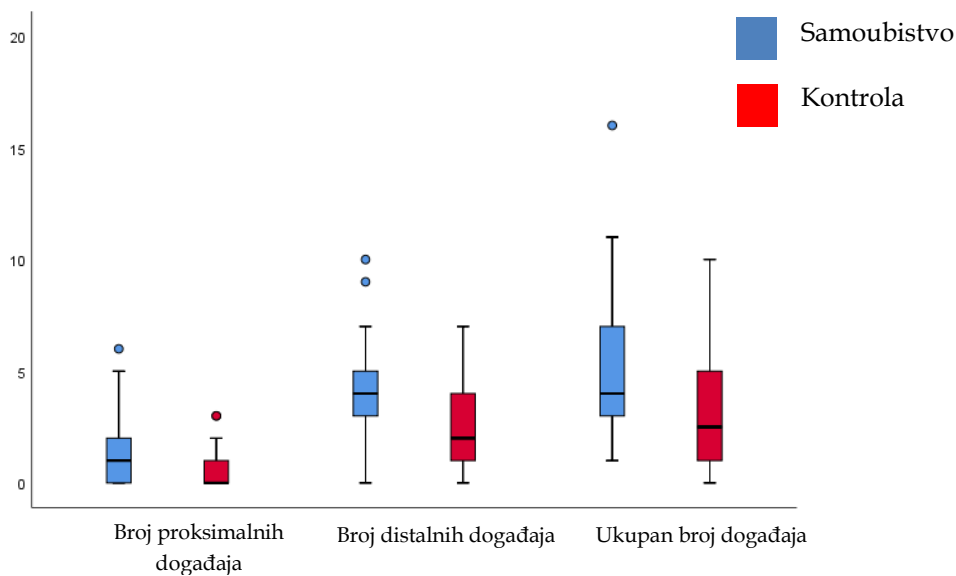
Grupa			Kohabitacija				Ukupno
			Sam	Primarna	Sekundarna	Ostalo	
				porodica	porodica		
Samoubistvo	N	9	10	21	5	1	46
	%	19.6%	21.7%	45.7%	10.9%	2.2%	100.0%
Kontrola	N	11	10	19	4	2	46
	%	23.9%	21.7%	41.3%	8.7%	4.3%	100.0%
Ukupno	N	20	20	40	9	3	92
	%	21.7%	21.7%	43.5%	9.8%	3.3%	100.0%

Kada je ispitivana učestalost stresnih životnih događaja u posljednjih 6 meseci podjeljenih na one koji su lični i one koji su se dogodili bliskom osobama ispitivanim grupama uočeno je da su u grupi samoubistava značano češći bili oni koji su na izvršioaca uticali lično ($p=0,048$) (Tabela 7).

Tabela 7. Učestalost stresnih životnih događaja u posljednjih 6 meseci u ispitivanim grupama

		Stresni životni događaji u posljednjih 6 meseci		Ukupno
		Bliska osoba	Lično	
Samoubistvo	N	3	29	32
	%	9.39%	90.61%	100.0%
Kontrola	N	5	18	23
	%	21.74%	78.26%	100.0%
Ukupno	N	8	47	55
	%	14.55%	85.45%	100.0%

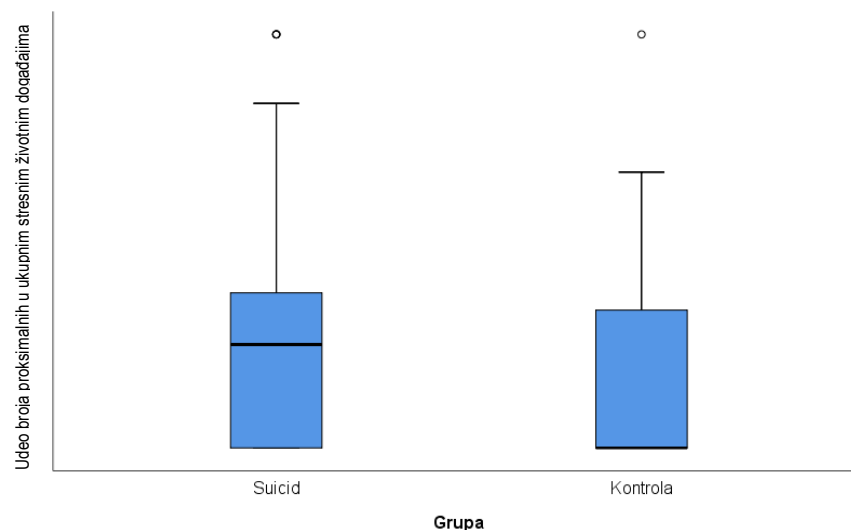
Testiranjem uticaja proksimalnih i distalnih stresnih životnih događaja statistički značajne razlike uočene su u oba ova intervala ($p=0,021$ i $p=0,03$), kao i u odnosu na ukupan broj životnih događaja ($p=0,02$), u smislu da je njihov broj bio veći u grupi samoubistava (Grafikon 3).



Grafikon 3. Učestalost broja proksimalnih, distalnih i ukupan broj životnih događaja prema ispitivanim grupama

° neobična vrednost (*outlier*)

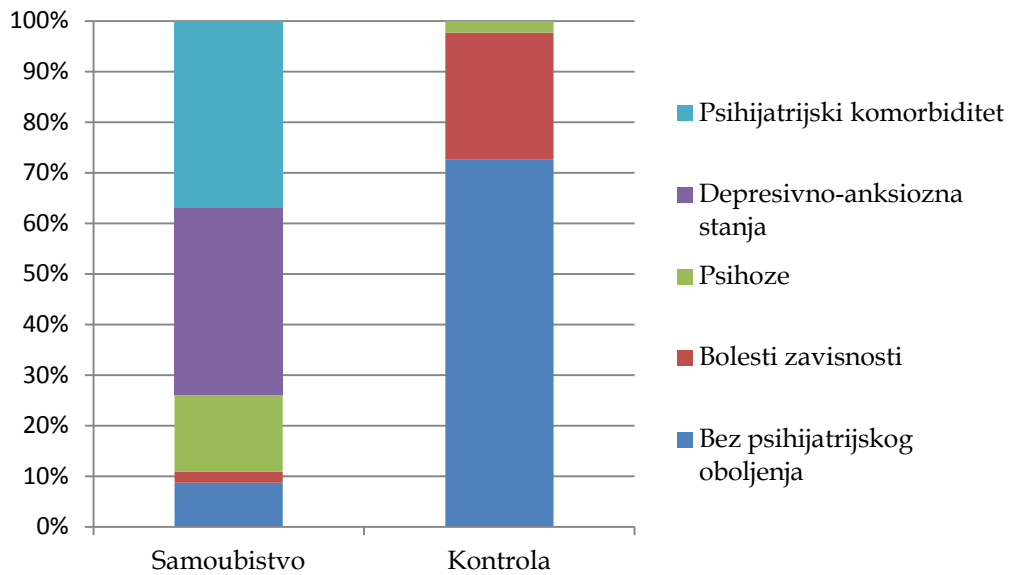
Ispitivanjem udela skorašnjih u ukupnim životnim događajima u ispitivanim grupama nije uočena statistički značajna razlika između osoba koje su izvršile suicid i onih koje su umrle na drugi način (Grafikon 4)



Grafikon 4. Udeo proksimalnih stresnih životnih događaja u u stresnim događajima tokom čitavog života prema ispitivanim grupama

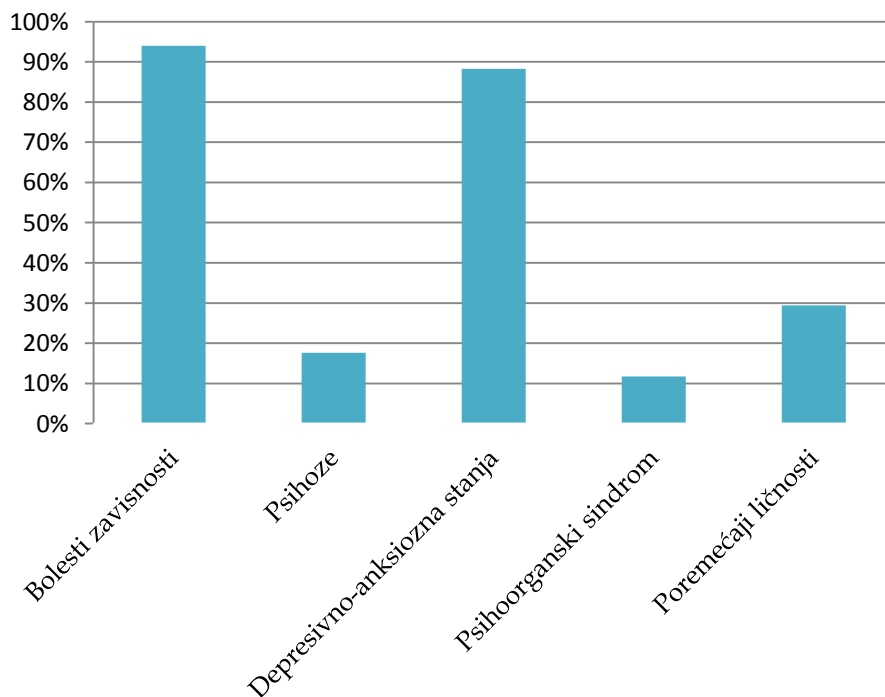
° neobična vrednost (*outlier*)

Ispitivanjem učestalosti različitih psihijatrijskih oboljenja u ispitivanim grupama uočeno je da su depresivno-anksiozna stanja i psihijatrijski komorbiditet ubedljivo najčešće dijagnoze u grupi suicida (Grafikon 5).



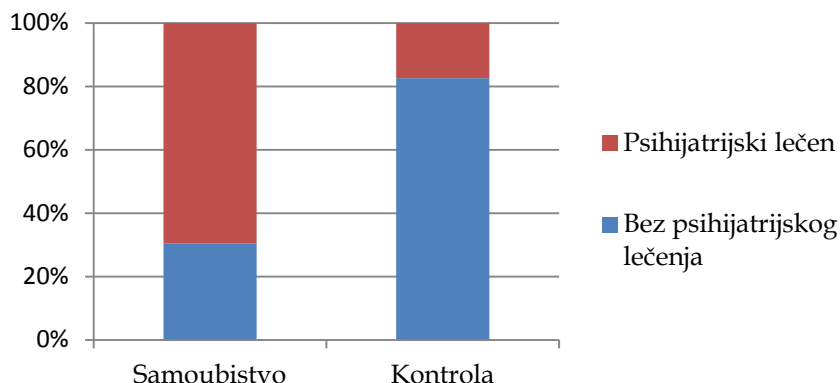
Grafikon 5. Distribucija psihijatrijskih oboljenja u ispitivanim grupama

U kategoriji psihijatrijski komorbiditet najveću učestalost pokazala su depresivno-anksiozna stanja i bolesti zavisnosti (Grafikon 6).



Grafikon 6. Udeo različitih psihijatrijskih dijagnoza u psihijatrijskom komorbiditetu

Uvidom u zastupljenost psihijatrijskog lečenja u ispitivanim grupama uočeno je da je lečenje u nekom periodu života sprovedeno kod značajno većeg broja ispitanika u grupi samoubistava u odnosu na kontrolnu grupu (Grafikon 7).



Grafikon 7. Zastupljenost psihijatrijskog lečenja u ispitivanim grupama

Uvidom u nalaze hemijsko-toksikoloških analiza zapaženo je da su pozitivan rezultat statistički značajno učestalije imale osobe koje su se psihijatrijski lečile u odnosu na one bez lečenja ($p=0,004$) (Tabela 8).

Tabela 8. Učestalost pozitivnog toksikološkog nalaza u odnosu na prethodno psihijatrijsko lečenje

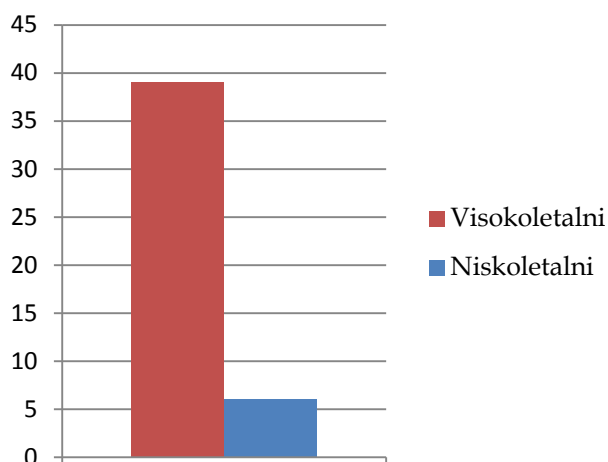
		Psihijatrijsko lečenje		Total
		Ne	Da	
Toksikološki nalaz	Negativan	N 34	18	52
		% 65.4%	34.6%	100.0%
	Pozitivan	N 11	22	33
		% 33.3%	66.7%	100.0%
Total		N 45	40	85
		% 52.9%	47.1%	100.0%

Ispitivanjem prisustva prethodno dijagnostikovanog psihijatrijskog oboljenja u odnosu na prethodne pokušaje suicida, iako nije postignuta statistička značajnost, uočeno je da ranijih, neuspelih pokušaja nije bilo kod nelečenih ispitanika (Tabela 9).

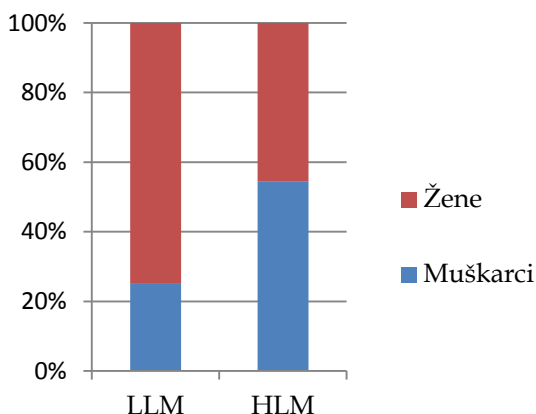
Tabela 9. Povezanost prisustva psihijatrijskog oboljenja i prethodnog pokušaja samoubistva

			Raniji pokušaji		Total
			Ne	Da	
Prisustvo psihijatrijskog oboljenja	ne	N 4	0	4	
		% 100.0%	0.0%	100.0%	
	da	N 26	16	42	
		% 61.9%	38.1%	100.0%	
Total		N 30	16	46	
		% 65.2%	34.8%	100.0%	

Nakon podele načina samoubistva na visoko- i niskoletalne uočeno je da su visokoletalni značajno češći, ali učestalost među polovima nije dala statistički značajnu razliku (Grafikoni 8 i 9).



Grafikon 8. Učestalost načina samoubistava prema letalnosti



Grafikon 9. Učestalost visoko- i niskoletalnih načina samoubistva prema polu

Ispitivanjem odnosa broja prethodnih pokušaja na letalnost poslednjeg načina suicida uočeno je da se HLM završavaju značajno češće na jednom pokušaju ($p=0,043$) (Tabela 10).

Tabela 10. Povezanost broja prethodnih pokušaja samoubistva i letalnosti poslednjeg

			Letalnost		Total
			niskoletalni	visokoletalni	
Broj ranijih pokušaja	0	N (%)	2 (6.7%)	28 (93.3%)	30 (100.0%)
	1	N (%)	3 (42.9%)	4 (57.1%)	7 (100.0%)
	2+	N (%)	1 (14.3%)	6 (85.7%)	7 (100.0%)
Total		N (%)	6 (13.6%)	38 (86.4%)	44 (100.0%)

Ispitivanjem uticaja alkoholisanosti u vreme umiranja na izbor HLM ili LLM za izvršenje samoubistva nisu uočene statistički značajne razlike (Tabela 11).

Tabela 11. Povezanost akutne napitosti i izbora visoko- ili niskoletalnog načina suicida

			Letalnost		Total
			niskoletalni	visokoletalni	
Alkoholisanost	Ne	N (%)	4 (10.5%)	34 (89.5%)	38 (100.0%)
	Da	N (%)	2 (28.6%)	5 (71.4%)	7 (100.0%)
Total		N (%)	6 (13.3%)	39 (86.7%)	45 (100.0%)

Kada je upoređivana srednja vrednost ekspresije ispitivanih proteina u tri izabrane strukture mozga u ispitivanoj i kontrolnoj grupi, statistički značajnu razliku dostigla je ekspresija GR u amigdalama koja je bila niža u grupi samoubistava ($p=0,016$) (Tabela 12).

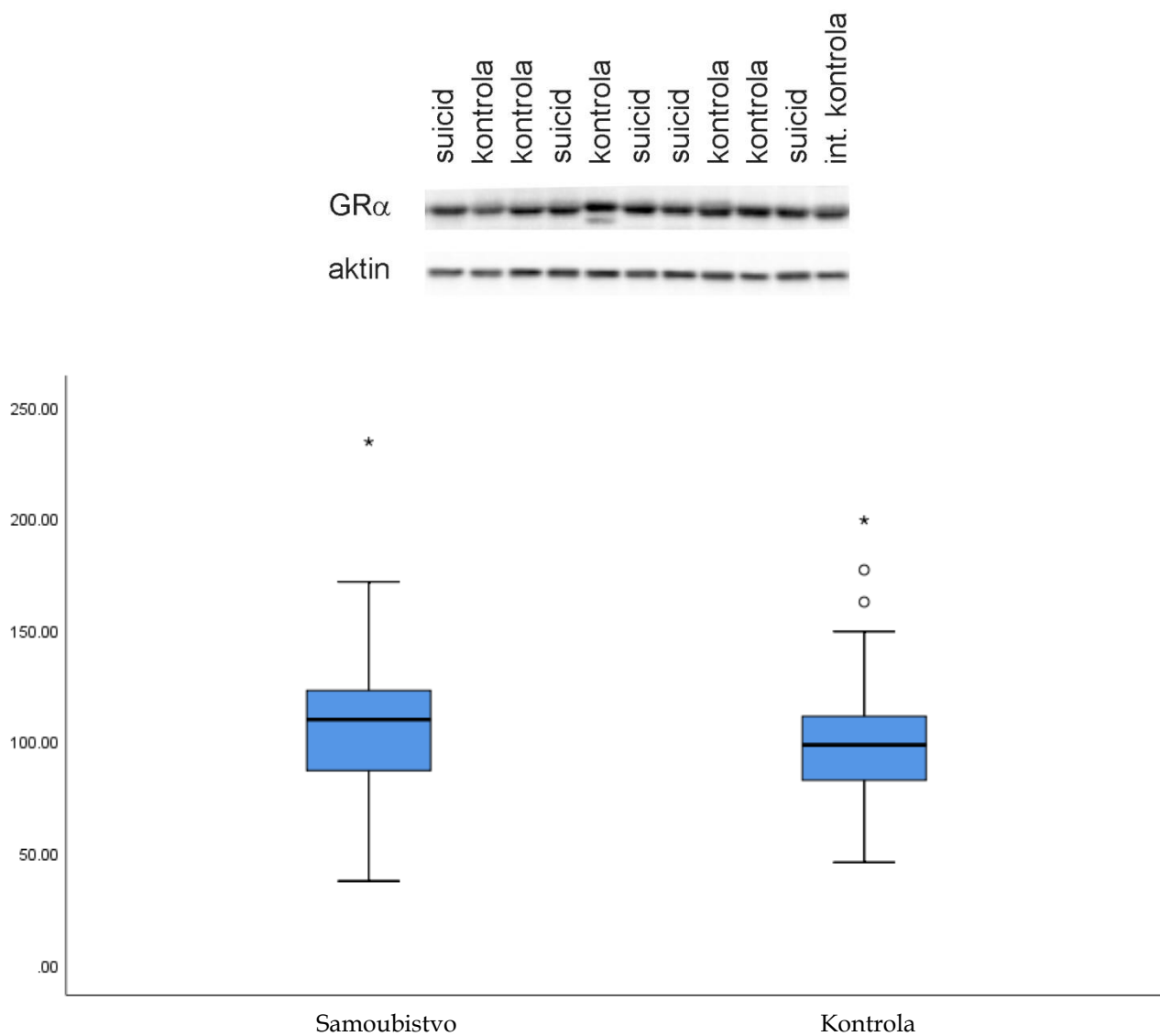
Tabela 12. Ekspresija proteina FKBP5, GR i SKA2 u izabranim strukturama mozga u grupi samoubistava i kontrolnoj grupi

		N	Srednja vrednost	Standardna greška	p vrednost
FKBP5 PFC	Samoubistvo	40	98.90	1.65	0,743
	Kontrola	40	100.00	1.68	
GR PFC	Samoubistvo	40	109.13	3.90	0,243
	Kontrola	40	100.00	3.94	
SKA2 PFC	Samoubistvo	32	94.49	2.50	0,277
	Kontrola	31	100.00	2.54	
FKBP5 AMG	Samoubistvo	37	97.64	1.57	0,449
	Kontrola	37	100.00	1.54	
GR AMG	Samoubistvo	37	83.32	3.50	0,016*
	Kontrola	37	100.00	3.51	
SKA2 AMG	Samoubistvo	29	96.65	1.76	0,337
	Kontrola	28	100.00	1.76	
FKBP5 HC	Samoubistvo	41	94.09	4.98	0,552
	Kontrola	40	100.00	4.92	
GR HC	Samoubistvo	41	88.19	5.05	0,240
	Kontrola	40	100.00	5.00	
SKA2 HC	Samoubistvo	28	96.84	2.57	0,536
	Kontrola	30	100.00	2.53	

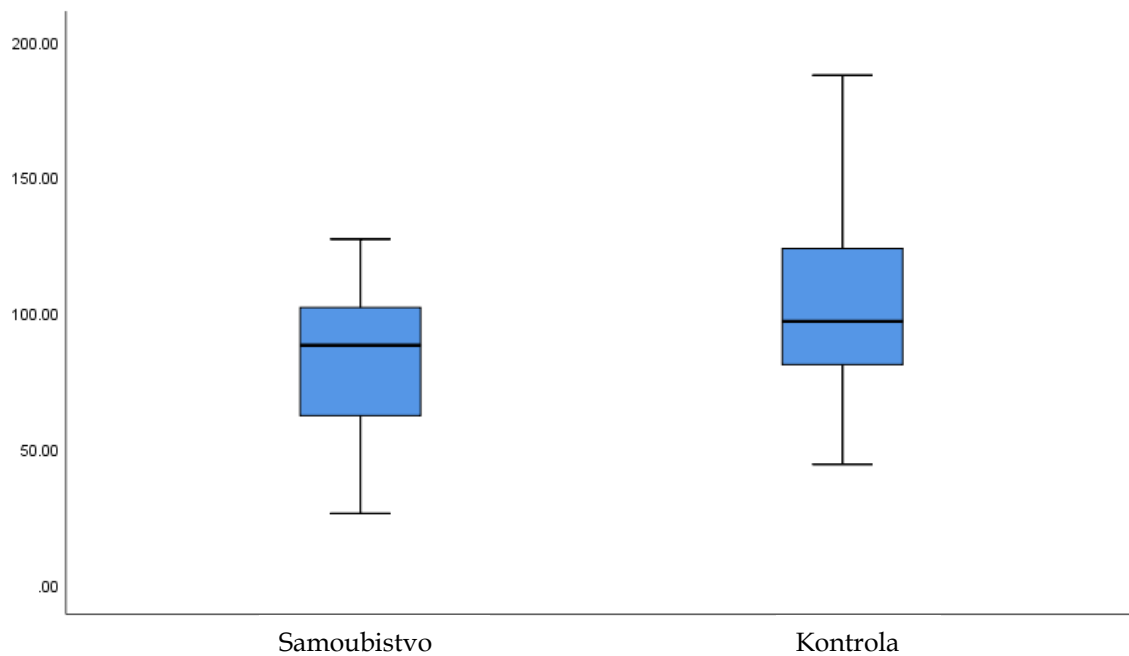
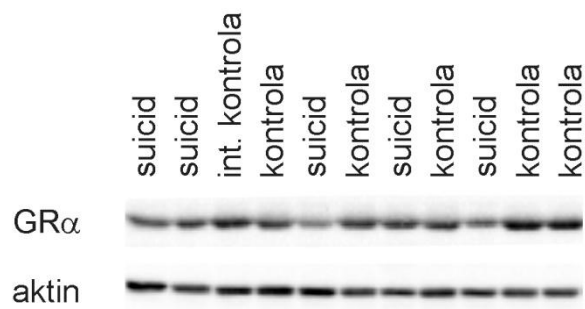
Rezultati su prikazani u odnosu na ekspresiju proteina u kontrolnoj grupi koja je svedena na 100%.

* $p < 0.05$

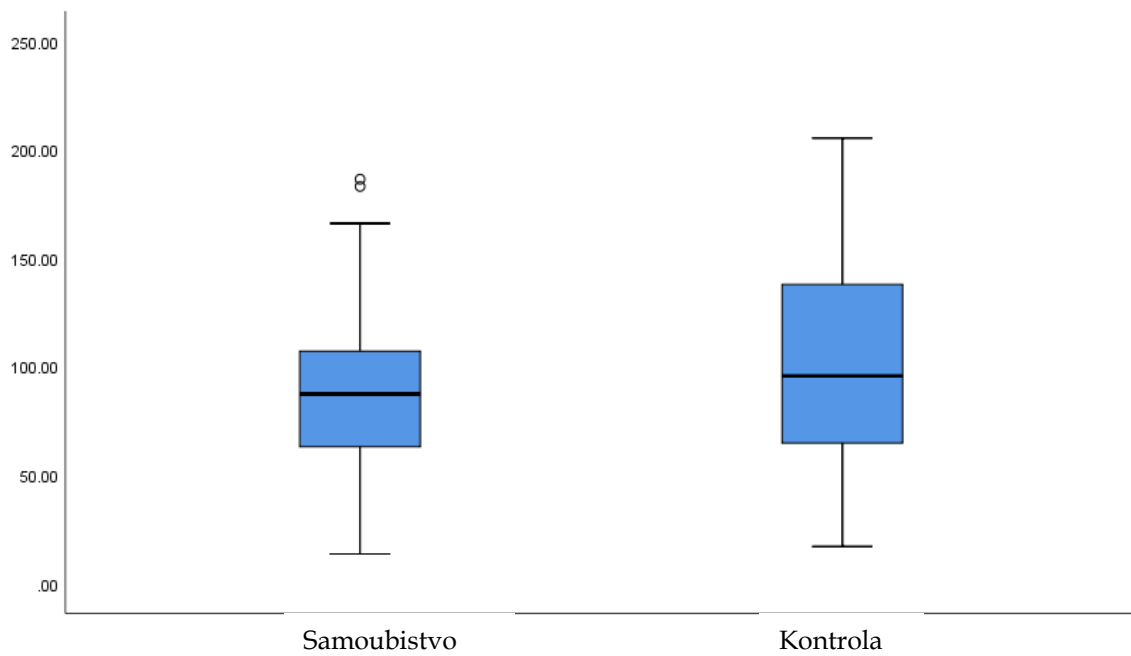
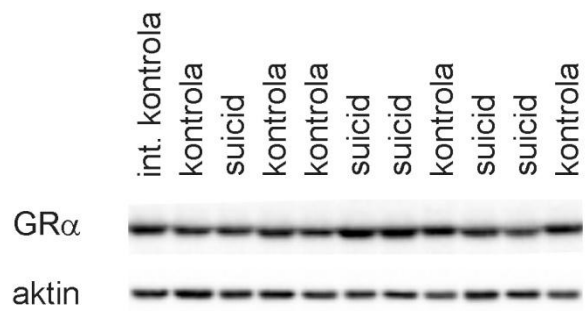
Grafikonima 10 do 18 prikazana je razlika u ekspresiji proteina u ispitivanim strukturama mozga u grupi slučajeva i kontrolnoj grupi, kao i slike reprezentativnih imunoblotova dobijenih metodom *Western blot*. U gornjoj liniji su prikazani denzitometrijski signali proteina od interesa, a u donjoj odgovarajući signal poreklom β -aktina. Neobične vrednosti (engl. *outlier*) su sve vrednosti koje su od ivica kutije udaljene više od 1,5, a manje od 3 dužine kutije (interkvartilnog opsega) i na grafikonima su označene sa $^{\circ}$. Ekstremne vrednosti su one koje su od ivice kutije udaljene više od 3 njene dužine i na grafikonima su obeležene sa $*$.



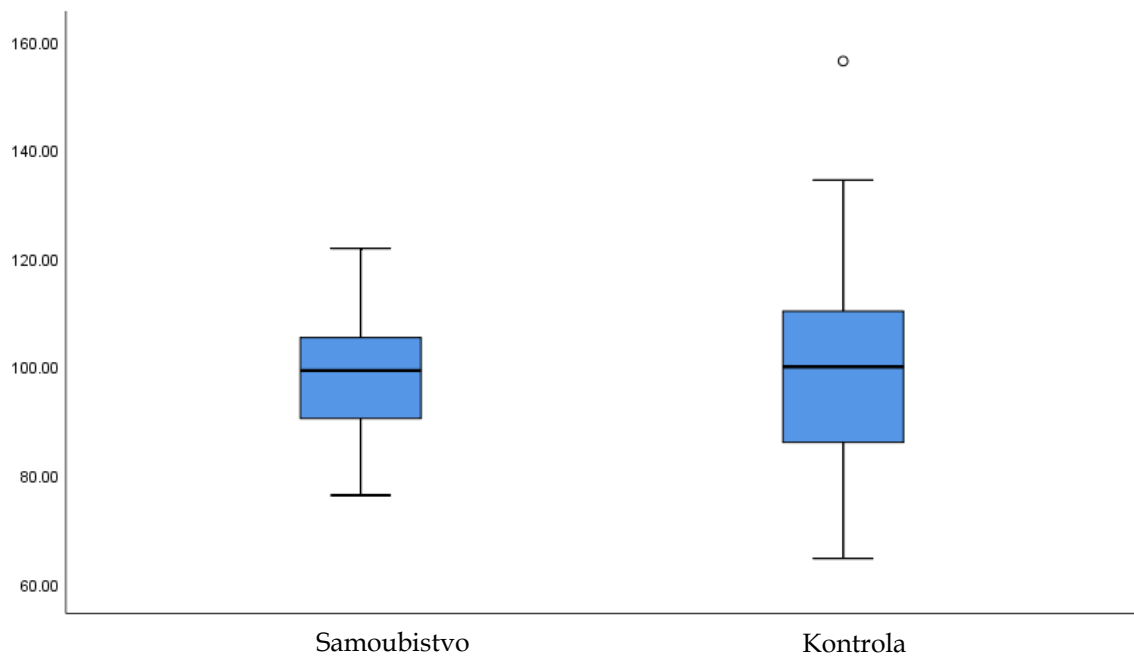
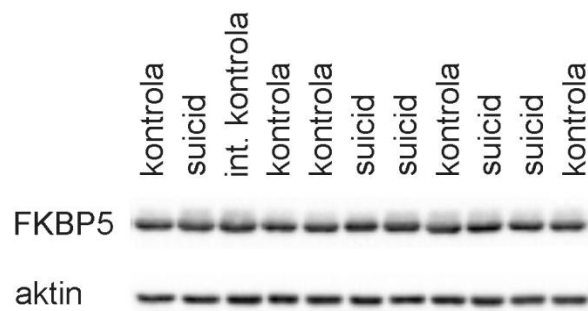
Grafikon 10. Ekspresija proteina GR u prefrontalnom korteksu
 Rezultati su prikazani u odnosu na ekspresiju proteina u kontrolnoj grupi koja je
 svedena na 100%. $p=0,243$
 ° neobična vrednost (*outlier*); * ekstremna vrednost



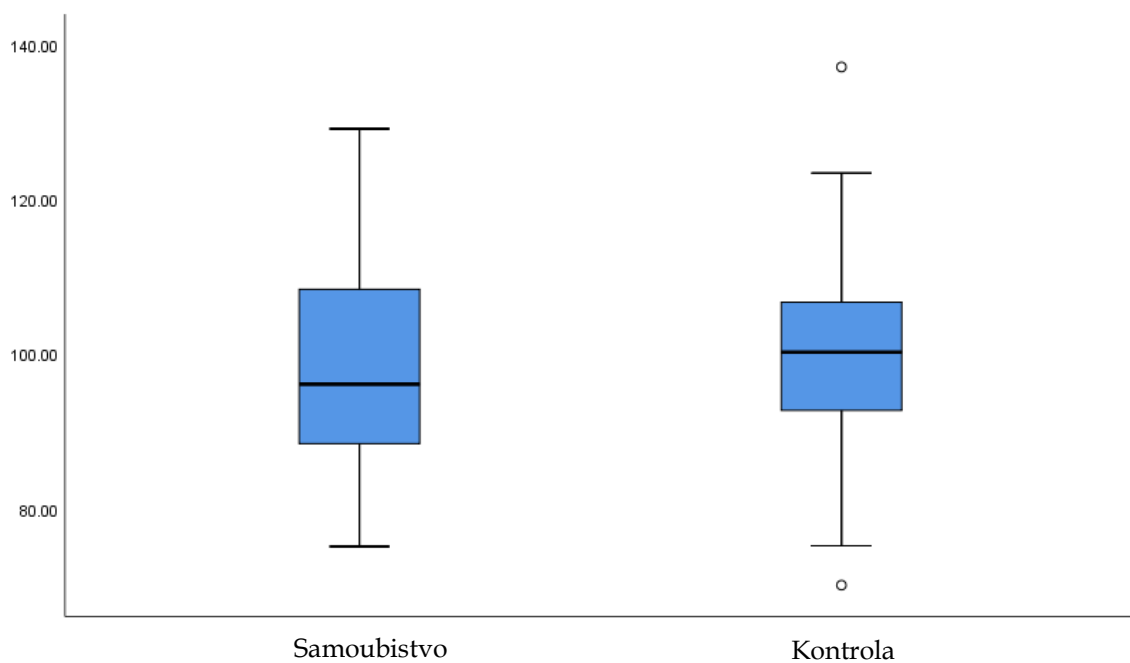
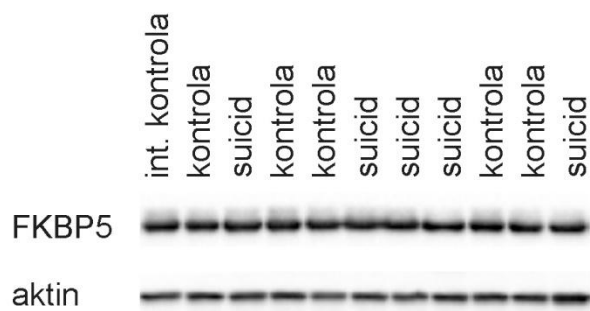
Grafikon 11. Ekspresija proteina GR u amigdalama
 Rezultati su prikazani u odnosu na ekspresiju proteina u kontrolnoj grupi koja je
 svedena na 100%. $p=0,016$



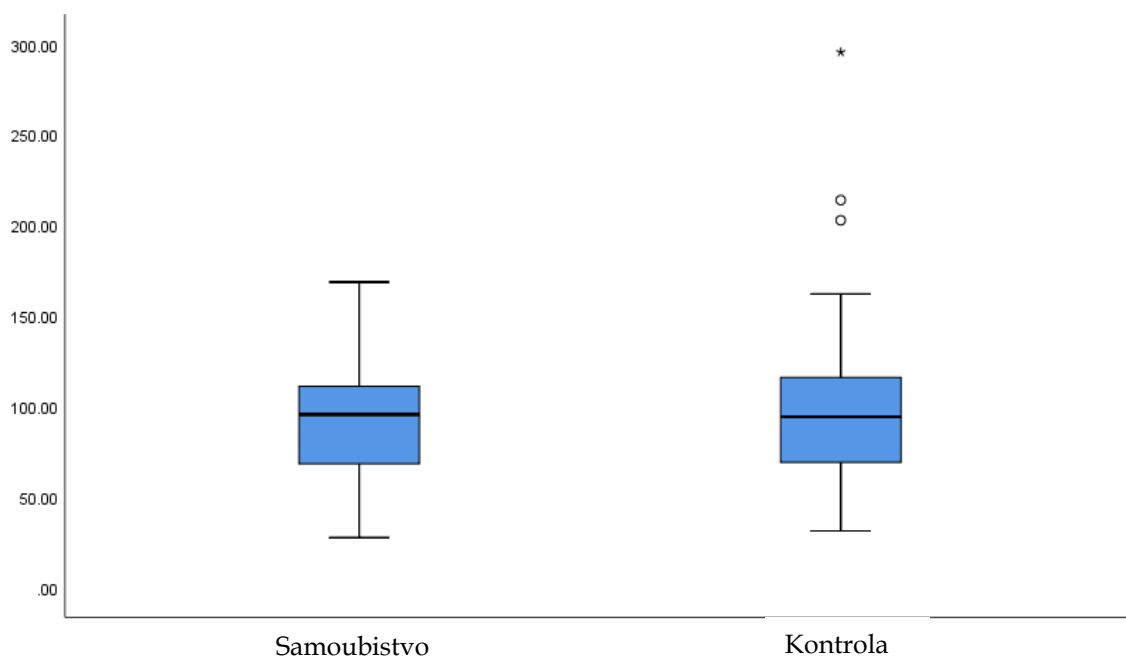
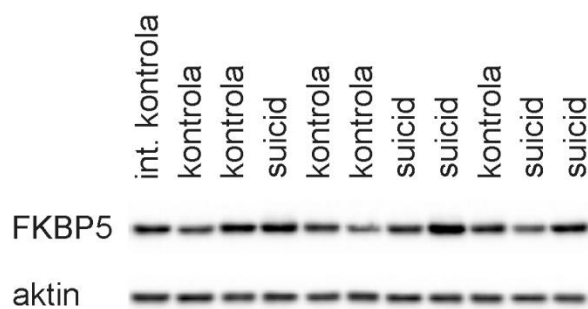
Grafikon 12. Ekspresija proteina GR u hipokampusu
 Rezultati su prikazani u odnosu na ekspresiju proteina u kontrolnoj grupi koja je svedena na 100%. $p=0,240$
 ° neobična vrednost (*outlier*)



Grafikon 13. Ekspresija proteina FKBP5 u prefrontalnom korteksu
 Rezultati su prikazani u odnosu na ekspresiju proteina u kontrolnoj grupi koja je
 svedena na 100%. $p=0,743$
 ° neobična vrednost (*outlier*)



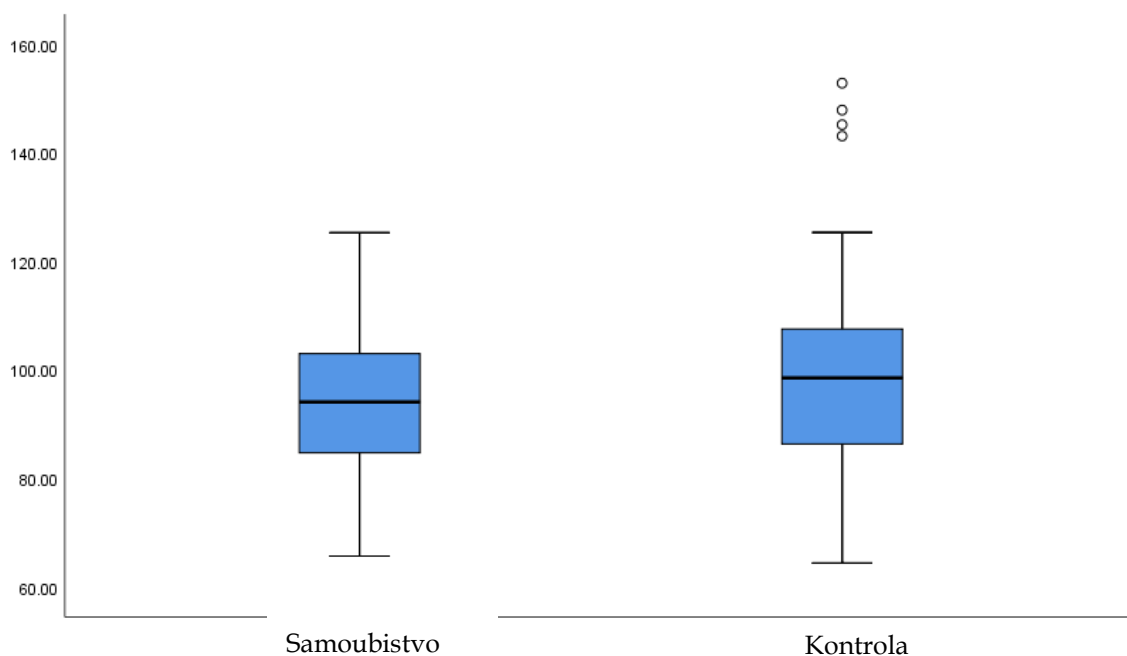
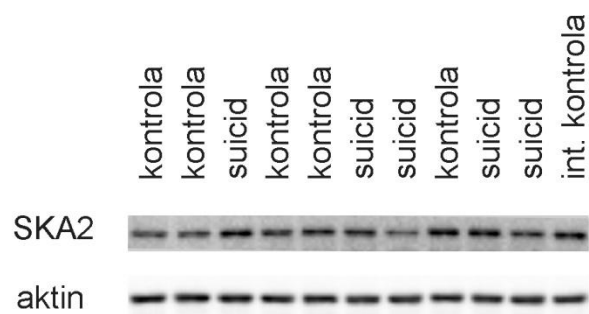
Grafikon 14. Ekspresija proteina FKBP5 u amigdalama
 Rezultati su prikazani u odnosu na ekspresiju proteina u kontrolnoj grupi koja je svedena na 100%. $p=0,449$
 ° neobična vrednost (*outlier*)



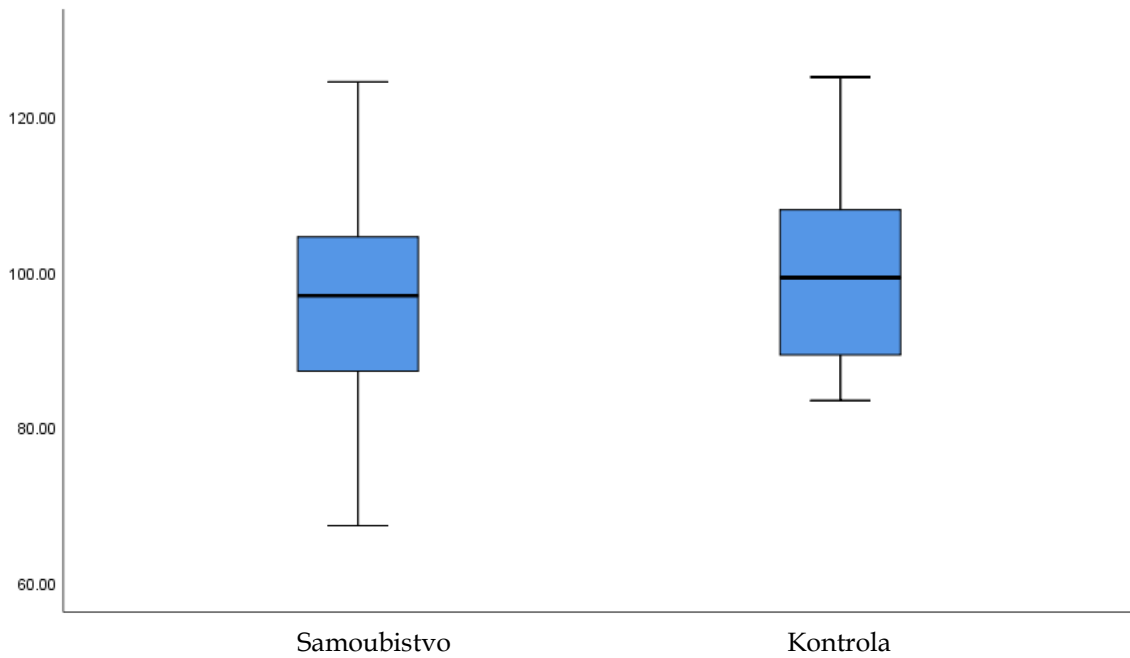
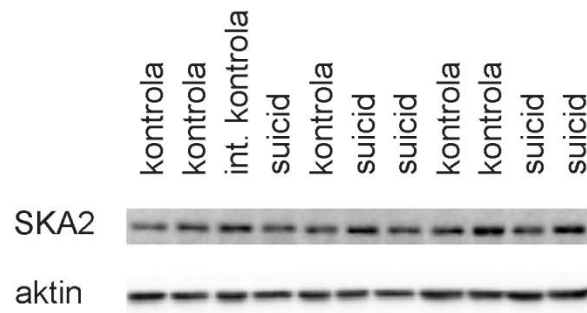
Grafikon 15. Ekspresija proteina FKBP5 u hipokampusu

Rezultati su prikazani u odnosu na ekspresiju proteina u kontrolnoj grupi koja je svedena na 100%. $p=0,552$

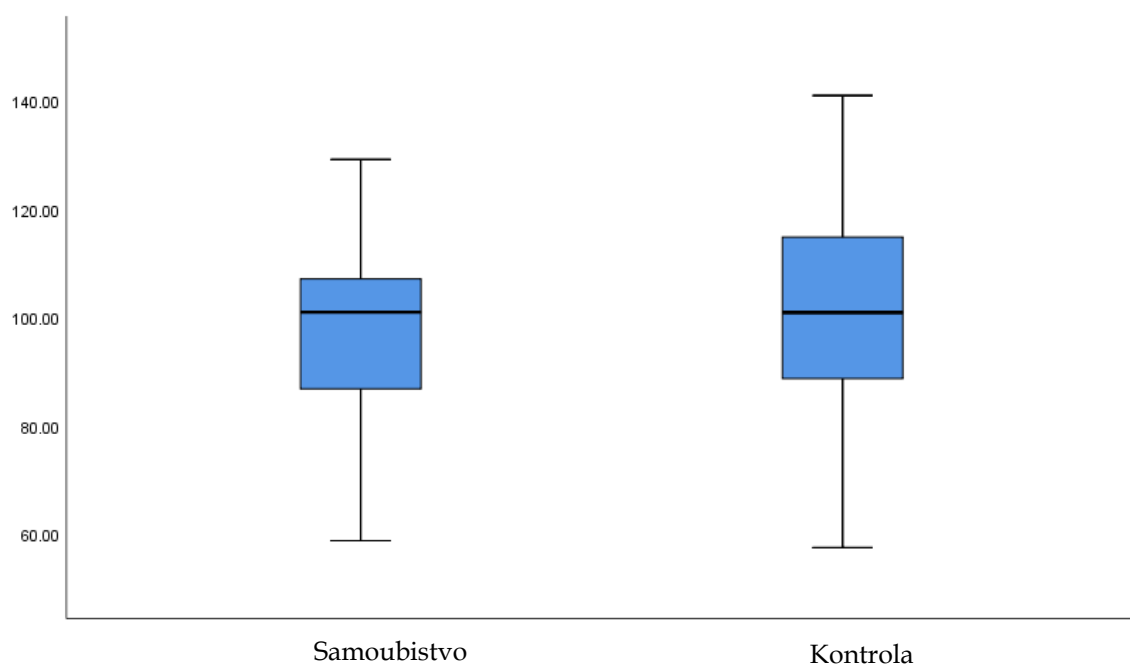
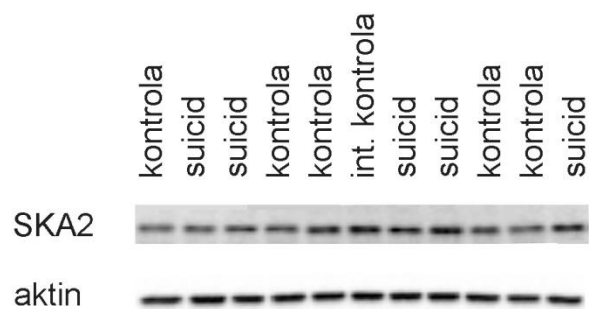
° neobična vrednost (*outlier*); * ekstremna vrednost



Grafikon 16. Ekspresija proteina SKA2 u prefrontalnom korteksu
 Rezultati su prikazani u odnosu na ekspresiju proteina u kontrolnoj grupi koja je
 svedena na 100%. $p=0,277$
 ° neobična vrednost (*outlier*)



Grafikon 17. Ekspresija proteina SKA2 u amigdalama
 Rezultati su prikazani u odnosu na ekspresiju proteina u kontrolnoj grupi koja je
 svedena na 100%. $p=0,337$



Grafikon 18. Ekspresija proteina SKA2 u hipokampusu
 Rezultati su prikazani u odnosu na ekspresiju proteina u kontrolnoj grupi koja je svedena na 100%. $p = 0,536$

Testiranjem odnosa prisustva/odsustva psihijatrijskog oboljenja u odnosu na ekspresiju ispitivanih proteina nije uočena statistička značajnost (Tabela 13).

Tabela 13. Uticaj ekspresije ispitivanih proteina na prisustvo/odsustvo psihijatrijskog oboljenja

	Prisustvo psihijatrijskog oboljenja	N	Srednja vrednost	Standardna devijacija	p vrednost
FKBP PFC	ne	34	98.79	17.10	0.721
	da	44	100.02	13.37	
GR PFC	ne	34	98.61	32.80	0.124
	da	44	110.83	35.66	
SKA2 PFC	ne	26	98.37	22.54	0.511
	da	36	95.09	16.64	
FKBP5 AMG	ne	28	99.63	11.61	0.549
	da	44	97.71	14.10	
GR AMG	ne	28	95.30	33.05	0.506
	da	44	90.42	28.28	
SKA2 AMG	ne	19	100.09	10.31	0.482
	da	36	97.45	14.39	
FKBP5 HC	ne	30	98.63	55.94	0.619
	da	49	93.66	32.88	
GR HC	ne	30	98.16	48.39	0.414
	da	49	89.82	40.70	
SKA2 HC	ne	19	95.48	20.32	0.495
	da	37	99.13	18.03	

Kada su upoređivane ekspresije proteina između različitih kategorija psihijatrijskih oboljenja (Tabela 14) uočeno je da je u osoba sa depresivno-anksioznim stanjima snižena ekspresija GR u PFC u odnosu na one bez oboljenja ($p=0,041$), a ekspresija GR u amigdalama snižena u odnosu na one sa psihozama ($p=0,046$) (Tabela 15).

Tabela 14. Ekspresija ispitivanih proteina u izabranim srkturama mozga po kategorijama psihijatrijskih oboljenja

		N	Srednja vrednost	Standardna devijacija
FKBP PFC	Bez psihijatrijskog oboljenja	34	98.79	17.10
	Bolesti zavisnosti	8	103.06	23.95
	Psihoze	8	96.97	5.88
	Depresivno-anksiozna stanja	12	99.55	8.27
	psihijatrijski komorbiditet	16	100.38	12.96
GR PFC	Bez psihijatrijskog oboljenja	34	98.61	32.80
	Bolesti zavisnosti	8	111.45	37.99
	Psihoze	8	110.13	35.87
	Depresivno-anksiozna stanja	12	122.71	23.27
	psihijatrijski komorbiditet	16	101.95	42.14
SKA2 PFC	Bez psihijatrijskog oboljenja	26	98.37	22.54
	Bolesti zavisnosti	7	87.13	16.10
	Psihoze	7	87.01	19.64
	Depresivno-anksiozna stanja	8	97.06	9.38
	psihijatrijski komorbiditet	14	101.97	16.67
FKBP5 AMG	Bez psihijatrijskog oboljenja	28	99.63	11.61
	Bolesti zavisnosti	9	96.67	21.05
	Psihoze	7	101.68	7.51
	Depresivno-anksiozna stanja	12	96.95	9.80
	psihijatrijski komorbiditet	16	97.13	15.24
GR AMG	Bez psihijatrijskog oboljenja	28	95.30	33.05
	Bolesti zavisnosti	9	97.61	16.23
	Psihoze	7	113.93	40.23
	Depresivno-anksiozna stanja	12	85.67	24.47
	psihijatrijski komorbiditet	16	79.64	25.18
SKA2 AMG	Bez psihijatrijskog oboljenja	19	100.09	10.31
	Bolesti zavisnosti	7	101.37	17.90
	Psihoze	6	97.02	18.73
	Depresivno-anksiozna stanja	9	92.91	9.91
	psihijatrijski komorbiditet	14	98.60	13.78
FKBP5 HC	Bez psihijatrijskog oboljenja	30	98.63	55.94
	Bolesti zavisnosti	11	79.59	25.46
	Psihoze	7	90.42	38.02
	Depresivno-anksiozna stanja	15	99.94	34.73
	psihijatrijski komorbiditet	16	98.85	33.23
GR HC	Bez psihijatrijskog oboljenja	30	98.16	48.39
	Bolesti zavisnosti	11	82.77	44.90
	Psihoze	7	92.99	39.86
	Depresivno-anksiozna stanja	15	94.54	36.03
	psihijatrijski komorbiditet	16	88.85	45.22
SKA2 HC	Bez psihijatrijskog oboljenja	19	95.48	20.32
	Bolesti zavisnosti	9	107.87	19.95
	Psihoze	6	95.50	20.19
	Depresivno-anksiozna stanja	11	92.36	17.84
	psihijatrijski komorbiditet	11	100.73	14.16

Tabela 15. Povezanost ekspresije ispitivanih proteina i različitih kategorija psihijatrijskog oboljenja

Ekspresija proteina u moždanoj strukturi	Psihijatrijsko oboljenje	Bez ψ oboljenja	Bolesti zavisnosti	Psihoze
		p vrednost	p vrednost	p vrednost
FKBP5 PFC	Bolesti zavisnosti	0.480		
	Psihoze	0.764	0.430	
	Depresivno-anksiozna stanja	0.882	0.618	0.713
GR PFC	Bolesti zavisnosti	0.348		
	Psihoze	0.399	0.939	
	Depresivno-anksiozna stanja	0.041*	0.477	0.428
SKA2 PFC	Bolesti zavisnosti	0.172		
	Psihoze	0.168	0.991	
	Depresivno-anksiozna stanja	0.866	0.319	0.313
FKBP5 AMG	Bolesti zavisnosti	0.566		
	Psihoze	0.719	0.461	
	Depresivno-anksiozna stanja	0.565	0.961	0.462
GR AMG	Bolesti zavisnosti	0.837		
	Psihoze	0.137	0.273	
	Depresivno-anksiozna stanja	0.344	0.358	0.046*
SKA2 AMG	Bolesti zavisnosti	0.829		
	Psihoze	0.625	0.560	
	Depresivno-anksiozna stanja	0.188	0.213	0.560
FKBP5 HC	Bolesti zavisnosti	0.217		
	Psihoze	0.653	0.607	
	Depresivno-anksiozna stanja	0.924	0.241	0.633
GR HC	Bolesti zavisnosti	0.330		
	Psihoze	0.783	0.636	
	Depresivno-anksiozna stanja	0.798	0.507	0.940
SKA2 HC	Bolesti zavisnosti	0.108		
	Psihoze	0.998	0.215	
	Depresivno-anksiozna stanja	0.662	0.071	0.742

* $p < 0,05$

Ispitivanjem uticaja nivoa ekspresije proteina na izbor načina samoubistva uočili smo značajno nižu ekspresiju proteina FKBP5 u tkivu hipokampusu kod osoba koje su izabrale visokoletalni metod suicida ($t=2,154$, $p=0,038$) (Tabela 16).

Tabela 16. Uticaj ekspresije ispitivanih proteina na odabir nisko- ili visokoletalnog načina samoubistva

		N	Srednja vrednost	Standardna devijacija	p vrednost
FKBP PFC	niskoletalni	5	100.50	7.11	0.727
	visokoletalni	35	98.67	11.24	
GR PFC	niskoletalni	5	108.77	35.59	0.980
	visokoletalni	35	109.19	35.53	
SKA2 PFC	niskoletalni	3	108.71	15.01	0.098
	visokoletalni	29	93.02	15.15	
FKBP5 AMG	niskoletalni	5	98.24	15.10	0.925
	visokoletalni	31	97.64	12.80	
GR AMG	niskoletalni	5	87.21	18.48	0.713
	visokoletalni	31	82.33	28.25	
SKA2 AMG	niskoletalni	4	96.95	12.38	0.964
	visokoletalni	25	96.61	13.97	
FKBP5 HC	niskoletalni	6	120.86	21.64	0.038*
	visokoletalni	34	89.99	33.70	
GR HC	niskoletalni	6	91.20	21.27	0.835
	visokoletalni	34	87.38	43.42	
SKA2 HC	niskoletalni	6	94.58	19.39	0.730
	visokoletalni	22	97.45	17.50	

* $p < 0.05$

Ispitivanjem povezanosti genotipova ispitivanih polimorfizama sa poreklom smrti u uzorku ove studije nisu uočene statistički značajne razlike (Tabela 17).

Tabela 17. Test asocijacije genotipova ispitivanih polimorfizam u genima *FKBP5*, *SKA2* i *NR3C1* sa poreklom smrti

SNP	Test za odstupanje od HWE		Test povezanosti (C.I.: 95% interval poverenja)			
	Kontrole	Suicidi	razlika u fr. alela	heterozigot	homozigot	prisustvo alela
<i>FKBP5</i>	N (CC)=22 N (CT)=17 N (TT)=1 fr alelaC=0.76 +/-0.043 p=0.410099 (Exact)	N (CC)=18 N (CT)=25 N (TT)=1 fr alelaC=0.69 +/-0.040 p=0.036823 (Exact)	ALEL T			
			C vs. T	CC vs. CT	CC vs. TT	CC vs. CT+TT
			OR= 1.421 C.I.=[0.716- 2.821] $\chi^2=1.01$ p=0.31427	OR=1 .797 C.I.=[0.748- 4.317] $\chi^2=1.73$ p=0.18805	OR= 1.222 C.I.=[0.071- 20.939] $\chi^2=0.02$ p=0.88973	OR=1 .765 C.I.=[0.743- 4.195] $\chi^2=1.67$ p=0.19655
			ALEL C			
			T vs. C	TT vs. CT	TT vs. CC	CC+CT vs. TT
			OR=0.704 C.I.=[0.354- 1.397] $\chi^2=1.01$ p=0.31427	OR= 1.471 C.I.=[0.086- 25.157] $\chi^2=0.07$ p=0.78898	OR=0.818 C.I.=[0.048- 14.017] $\chi^2=0.02$ p=0.88973	OR=1.103 C.I.=[0.067- 18.231] $\chi^2=0.00$ p=0.94560
<i>SKA2</i>	N (GG)=20 N (AG)=15 N (AA)=4 fr alelaG=0.71 +/-0.054 p=0.701499 (Exact)	N (GG)=24 N (AG)=11 N (AA)=8 fr alelaG=0.69 +/-0.059 p=0.010953 (Exact)	ALEL A			
			G vs. A	GG vs. AG	GG vs. AA	GG vs. AG+AA
			OR= 1.094 C.I.=[0.562 - 2.131] $\chi^2=0.07$ p=0.79094	OR=0.611 C.I.=[0.230- 1.626] $\chi^2=0.98$ p=0.32244	OR=1 .667 C.I.=[0.437- 6.358] $\chi^2=0.57$ p=0.45199	OR=0.833 C.I.=[0.349- 1.989] $\chi^2=0.17$ p=0.68108
			ALEL G			
			A vs. G	AA vs. AG	GG vs. AA	GG+AG vs. AA
			OR=0.914 C.I.=[0.469- 1.780] $\chi^2=0.07$ p=0.79094	OR=0.367 C.I.=[0.088- 1.533] $\chi^2=1.95$ p=0.16273	OR=0.600 C.I.=[0.157- 2.289] $\chi^2=0.57$ p=0.45199	OR=0.500 C.I.=[0.138- 1.814] $\chi^2=1.14$ p=0.28546
<i>NR3C1</i>	N (GG)=24 N (GC)=17 N (CC)=3 fr alelaG=0.74 +/-0.047 p=1.000000 (Exact)	N (GG)=17 N (GC)=24 N (CC)=4 fr alelaG=0.64 +/-0.046 p=0.346779 (Exact)	ALEL C			
			G vs. C	GG vs. GC	GG vs. CC	GG vs. GC+CC
			OR=1.559 C.I.=[0.820-2.963] $\chi^2=1.85$ p=0.17392	OR=1.993 C.I.=[0.828-4.799] $\chi^2=2.39$ p=0.12209	OR=1.882 C.I.=[0.372-9.519] $\chi^2=0.60$ p=0.43961	OR=1.976 C.I.=[0.848-4.605] $\chi^2=2.52$ p=0.11259
			ALEL G			
			C vs. G	CC vs. GC	CC vs. GG	GG+GC vs. CC
			OR=0.641 C.I.=[0.337-1.219] $\chi^2=1.85$ p=0.17392	OR=1.059 C.I.=[0.209-5.354] $\chi^2=0.00$ p=0.94489	OR=0.531 C.I.=[0.105-2.687] $\chi^2=0.60$ p=0.43961	OR=0.750 C.I.=[0.158-3.563] $\chi^2=0.13$ p=0.71674

Testiranjem uticaja genotipova ispitivanih polimorfizama na ekspresiju odgovarajućih proteina nije uočeno postojanje interakcije. Međutim, pored već uočene razlike u ekspresiji proteina GR u amigdalama između posmatrane i kontrolne grupe, uočena je i povezanost ekspresije proteina FKBP5 u PFC sa rizičnim genotipom (CT+TT) nezavisno od ovih grupa ($p=0,038$) (Tabela 18).

Tabela 18. Uticaj genotipova polimorfizama ispitivanih gena na ekspresiju ispitivanih proteina po strukturama mozga i njihova interakcija

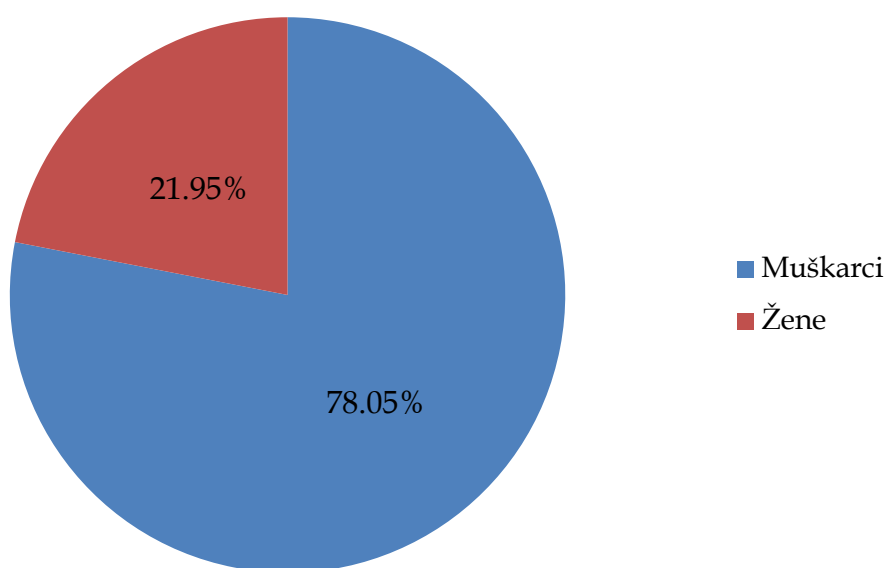
		PFC			AMIGDALE			HIPOKAMPUS		
		Kontrola (K)	Suicid (S)	p od genotip	Kontrola (K)	Suicid (S)	p od genotip	Kontrola (K)	Suicid (S)	p od genotip
<i>NR3C1/GR</i>	GG	102.33±40.97 n=19	100.80±27.00 n=16	0.54	104.38±35.51 n=19	76.95±30.59 n=16	0.70	101.74±48.84 n=21	78.27±45.70 n=15	0.79
	GC + CC	99.51±27.75 n=20	113.46±39.52 n=23		98.38±25.56 n=16	88.28±23.35 n=20		94.31±47.35 n=17	91.03±33.95 n=25	
	svi	100.00±34.40 n=40	109.13±35.08 n=40		100.00±31.21 n=37	83.32±26.64 n=37		100.00±49.25 n=40	88.19±40.20 n=41	
p od K vs. S		0.44		0.34*	0.0088		0.22*	0.19		0.32*
<i>FKBP5/FKBP5</i>	CC	105.59±22.11 n=18	100.16±12.05 n=14	0.038	101.44±18.04 n=16	92.95±12.41 n=14	0.761	89.15±43.41 n=19	94.71±28.42 n=15	0.767
	CT+TT	93.08±12.58 n=17	97.67±10.34 n=24		96.92±6.74 n=15	99.40±11.10 n=21		94.66±35.28 n=16	94.45±38.19 n=24	
	svi	100.00±18.20 n=40	98.90±10.76 n=40		100.00±13.88 n=37	97.64±12.73 n=37		100±53.37 n=40	94.09±33.59 n=41	
p od K vs. S		0.905		0.16*	0.345		0.09*	0.762		0.74*
<i>SKA2/SKA2</i>	AA	100.66±25.78 n=13	96.17±15.76 n=15	0.994	102.29±12.20 n=10	97.32±13.85 n=14	0.708	97.77±21.67 n=12	99.61±19.68 n=12	0.865
	AG + GG	103.37±24.16 n=13	93.38±16.23 n=16		101.47±13.31 n=13	9885.29±13.40 n=13		98.87±21.90 n=15	96.66±14.15 n=14	
	svi	100.00±23.57 n=31	94.49±15.60 n=32		100.00±12.49 n=28	96.65±13.56 n=29		100.00±20.85 n=30	96.84±17.58 n=28	
p od K vs. S		0.191		0.62*	0.148		0.87*	0.972		0.71*

* p vrednost iz ANOVA za interakciju genotip x poreklo

4.2. Rezultati studije slučajeva i kontrola za ispitivanje prisustva varijanti polimorfizama gena NR3C1, FKBP5 i SKA2

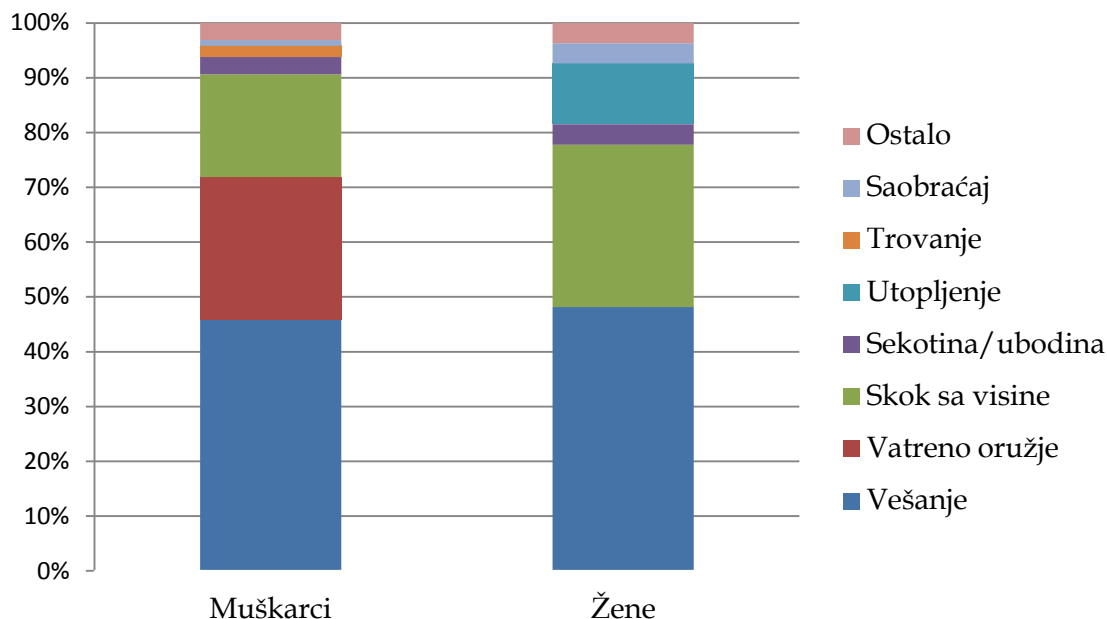
Na Institutu za sudsku medicinu Medicinskog fakulteta u Beogradu tokom 2017. godine obdukovan je 141 slučaj samoubistva. Nakon isključivanja slučajeva kod kojih je sačuvani DNK materijal bio neadekvatan ili je nedostajao, konačni uzorak za studiju slučajeva i kontrola kojom se analizira učestalost varijanti polimorfizama u genima NR3C1, FKBP5 i SKA2 kod žrtava suicida i osoba koje su umrle na drugi način činila su 123 suicida i 141 kontrola koje su uparene po polu i godinama. Prosečna starost u oba pola bila je $56,95 \pm 18,8$ godina, i to kod muškaraca $56,95 \pm 18,9$, a kod žena $57,43 \pm 18,6$.

Kada je u grupi izvršilaca samoubistva ispitivana raspodela po polu uočeno je da su značajno veći udeo činili muškarci i to 78% (Grafikon 19).



Grafikon 19. Distribucija samoubistava po polu

U raspodeli ispitanika prema načinu samoubistva po polu uočava se da je najčešće birani metod vešanje, i to u oba pola. Kod žena slede skok sa visine i utopljenje, a kod muškaraca vatreno oružje i skok sa visine (Grafikon 20).



Grafikon 20. Distribucija načina samoubistava po polu

Ispitivanjem učestalosti psihijatrijskih oboljenja u posmatranoj i kontrolnoj grupi ustanovljeno je da je ova grupa oboljenja zastupljenija u izvršilaca samoubistva (Tabela 19).

Tabela 19. Učestalost psihijatrijskih oboljenja u grupi samoubistva i kontrola

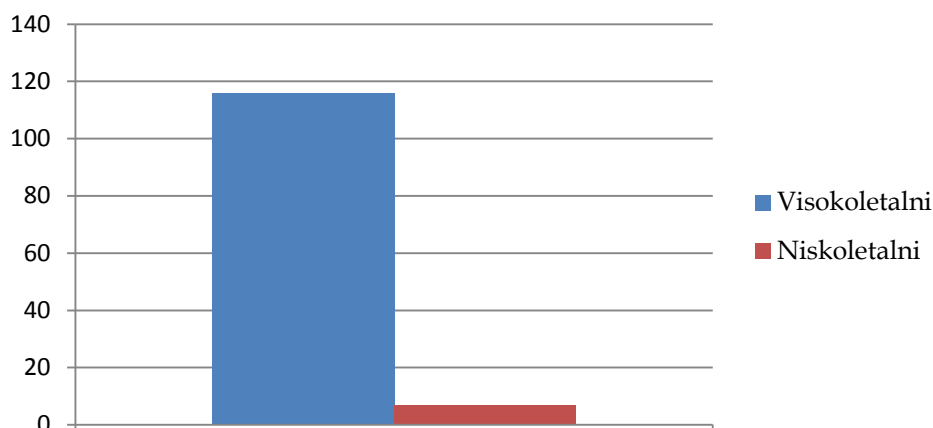
Psihijatrijsko oboljenje		Samoubistvo		Kontrola	
		N	%	N	%
Da		68	57.12%	20	15.75%
	Ne	51	42.88%	107	84.25%
Ukupno		119	100.00%	127	100.00%

U grupi osoba koje su izvršile samoubistvo nije bilo upadljivih razlika između polova u učestalosti alkoholisanosti. Izvršioци samoubistva znatno češće nisu bili pod uticajem alkohola (Tabela 20).

Tabela 20. Učestalost akutne napolitosti u grupi samoubistava po polovima

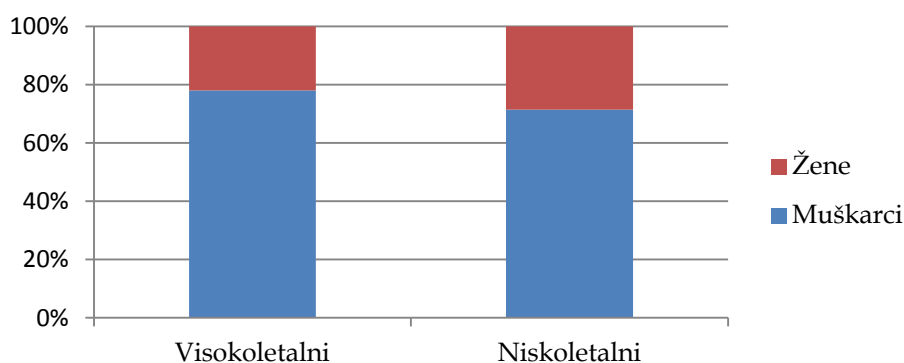
		Muškarci		Žene	
		N	%	N	%
Alkoholemija $\geq 0.3\text{mg/mL}$	Ne	72	81.82%	20	83.33%
	Da	16	18.18%	4	16.67%
	Ukupno	88	100.00%	24	100.00%

U ispitivanom jednogodišnjem uzorku samoubistava uočeno je da su visokoletalni načini suicida značajno češći izbor među ispitanicima (Grafikon 21).



Grafikon 21. Učestalost visoko- i niskoletalnih načina samoubistva u grupi samoubistava

Nakon podele uzorka prema polovima, razlika u izboru načina samoubistva u smislu letalnosti nije dala upadljive razlike (Grafikon 22). U ovom konkretnom uzorku svega četiri osobe su izvršile suicide trovanjem i sve su bile muškog pola.



Grafikon 22. Učestalost visoko- i niskoletalnih načina samoubistva prema polu u grupi samoubistava

Testiranjem povezanosti ispitivanih polimorfizama u izabranim genima sa poreklom smrti, uočeno je da prisustvo C alela u rs41423247 povećava rizik za suicid 3,48 puta ($p=1,373 \times 10^{-6}$). U ostalim genima nije pronađena statistička značajnost (Tabela 21). Za sve ispitivane genske polimorfizme, izuzev za kontrolni uzorak za *NR3C1*, ispunjeni su kriterijumi za Hardi-Vajnbergovu ravnorežu (Hardy-Weinberg ekvilibrijum - HWE). Ovo ispadanje iz HWE za jedan gen u jednoj ispitivanoj grupi može se objasniti brojem ispitivanih polimorfizama. Imajući u vidu da su tri gena ispitivana u dve grupe, kao odlučujući nivo značajnosti se ne može uzeti verovatnoća manja od 5%, već verovatnoća manja od 0,8%, što nijedan ispitivani polimorfizam ni u jednoj populaciji nije dostigao. Uočeni višak homozigota GG u genu *NR3C1* ne može se objasniti asocijacijom ovog

polimorfizma sa određenim poreklom smrti s obzirom na to da su u kontrolnoj grupi ravnomerno zastupljena ostala porekla smrti. Uzorci za kontrolnu grupu su selektovani tako da po polu, etničkom poreklu i uzrasnoj distribuciji odgovaraju ovim parametrima iz ispitivane grupe samoubica.

Tabela 21. Test asocijacije genotipova ispitivanih polimorfizama u genima *FKBP5*, *SKA2* i *NR3C1* sa poreklom smrti

SNP	Test za odstupanje od HWE		Test povezanosti (C.I.: 95% interval poverenja)			
	Kontrole	Suicidi	razlika u fr. alela	Heterozigot	homozigot	prisustvo alela
FKBP5	N (CC)=62 N (CT)=56 N (TT)=13 Fr alelaC=0.69 +/- 0.029 p=1.000000 (Exact)	N (CC)=61 N (CT)=50 N (TT)=11 Fr alelaC=0.70 +/-0.029 p=0.830325 (Exact)	ALEL T			
			C vs. T	CC vs. CT	CC vs. TT	CC vs. CT+TT
			OR=0.919 C.I.=[0.629- 1.343] $\chi^2=0.19$ p=0.66201	OR=0.907 C.I.=[0.540- 1.526] $\chi^2=0.13$ p=0.71442	OR=0.860 C.I.=[0.358- 2.068] $\chi^2=0.11$ p=0.73606	OR=0.899 C.I.=[0.549- 1.472] $\chi^2=0.18$ p=0.67094
			ALEL C			
			T vs. C	TT vs. CT	TT vs. CC	CC+CT vs. TT
			OR=1.088 C.I.=[0.745- 1.590] $\chi^2=0.19$ p=0.66201	OR=1.055 C.I.=[0.434- 2.567] $\chi^2=0.01$ p=0.90570	OR=1.163 C.I.=[0.484- 2.796] $\chi^2=0.11$ p=0.73606	OR=1.112 C.I.=[0.478- 2.585] $\chi^2=0.06$ p=0.80561
SKA2	N (GG)=19 N (AG)=57 N (GG)=55 Fr alelaG=0.36 +/-0.031 p=0.570118 (Exact)	N (GG)=15 N (AG)=52 N (GG)=51 Fr alelaG=0.35 +/-0.031 p=0.838934 (Exact)	ALEL A			
			G vs. A	GG vs. AG	GG vs. AA	GG vs. AG+AA
			OR= 1.068 C.I.=[0.740- 1.543] $\chi^2=0.12$ p=0.72453	OR=1.156 C.I.=[0.533- 2.506] $\chi^2=0.13$ p=0.71428	OR=1.175 C.I.=[0.540- 2.554] $\chi^2=0.16$ p=0.68466	OR=1.165 C.I.=[0.563- 2.412] $\chi^2=0.17$ p=0.68093
			ALEL G			
			A vs. G	AA vs. AG	GG vs. AA	GG+AG vs. AA
			OR=0.936 C.I.=[0.648- 1.352] $\chi^2=0.12$ p=0.72453	OR=0.984 C.I.=[0.576- 1.680] $\chi^2=0.00$ p=0.95240	OR=0.851 C.I.=[0.392- 1.851] $\chi^2=0.16$ p=0.68466	OR=0.951 C.I.=[0.575- 1.572] $\chi^2=0.04$ p=0.84391
NR3C1	N (GG)=83 N (GC)=43 N (CC)=14 Fr alelaG=0.75 +/-0.028 p=0.026963 (Exact)	N (GG)=36 N (GC)=64 N (CC)=22 fr alelaG =0.56 +/-0.031 p=0.582717 (Exact)	ALEL C			
			G vs. C	GG vs. GC	GG vs. CC	GG vs. GC+CC
			OR=2.338 C.I.=[1.616- 3.382] $\chi^2=20.72$ p=5.319e-06	OR=3.432 C.I.=[1.980- 5.947] $\chi^2=19.96$ p=7.918e-06	OR=3.623 C.I.=[1.668-7.871] $\chi^2=11.24$ p=0.00080	OR=3.479 C.I.=[2.079-5.821] $\chi^2=23.32$ p=1.373e-06
			ALEL G			
			C vs. G	CC vs. GC	CC vs. GG	GG+GC vs. CC
			OR=0.428 C.I.=[0.296-0.619] $\chi^2=20.72$ p=5.319e-06	OR=0.947 C.I.=[0.437-2.053] $\chi^2=0.02$ p=0.89056	OR=0.276 C.I.=[0.127-0.600] $\chi^2=11.24$ p=0.00080	OR=0.505 C.I.=[0.246-1.037] $\chi^2=3.55$ p=0.05958

Ispitivanjem povezanosti odabranih polimorfizama u izabranim genima sa prisustvom psihijatrijskog oboljenja ni za jednu varijaciju nije dostignut nivo statističke značajnosti (Tabela 22).

Tabela 22. Test asocijacije genotipova ispitivanih polimorfizama u genima *FKBP5*, *SKA2* i *NR3C1* sa prisustvom psihijatrijskog oboljenja

SNP	Test za odstupanje od HWE		Test povezanosti (C.I.: 95% interval poverenja)			
	bez ψ oboljenja	sa ψ oboljenjem	razlika u frekvenci alela	heterozigot	homozigot	prisustvo alela
SKA2	N (GG)=62 N (AG)=69 N (AA)=19 fr alelaG=0.64 +/-0.028 p=1.000000 (Exact)	N(GG)=38 N(AG)=33 N(AA)=10 fr alelaG=0.67 +/-0.038 p=0.612553 (Exact)	ALEL A			
			G vs. A	GG vs. AG	GG vs. AA	GG vs. AG+AA
			OR=0.877 C.I.=[0.585- 1.314] $\chi^2=0.40$ p=0.52475	OR=0.780 C.I.=[0.437- 1.392] $\chi^2=0.71$ p=0.40063	OR=0.859 C.I.=[0.361- 2.041] $\chi^2=0.12$ p=0.73009	OR=0.797 C.I.=[0.463- 1.374] $\chi^2=0.67$ p=0.41405
			ALEL G			
			A vs. G	AA vs. AG	GG vs. AA	GG+AG vs. AA
			OR=1.140 C.I.=[0.761- 1.708] $\chi^2=0.40$ p=0.52475	OR=0.909 C.I.=[0.380- 2.171] $\chi^2=0.05$ p=0.82936	OR=1.165 C.I.=[0.490- 2.768] $\chi^2=0.12$ p=0.73009	OR=1.030 C.I.=[0.454- 2.334] $\chi^2=0.00$ p=0.94399
NR3C1	N (GG)=73 N (GC)=64 N (CC)=20 fr alelaG=0.67 +/-0.028 p=0.366760 (Exact)	N (GG)=35 N (GC)=37 N (CC)=15 fr alelaG=0.61 +/-0.039 p=0.366954 (Exact)	ALEL C			
			G vs. C	GG vs. GC	GG vs. CC	GG vs. GC+CC
			OR=1.264 C.I.=[0.860-1.859] $\chi^2=1.43$ p=0.23239	OR=1.206 C.I.=[0.681-2.135] $\chi^2=0.41$ p=0.52055	OR=1.564 C.I.=[0.716-3.417] $\chi^2=1.27$ p=0.25989	OR=1.291 C.I.=[0.759-2.196] $\chi^2=0.89$ p=0.34516
			ALEL G			
			C vs. G	CC vs. GC	CC vs. GG	GG+GC vs. CC
			OR=0.791 C.I.=[0.538-1.163] $\chi^2=1.43$ p=0.23239	OR=0.771 C.I.=[0.353-1.685] $\chi^2=0.43$ p=0.51381	OR=0.639 C.I.=[0.293-1.396] $\chi^2=1.27$ p=0.25989	OR=0.701 C.I.=[0.338-1.451] $\chi^2=0.92$ p=0.33652
FKBP5	N (CC)=73 N (CT)=61 N (TT)=15 fr alelaC=0.69 +/-0.027 p=0.699761 (Exact)	N (CC)=40 N (CT)=37 N (TT)=9 fr alelaC=0.68 +/-0.036 p=1.000000 (Exact)	ALEL T			
			C vs. T	CC vs. CT	CC vs. TT	CC vs. CT+TT
			OR= 1.069 C.I.=[0.714- 1.602] $\chi^2=0.11$ p=0.74524	OR= 1.107 C.I.=[0.631- 1.941] $\chi^2=0.13$ p=0.72283	OR=1.095 C.I.=[0.440- 2.726] $\chi^2=0.04$ p=0.84532	OR=1.105 C.I.=[0.649- 1.880] $\chi^2=0.13$ p=0.71379
			ALEL C			
			T vs. C	TT vs. CT	TT vs. CC	CC+CT vs. TT
			OR=0.935 C.I.=[0.624- 1.401] $\chi^2=0.11$ p=0.74524 (P)	OR=1.011 C.I.=[0.402- 2.541] $\chi^2=0.00$ p=0.98156	OR=0.913 C.I.=[0.367- 2.273] $\chi^2=0.04$ p=0.84532	OR=0.958 C.I.=[0.400-2.292] $\chi^2=0.01$ p=0.92268

Testiranjem asocijacije odabranih polimorfizama u izabranim genima sa letalnošću načina samoubistva ni za jednu varijaciju nije dostignut nivo statističke značajnosti (Tabela 23).

Tabela 23. Test asocijacije genotipova ispitivanih polimorfizama u genima *FKBP5*, *SKA2* i *NR3C1* sa letalnošću izabranog načina samoubistva

SNP	Test za odstupanje od HWE		Test povezanosti (C.I.: 95% interval poverenja)			
	Niskoletalni	Visokoletalni	razlika u frekvenci alela	heterozigot	Homozigot	prisustvo alela
SKA2	N (GG)=4 N (AG)=3 N (AA)=0 fr alelaG=0.79 +/-0.094 p=1.000000 (Exact)	N (GG)=47 N (AG)=49 N (AA)=15 fr alelaG 0.64 +/-0.033 p=0.682360 (Exact)	ALEL A			
			G vs. A	GG vs. AG	GG vs. AA	GG vs. AG+AA
			OR=2.026 C.I.=[0.549-7.476] $\chi^2=1.16$ p=0.38982	OR=1.390 C.I.=[0.295- 6.546] $\chi^2=0.17$ p=0.67585	OR=2.937 C.I.=[0.150- 57.673] $\chi^2=1.25$ p=0.26310	OR=1.816 C.I.=[0.388- 8.499] $\chi^2=0.59$ p=0.44328
			ALEL G			
			A vs. G	AA vs. AG	GG vs. AA	GG+AG vs. AA
			OR=0.494 C.I.=[0.134- 1.822] $\chi^2=1.16$ p=0.38982	OR=0.456 C.I.=[0.022- 9.326] $\chi^2=0.91$ p=0.34119	OR=0.341 C.I.=[0.017- 6.687] $\chi^2=1.25$ p=0.26310	OR=0.415 C.I.=[0.023- 7.638] $\chi^2=1.08$ p=0.29787
NR3C1	N (GG)=1 N (GC)=4 N (CC)=2 fr alelaG=0.43 +/-0.121 p=1.000000 (Exact)	N (GG)=35 N (GC)=60 N (CC)=20 fr alelaG =0.57 +/-0.032 p=0.572811 (Exact)	ALEL C			
			G vs. C	GG vs. GC	GG vs. CC	GG vs. GC+CC
			OR=0.577 C.I.=[0.194-1.716] $\chi^2=1.00$ p=0.31760	OR=0.429 C.I.=[0.046-3.988] $\chi^2=0.58$ p=0.44444	OR=0.286 C.I.=[0.024-3.353] $\chi^2=1.11$ p=0.29217	OR=0.381 C.I.=[0.044-3.283] $\chi^2=0.83$ p=0.36306
			ALEL G			
			C vs. G	CC vs. GC	CC vs. GG	GG+GC vs. CC
			OR=1.733 C.I.=[0.583-5.156] $\chi^2=1.00$ p=0.31760	OR=1.500 C.I.=[0.255-8.817] $\chi^2=0.20$ p=0.65183	OR=3.500 C.I.=[0.298-41.070] $\chi^2=1.11$ p=0.29217	OR=1.900 C.I.=[0.344-10.497] $\chi^2=0.56$ p=0.45507
FKBP5	N (CC)=4 (4.32) N (CT)=3 (2.36) N (TT)=0 (0.32) fr alelaC=0.79 +/-0.094 p=1.000000 (Exact)	N (CC)=57 N (CT)=47 N (TT)=11 fr alelaC=0.70 +/-0.031 p=0.824337 (Exact)	ALEL T			
			C vs. T	CC vs. CT	CC vs. TT	CC vs. CT+TT
			OR=1.571 C.I.=[0.425- 5.809] $\chi^2=0.47$ p=0.76337	OR=1.099 C.I.=[0.234- 5.159] $\chi^2=0.01$ p=0.90433	OR=1.800 C.I.=[0.091- 35.778] $\chi^2=0.76$ p=0.38216	OR=1.357 C.I.=[0.291- 6.334] $\chi^2=0.15$ p=0.69706
			ALEL C			
			T vs. C	TT vs. CT	TT vs. CC	CC+CT vs. TT
			OR=0.636 C.I.=[0.172- 2.352] $\chi^2=0.47$ p=0.76337	OR=0.590 C.I.=[0.028- 12.242] $\chi^2=0.69$ p=0.40476	OR=0.556 C.I.=[0.028- 11.043] $\chi^2=0.76$ p=0.38216	OR=0.606 C.I.=[0.032- 11.308] $\chi^2=0.74$ p=0.39097

Testiranjem povezanosti odabranih polimorfizama u izabranim genima sa mutilantnošću načina samoubistva za NR3C1 i FKBP5 nije dostignut nivo statističke značajnosti (Tabela 24). Genetički efekti varijabilnosti unutar gena SKA2 na način izvršenja samoubistva prema mutilantnosti su bili granično značajni što može, između ostalog, biti i posledica velikog broja poređenja različitih grupa u ovoj studiji.

Tabela 24. Test asocijacije genotipova ispitivanih polimorfizama u genima *FKBP5*, *SKA2* i *NR3C1* sa mutilantnošću izabranog načina samoubistva

SNP	Test za odstupanje od HWE		Test povezanosti (C.I.: 95% interval poverenja)			
	Nisko-mutilantni	Visoko-mutilantni	razlika u fr. alela	heterozigot	Homozigot	prisustvo alela
SKA2	N (GG)=42 N (AG)=34 N (AA)=14 fr alelaG=0.66 +/-0.038 p=0.159030 (Exact)	N (GG)=9 N (AG)=18 N (AA)=1 fr alelaG=0.64 +/-0.050 p=0.092741 (Exact)	ALEL A			
			G vs. A	GG vs. AG	GG vs. AA	GG vs. AG+AA
			OR= 1.057 C.I.=[0.565-1.980] $\chi^2=0.03$ p=0.86164	OR=2.471 C.I.=[0.985- 6.194] $\chi^2=3.83$ p=0.05026	OR=0.333 C.I.=[0.039- 2.869] $\chi^2=1.09$ p=0.29712	OR=1.847 C.I.=[0.755- 4.519] $\chi^2=1.84$ p=0.17546
			ALEL G			
			A vs. G	AA vs. AG	GG vs. AA	GG+AG vs. AA
			OR=0.946 C.I.=[0.505- 1.771] $\chi^2=0.03$ p=0.86164	OR=7.412 C.I.=[0.901- 60.991] $\chi^2=4.48$ p=0.03437	OR=3.000 C.I.=[0.349- 25.824] $\chi^2=1.09$ p=0.29712	OR=4.974 C.I.=[0.624- 39.642] $\chi^2=2.76$ p=0.09640
NR3C1	N (GG)=30 N (GC)=44 N (CC)=19 fr alelaG=0.56 +/-0.037 p=0.678725 (Exact)	N (GG)=6 N (GC)=20 N (CC)=3 fr alelaG=0.55 +/-0.051 p=0.062720 (Exact)	ALEL C			
			G vs. C	GG vs. GC	GG vs. CC	GG vs. GC+CC
			OR=1.030 C.I.=[0.570-1.864] $\chi^2=0.01$ p=0.92092	OR=2.273 C.I.=[0.817-6.325] $\chi^2=2.55$ p=0.11052	OR=0.789 C.I.=[0.176-3.539] $\chi^2=0.10$ p=0.75711	OR=1.825 C.I.=[0.673-4.953] $\chi^2=1.42$ p=0.23303
			ALEL G			
			C vs. G	CC vs. GC	CC vs. GG	GG+GC vs. CC
			OR=0.970 C.I.=[0.536-1.756] $\chi^2=0.01$ p=0.92092	OR=2.879 C.I.=[0.763-10.857] $\chi^2=2.59$ p=0.10737	OR=1.267 C.I.=[0.283-5.679] $\chi^2=0.10$ p=0.75711	OR=2.225 C.I.=[0.608-8.141] $\chi^2=1.52$ p=0.21743
FKBP5	N (CC)=45 N (CT)=39 N (TT)=9 Fr alelaC=0.69 +/-0.034 p=1.000000 (Exact)	N (CC)=16 N (CT)=11 N (TT)=2 fr alelaC=0.74 +/-0.058 p=1.000000 (Exact)	ALEL T			
			C vs. T	CC vs. CT	CC vs. TT	CC vs. CT+TT
			OR=0.789 C.I.=[0.406- 1.536] $\chi^2=0.49$ p=0.48559	OR=0.793 C.I.=[0.329- 1.911] $\chi^2=0.27$ p=0.60533	OR=0.625 C.I.=[0.122- 3.206] $\chi^2=0.32$ p=0.57046	OR=0.762 C.I.=[0.330- 1.760] $\chi^2=0.41$ p=0.52344
			ALEL C			
			T vs. C	TT vs. CT	TT vs. CC	CC+CT vs. TT
			OR= 1.267 C.I.=[0.651- 2.464] $\chi^2=0.49$ p=0.48559	OR= 1.269 C.I.=[0.238- 6.755] $\chi^2=0.08$ p=0.77950	OR=1.600 C.I.=[0.312- 8.207] $\chi^2=0.32$ p=0.57046	OR=1.446 C.I.=[0.294- 7.110] $\chi^2=0.21$ p=0.64803

4.3. Rezultati studije za definisanje sudskomedicinski značajnih faktora rizika u ukupnom uzorku

Od ukupno 18727 izvedenih obdukcija na Institutu za sudsku medicinu, u periodu od januara 2006. do marta 2020. godine, samoubistvo je izvršilo 1809 osoba. Značajno veći broj muškaraca je izvršio suicid ($p < 0,001$) i to 1384 muškarca (76,5%) i 425 žena (23,5%). Prosečna starost u uzorku je $54,85 \pm 18,04$ godina, i to u muškaraca $54,6 \pm 18,04$, a u žena $55,5 \pm 18,03$ godina.

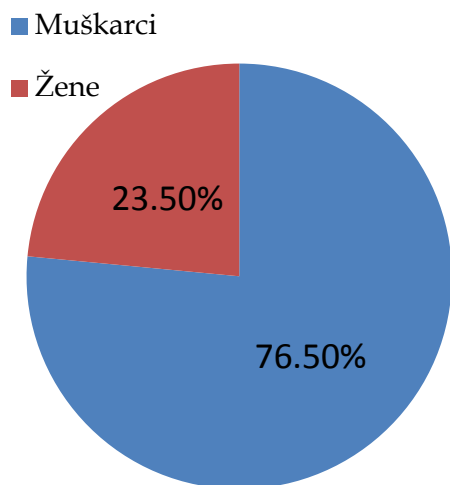
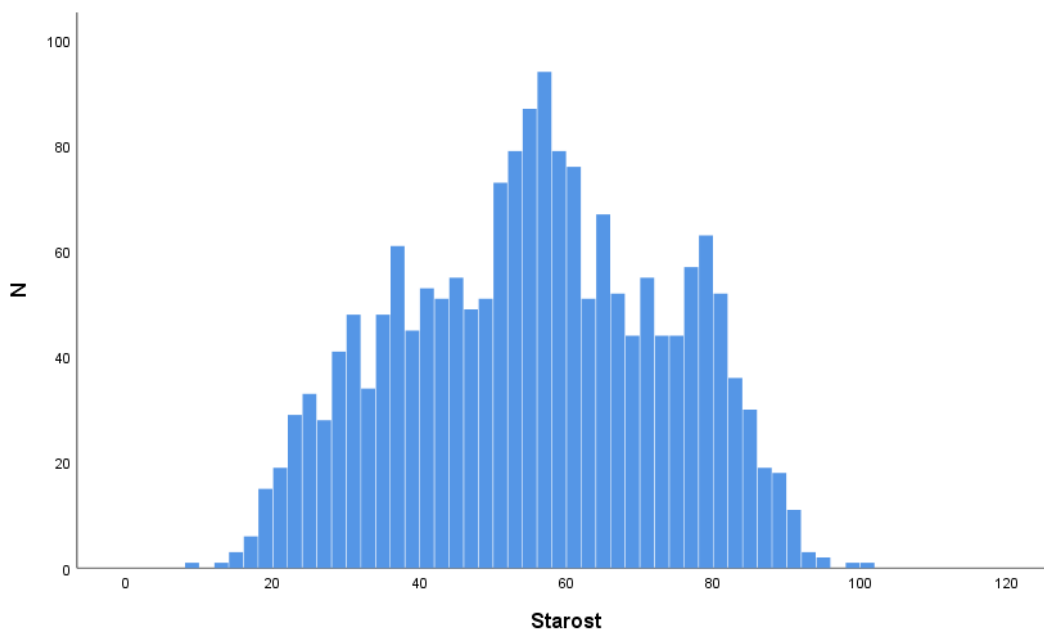


Tabela 25. Starosne kategorije u uzorku

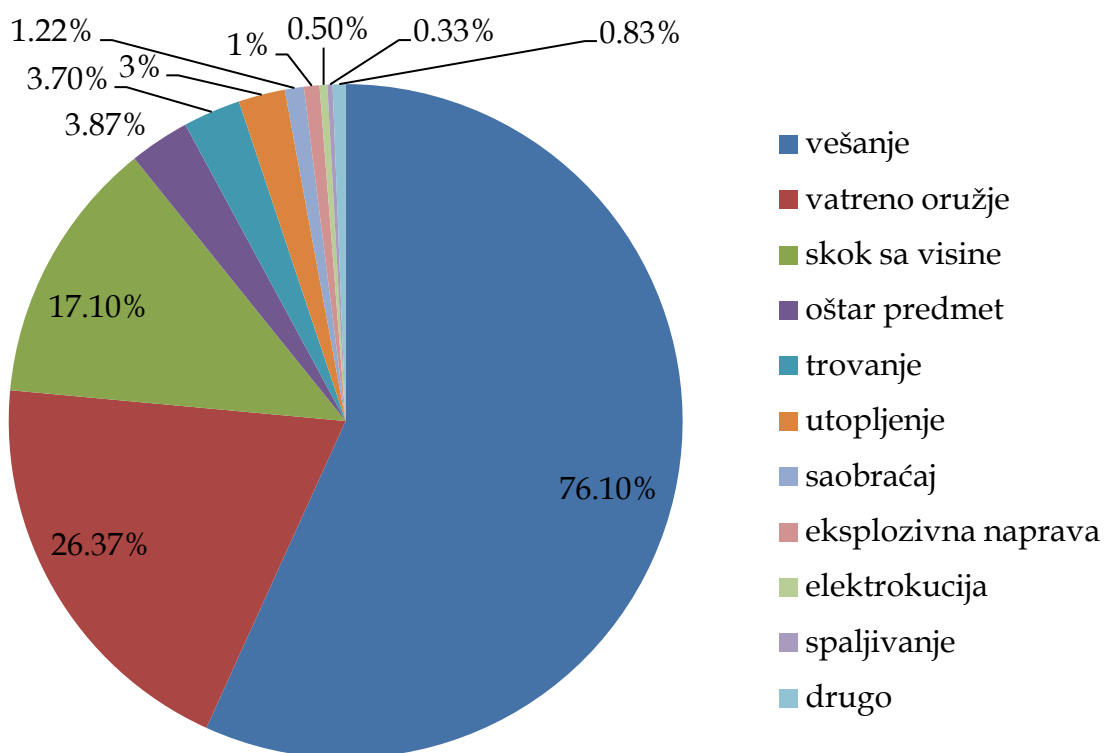
		N	%
Starost	<30	176	9.7%
	30-49	495	27.4%
	50-69	702	38.8%
	70+	436	24.1%

Grafikon 23. Distribucija samoubistava po polu



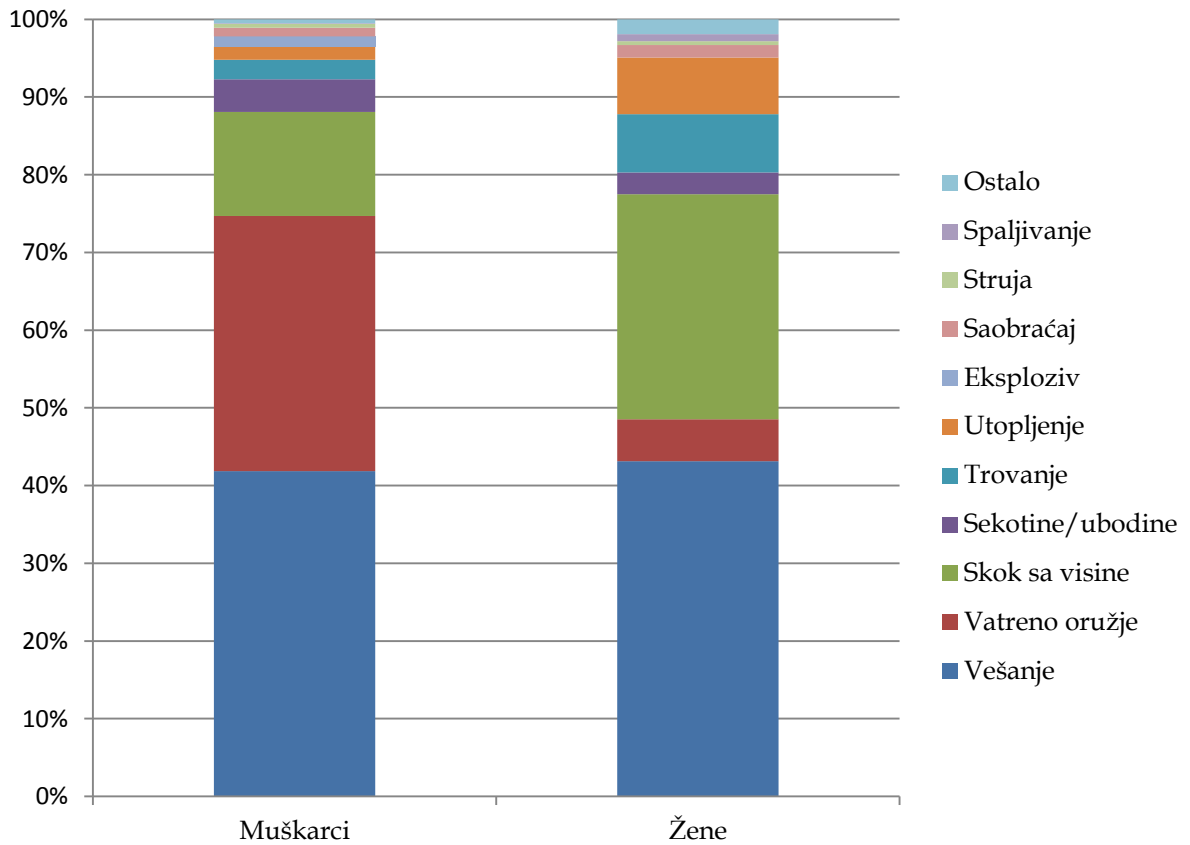
Grafikon 24. Distribucija samoubistava po godinama starosti

Najčešćim načinom izvršenja suicida, vešanjem, sebi je život oduzela 761 osoba. Zatim po učestalosti slede vatreno oružje (477 osoba) i skok sa visine (309 osoba). Ostali načini bili su značajno ređi i obuhvatali su korišćenje oštrog predmeta - nanošenje sekotina i ubodina (70 osoba), trovanje (67 osoba), utopljenje (55 osoba), bacanje pred vozilo (voz, automobil) u pokretu u saobraćaju (22 osobe), eksplozivne naprave (18 osoba), elektrokciju (9 osoba), spaljivanje (6 osoba) i druge neklasifikovane načine (15 osoba).



Grafikon 25. Učestalost različitih načina izvršenja samoubistva

Nakon što su rezultati prilagođeni (engl. *Adjusted residual*) ključne razlike među polovima u izboru načina uočene su po vatrenom oružju u korist muškaraca, a po trovanju, skoku i utopljenju u korist žena.



Grafikon 26. Distribucija načina samoubistava po polu

Na osnovu heteroanamnestičkih podataka pribavljenih od srodnika i prijatelja dobijene su i upoređivane rodne razlike (između žena i muškaraca) u sociodemografskim karakteristikama izvršilaca samoubistva (Tabela 26).

Tabela 26. Heteroanamnestički dobijene karakteristike izvršilaca

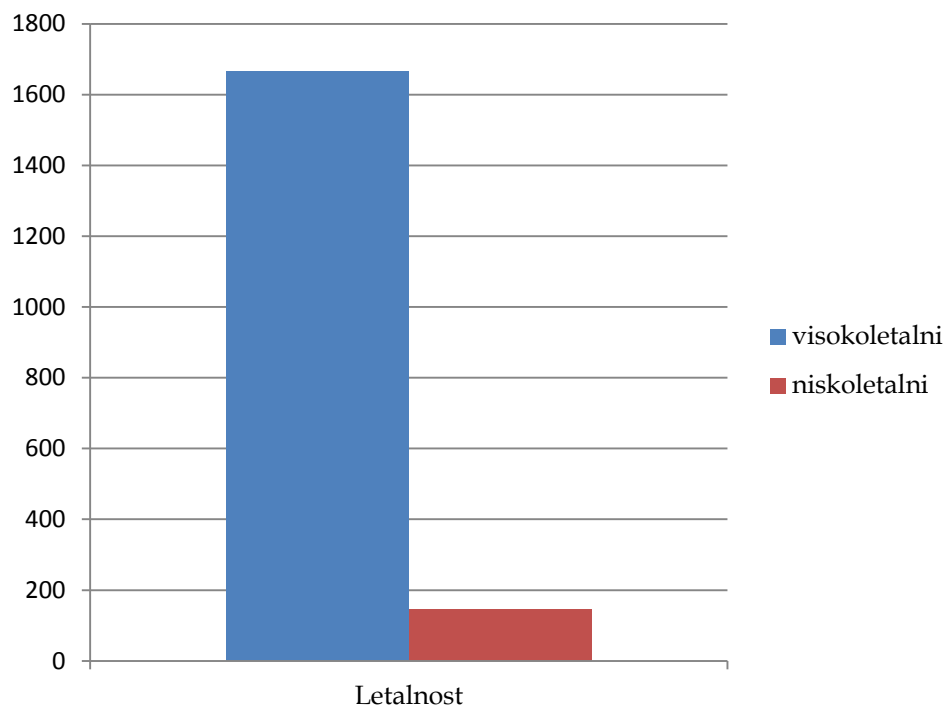
		Oba pola		Muškarci		Žene		P vrednost
		N	%	N	%	N	%	
Zaposlenost	Ne	578	32.5%	429	31.7%	149	35.1%	0.001
	Penzija	722	40.6%	531	39.2%	191	45.0%	
	Da	479	26.9%	395	29.2%	84	19.8%	
Partnerska veza	Ne	942	53.7%	695	51.8%	247	59.8%	0.004
	Da	813	46.3%	647	48.2%	166	40.2%	
Hronično oboljenje	Ne	979	54.12%	743	53.7%	236	55.5%	0.504
	Da	830	45.88%	641	46.3%	189	44.5%	
Pušenje	Ne	792	44.9%	575	42.7%	217	52.2%	0.001
	Da	970	55.1%	771	57.3%	199	47.8%	
Alkohol	Ne	955	54.1%	630	46.7%	325	78.1%	0.000
	Povremeno	515	29.2%	451	33.4%	64	15.4%	
	Zloupotreba	295	16.7%	268	19.9%	27	6.5%	
Droga	Ne	1633	92.8%	1230	91.6%	403	96.9%	0.001
	Povremeno	50	2.8%	47	3.5%	3	0.7%	
	Redovno	76	4.3%	66	4.9%	10	2.4%	
Psih. oboljenje	Ne	825	46.7%	691	51.2%	134	32.2%	0.000
	Da	940	53.3%	658	48.8%	282	67.8%	
Mesto suicida	Prebivalište	1189	66.6%	891	65.3%	298	70.6%	0.002
	Tuđi stan	110	6.2%	79	5.8%	31	7.3%	
	Otvorena javna površina	219	12.3%	169	12.4%	50	11.8%	
	Radno mesto	55	3.1%	53	3.9%	2	0.5%	
	Drugo	213	11.9%	172	12.6%	41	9.7%	
Prethodni pokušaj	Ne	1354	78.4%	1106	84.0%	248	60.2%	0.000
	Da	374	21.6%	210	16.0%	164	39.8%	
Oproštajna poruka	Ne	1215	74.4%	925	74.2%	290	74.9%	0.766
	Da	419	25.6%	322	25.8%	97	25.1%	

Raspodela rezultata hemijsko-toksikoloških analiza krvi, uključujući i alkoholemiju u vreme umiranja prikazana je u Tabeli 27. Kako se hemijsko-toksikološke analize koje se odnose na prisustvo droga i lekova rade po nalogu nadležnog tužilaštva iste nisu izvedene u svim posmatranim slučajevima, već u svega 485 slučajeva. Prikazane p vrednosti dobijene su Pirsonovim hi-kvadrat testom i odnose se na poređenja između polova. Nakon što su rezultati prilagođeni (engl. *Adjusted residual*) upadljive razlike uočene su u korišćenju antidepresiva u korist žena i droga u korist muškaraca. Takođe, alkoholisnost u vreme umiranja je bila značajno češća kod muškaraca, i to po svim kategorijama alkoholemije.

Tabela 27. Rezultati hemijsko-toksikoloških analiza u ispitivanom ukupnom uzorku i po polu

		Ukupno		Muškarci		Žene		p vrednost
		N	%	N	%	N	%	
Toksikološki nalaz	Negativan	320	66.0%	223	66.6%	97	64.7%	0.683
	Pozitivan	165	34.0%	112	33.4%	53	35.3%	
Kategorije hemijsko-toksikoloških supstanci	Anksiolitik	60	36.4%	38	33.9%	22	41.5%	0.018
	Antidepresiv	10	6.1%	3	2.7%	7	13.2%	
	Antipsihotik	4	2.4%	3	2.7%	1	1.9%	
	Stabilizator raspoloženja	7	4.2%	5	4.5%	2	3.8%	
	Droge	39	23.6%	34	30.4%	5	9.4%	
	Drugo	9	5.5%	5	4.5%	4	7.5%	
	Dve grupe supstanci	25	15.2%	17	16.1%	7	13.2%	
Tri i više grupa supstanci	11	6.7%	6	5.4%	5	9.4%		
Alkoholemija ≥ 0.3 mg/mL	Ne	734	71.2%	1048	80.1%	362	90.3%	0.000
	Da	297	28.8%	260	19.9%	39	9.7%	
Alkoholemija (mg/mL)	<0.3	734	71.2%	1048	80.1%	362	90.3%	0.001
	0.30-0.49	37	3.6%	33	2.5%	4	1.0%	
	0.50-0.99	91	8.8%	79	6.0%	14	3.5%	
	1.00-1.49	50	4.8%	43	3.3%	7	1.7%	
	1.50-1.99	53	5.1%	49	3.7%	4	1.0%	
	2.00-2.99	50	4.8%	43	3.3%	7	1.7%	
	3+	16	1.6%	13	1.0%	3	0.7%	

Svi načini samoubistava podeljeni su na način koji je već opisan u odeljku Materijal i metode na visokoletalne i niskoletalne (Grafikon 27). U ukupnom uzorku uočeno je da se značajno češće koristi visokoletalni način samoubistva.



Grafikon 27. Odnos upotrebe visokoletalnih i niskoletalnih načina samoubistva

U Tabeli 28. prikazan je uticaj različitih opštih faktora rizika na izbor visoko- ili niskoletalnog načina suicida. Statistički značajne razlike dobijene su između polova, gde su se muškarci znatno češće opredeljivali za visokoletalne načine ($p=0,003$). Niskoletalni načini samoubustva su se češće dešavali na mestu prebivališta ($p=0,014$). Takođe, osobe sa psihijatrijskim oboljenjem su češće birale niskoletalne načine suicida ($p=0,002$). I na kraju, osobe koje su samoubistvo pokušavale ranije tokom života učestalije su birale niskoletalne načine samoubistva ($p=0,014$).

Tabela 28. Povezanost različitih karakteristika izvršilaca i izbora načina samoubistva

		Letalnost načina		p vrednost
		Nizak	visok	
Pol	Muški	95 (6.9%)	1289 (93.1%)	0.003
	Ženski	48 (11.3%)	377 (88.7%)	
Starost	<30	15(8.5%)	161 (91.5%)	0.600
	30-49	43 (8.7%)	452 (91.3%)	
	50-69	57 (8.1%)	645(91.9%)	
	70+	28 (6.4%)	408 (93.6%)	
Zaposlenje	Nezaposlen	48 (8.3%)	530 (91.7%)	0.217
	Penzioner	63 (8.7%)	659 (91.3%)	
	Zaposlen	29 (6.1%)	450 (93.9%)	
Aktuelno u partnerskoj vezi	Ne	76 (81%)	866 (91.9%)	0.3
	Da	55 (6.8%)	758 (93.2%)	
Somatsko oboljenje ¹	Ne	76 (7.8%)	903 (92.2%)	0.808
	Da	67 (8.1%)	763 (91.9%)	
Ranije operacije	Ne	75(7,5%)	926 (92.5%)	0.628
	Da	62 (8.1%)	702 (91.9%)	
Ranije povrede	Ne	93 (7.3%)	1175 (92.7)	0.322
	Da	43 (8.7%)	449 (91.3%)	
Mesto suicida	Prebivalište	108(9.1%)	1081(90.9%)	0.014
	Tuđi stan	7 (6.4%)	103 (93.6%)	
	Javna površina	6 (2.7%)	213 (97.3%)	
	Radno mesto	2 (3.6%)	53 (96.4%)	
	Drugo	20 (9.4%)	193 (90.6%)	
Psihijatrijsko oboljenje ²	Ne	46 (5.6%)	779 (94.4%)	0.002
	Da	90 (9.6%)	850 (90.4%)	
Prethodni pokušaj	Ne	90 (6.6%)	1264 (93.4%)	0.014
	Da	39 (10.4%)	335 (89.6%)	

1 Da - Prisustvo najmanje jednog somatskog oboljenja (povišen krvni pritisak, koronarna bolest srca, dijabetes, opstruktivna bolest pluća, neurološko oboljenje, hepatitis, ulkusna bolest, maligno oboljenje, bolest bubrega;

2 Da - Depresivno-anksiozno stanje, psihoza, bolest zavisnosti, PTSP

Analizom prisustva psihotropnih lekova/droga zapaženo je da su osobe sa nekom od analiziranih supstanci u krvotoku statistički značajno češće birale manje letalan način samoubistva ($p=0,000$) (Tabela 29).

Tabela 29. Povezanost prisustva psihoaktivnih lekova/droga i izbora visoko- ili niskoletalnog načina suicida

			Nivo letaliteta		Ukupno
			Nizak	Visok	
Toksikološki nalaz	Negativan	N	25	295	320
		%	7.8%	92.2%	100.0%
	Pozitivan	N	46	119	165
		%	27.9%	72.1%	100.0%
Ukupno	N	71	414	485	
	%	14.6%	85.4%	100.0%	

U Tabeli 30 prikazane su kategorije droga i lekova u odnosu na letalnost metoda suicida. Nakon prilagođavanja rezultata uočeno je da su anksiolitici češće bili prateći nalaz u visokoletalnim načinima samoubistva, dok su tri i više kategorija psihoaktivnih supstanci (droga/lekova) i lekovi iz kategorije "drugo" bili češći u niskoletalnim.

Tabela 30. Povezanost određene grupe psihotropne supstance i izbora visoko- ili niskoletalnog načina suicida

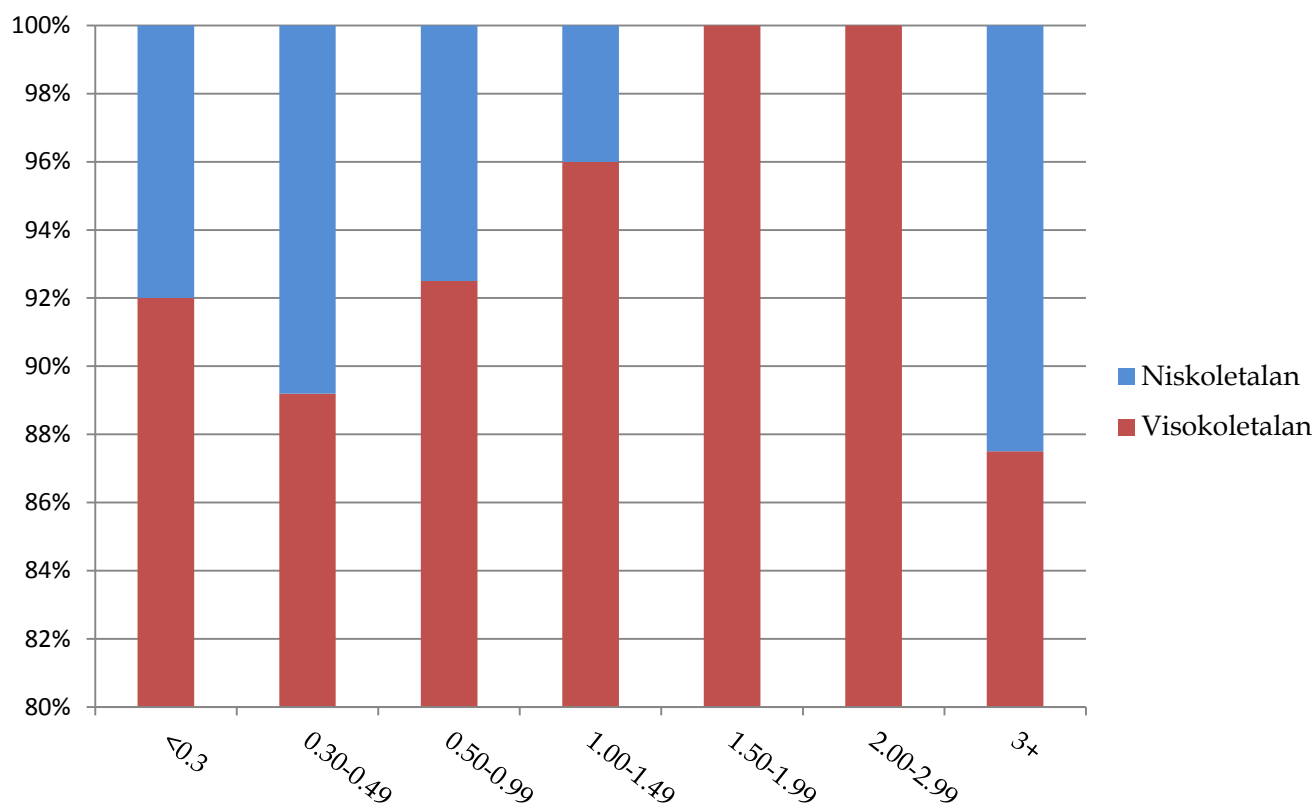
			Nivo letalnosti		Ukupno
			Nizak	Visok	
Grupa psihotropnog leka/droge	Anksiolitik	N	10	50	60
		%	16.7%	83.3%	100.0%
	Antidepresiv	N	2	8	10
		%	20.0%	80.0%	100.0%
	Antipsihotik	N	0	4	4
		%	0.0%	100.0%	100.0%
	Stabilizator raspoloženja	N	2	5	7
		%	28.6%	71.4%	100.0%
	Droga	N	7	32	39
		%	17.9%	82.1%	100.0%
	Drugo	N	7	2	9
		%	77.8%	22.2%	100.0%
	Dve grupe supstanci	N	6	19	25
		%	24.0%	76.0%	100.0%
	Više od dve grupe supstanci	N	11	0	11
		%	100.0%	0.0%	100.0%
Ukupno	N	45	120	165	
	%	27.3%	72.7%	100.0%	

Analiziran je uticaj alkohola na izbor načina samoubistva. Alkoholisanost u smislu alkoholemije iznad 0,3mg/mL nije dostigla statističku značajnost u smislu letalnosti metoda suicida ($p=0.074$) (Tabela 31).

Tabela 31. Povezanost akutnog napitog stanja i izbora visoko- ili niskoletalnog načina suicida

			Nivo letaliteta		Ukupno
			Nizak	Visok	
Alkoholemija ≥ 0.3 mg/mL	Ne	N	113	1297	1410
		%	8.0%	92.0%	100.0%
	Da	N	15	284	299
		%	5.0%	95.0%	100.0%
Ukupno		N	128	1581	1709
		%	7.5%	92.5%	100.0%

Ipak, postoji statistički značajna razlika po učestalosti kategorija alkoholemije u odnosu na nivo letalnosti ($p=0,032$), a postoji i značajna razlika po trendu, iako je trend delimično linearan ($p=0,020$) (Grafikon 28).



Grafikon 28. Distribucija kategorija alkoholemije u odnosu na letalnost načina samoubistva

5. DISKUSIJA

Ova studija se bavila sudskomedicinskim, biohemijskim i molekularnim faktorima rizika za izvršenje samoubistva na obdukcijom materijalu Instituta za sudsku medicinu u Beogradu kroz dve studije slučajeva i kontrola, uz deskriptivnu studiju za definisanje različitih sudskomedicinski značajnih faktora rizika.

Poremećaji na nivou ekspresije proteina koji učestvuju u HHA osi, kao i gena koji ih kodiraju, tačnije disregulacija negativne povratne sprege HHA ose, imaju ulogu u podložnosti osobe da izvrši samoubistvo [93]. Kada su kliničke studije u pitanju, funkcionisanje HHA ose se najčešće procenjuje deksametazonskim supresorskim testom (engl. *dexamethasone suppression test*, DST). Pojedini autori su zaključili da je izostanak supresije u DST, odnosno hipereaktivnost HHA ose u vezi sa suicidalnim ponašanjem [43,94]. Ipak, postoje i one koje nisu našle povezanost [95,96] ili su čak pokazale suprotno. Naime, hipersupresija u DST, odnosno hiporeaktivnost HHA ose, je pokazala povezanost sa samoubistvom [97], kao i hipokortizolemija sa ozbiljnijom namerom da se izvrši samoubistvo [98]. Dakle, rezultati su vrlo različiti u smislu veze između disregulacije HHA ose i suicida kada se u procenjivanju koristi neka vrsta farmakološke intervencije. Takođe, kompleksnosti ove teme značajno doprinosi činjenica da su različita psihijatrijska stanja u vezi sa izvršenjem samoubistva, te endokrinološki poremećaji mogu biti povezani sa oboljenjem (najčešće depresijom) [23,24], a onda posledično i sa suicidom.

U autopsijskim studijama, kakva je i naša, nivo kortizola nije zahvalno meriti iz krvi, jer se očekuje da će osoba koja planira i priprema samoubistvo svakako biti u stresu. Dugoročni *ante mortem* nivoi kortizola mogli bi se u ovakvom tipu istraživanja meriti u uzorcima kose u kojima je "zabeleženo" moguće dugotrajno stanje hiperkortizolemije [99]. Ovo je bio razlog zbog kojeg smo izabrali proučavanje na mestima centralne regulacije HHA ose.

Prvi u nizu ispitivanih gena je *NR3C1*, odnosno polimorfizam rs41423247. Ovaj gen kodira za glukokortikoidni receptor. GR je glavno mesto preko kojeg se odvija negativna povratna sprega HHA ose [63]. Kao što je već opisano, najveći deo inhibicije oslobađanja CRH regulisana je preko glukokortikoidnog i mineralokortikoidnog receptora u PVN [100]. Polimorfizam rs41423247 (koji je u literaturi imenovan i kao polimorfizam Bcl1) u *NR3C1* genu nalazi se u intronu 2, 646 baznih parova nishodno od egzona 2. Na ovom mestu treba istaći da je rizični alel u literaturi većinom označen kao G (guanin), što u našoj studiji odgovara alelu C (citozin). Razlika postoji zbog različitog smera čitanja sekvence. U daljem tekstu rizični alel biće označen sa C.

Osobe sa varijantom (alelom) C u literaturi su pokazale snižen odgovor kortizola na psihosocijalne stresore [101] i jaču supresiju kortizola u DST [102]. Tako je Park sa sar. u istraživanju koje je uključivalo pacijente sa dijagnostikovanim kancerom (koji ovde predstavlja psihološki stresor) uočio da osobe koje su homozigoti za rizični alel imaju 3,8 puta veći rizik za izvršenje suicida u prvoj godini nakon dijagnoze u odnosu na

homozigote za divlji tip alela (OR=3,8, p=0,047) [62]. Ova varijacija, međutim dovodi se i u vezu sa razvojem depresije. U opširnom istraživanju različitih polimorfizama u *NR3C1* genu i to na velikom uzorku, van Rossum i sar. dokazali su da je polimorfizam Bcl1 u homozigotnoj formi značajan rizikofaktor za razvoj depresije (OR=1,3, p=0.026). Direktna veza sa razvojem MDD pokazana je i u grupi mladih, premenopauzalnih žena [103]. Takođe, meta-analiza Peng i sar. je na osnovu 9 radova koji su se ispitivali polimorfizam rs41423247 u različitim oblicima depresije, došla do zaključka da osobe homozigoti za alel C imaju značajno veću šansu za razvoj depresije [67].

Naša studija pokazala je značajno veću učestalost rizičnog alela C u grupi samoubistava (68%±3,2%) u odnosu na kontrole (23%±2.8%), što je dostiglo i statističku značajnost (p=0,003). Učestalost alela C u našoj kontrolnoj grupi odgovara uočenim učestalostima ovog alela u brojnim bazama podataka (na internet stranici <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs41423247>), koje su se kretale od 20-40%. Ovako visoka učestalost rizičnog alela povećala je rizik za suicid za nosioce C alela (sa genotipovima GC i CC) 3,48 puta (CI=2,08-5,82, p=1,373x10⁻⁶) u odnosu na osobe koje su homozigoti za alel G. U tom smislu, naši rezultati su konzistentni sa onima u literaturi, odnosno da C alel ima ulogu u etiologiji samoubistva. Ipak, ovaj polimorfizam se u literaturi povezuje češće sa razvojem stanja koja povećavaju suicidalni rizik. Iz tog razloga testirali smo prisustvo psihijatrijskog oboljenja u različitim genotipovima, no statistička značajnost nije postignuta. Kao što je već naglašeno, naše istraživanje u uzorku studije koja je ispitivala učestalost varijanti izabranih gena nije imalo mogućnost da genotipove testira na različita psihijatrijska oboljenja, jer heteroanamnestički psihijatrijski intervju nije obavljen kod svih ispitanika. U tom smislu, dakle, postoji mogućnost da je povezanost ovog polimorfizma sa suicidom posredovana psihijatrijskim oboljenjem.

U delu teze koji je činila studija za ispitivanje ekspresije proteina u suicidu učinjena je i genotipizacija odgovarajućih gena u pojedinim polimorfizmima. Za ovo ispitivanje odabrane su 44 kontrole i 45 slučajeva. U ovom podskupu genotipovanih uzoraka učestalost rizičnog alela C u genu *NR3C1* je bila veća kod izvršilaca samoubistva (36%±4,6%) nego u grupi kontrola (26%±4.7%), međutim ova razlika nije dostigla potrebni nivo statističke značajnosti, iako je očuvan isti trend kao i u čitavom ispitivanom materijalu. Prilikom poređenja genotipova pokazano je da prisustvo rizičnog alela (u dominantnom modelu) povećava rizik za suicid 1.98 puta (OR=1,98; CI 0,85-4,61) što nije dostiglo nivo značajnosti najverovatnije zbog male veličine uzorka. Ovu tvrdnju podržava činjenica da je u studiji slučajeva i kontrola koja je ispitivala učestalost varijanti ispitivanih gena, čiji je uzorak bio veći (122 samoubistva i 139 kontrola) statistička značajnost dobijena.

Takođe, testirali smo povezanost genotipova na izbor načina samoubistva u smislu letalnosti i mutilantnosti, ali statistička značajnost nije postignuta. Naša pretpostavka je bila da osobe koje imaju poremećaj u regulaciji sistema odgovora na stres mogu imati i "čvršću" odluku da sebi oduzmu život ili da pak nanesu veću štetu svom fizičkom

integritetu. Međutim, postoji mogućnost da bi se povećanjem broja ispitanika ovakva povezanost mogla bolje ispitati.

U vezi sa prethodno opisanim genom, ispitivali smo jedan od njegovih produkata - protein glukokortikoidnog receptora i to njegovu α izoformu koja je zastupljenija u moždanom tkivu. Izoforma β je zastupljena u mišićima, jetri i plućima, a najmanje u mozgu [104]. Ovaj receptor je glavno mesto preko kojeg se odvija negativna povratna sprega HHA ose [63]. Iako je glavno mesto odvijanja negativne povratne sprega hipotalamus, postoje brojni dokazi da se regulacija odvija i distalno od njega, u regionima kao što su amigdale, PFC i hipokampus [105]. Ove strukture značajne su u afektivnoj patologiji u koju spadaju i depresivna stanja, stresu i anksioznosti [106]. Ovi poremećaji su veliki rizikofaktori za samoubistvo, te je ispitivanje GR u njima značajno.

Naši rezultati pokazuju statistički značajno smanjenu ekspresiju ovog proteina u amigdalama u grupi suicida ($p=0,016$). Ovo teorijski dalje dovodi do sniženog prenosa signala koji bi ovaj receptor dao za prekidanje transkripcije gena za kortizol i time smanjenja koncentracije u organizmu. U literaturi su opisani sniženi nivoi GR- α u prefrontalnom korteksu i amigdalama, ali ne i u hipokampusu kod žrtava suicida u odnosu na normalne kontrole [107,108]. Ovo delimično odgovara našim nalazima koji su ukazali da smanjene ekspresije u posmatranoj grupi u odnosu na kontrole nema u PFC i hipokampusu. Kako je hipokampus jedno od ključnih mesta za regulaciju stresa [36] očekivali smo poremećaj u ekspresiji i u ovoj strukturi. Jedno od mogućih objašnjenja za ovakav rezultat može biti i to što se, kako pojedini autori ističu, promene u ovoj strukturi kao posledica disregulacije kortikosteroida u odgovoru na stres dešavaju kod osoba koje su u ranijem životnom dobu preživele traumu te boluju od PTSP [36]. U našem uzorku nije detektovan značajan broj osoba sa ovakvim poremećajem koji bi postepeno, od detinjstva do odraslog doba, izmenio funkcionisanje hipokampusa. U tom smislu, ekspresija ovog proteina u suicidu nije u vezi sa samoubistvom, već je rezultat preživljene traume. Ove navode podržava i literaturni podatak koji ukazuje na smanjenu ekspresiju iRNK *NR3C1* gena u hipokampusu žrtava suicida sa istorijom seksualnog zlostavljanja u detinjstvu, ali ne i u nezlostavljanim žrtvama samoubistva [109] što bi impliciralo da je iRNK snižena specifično kod samoubica žrtava zlostavljanja. Takođe, studija na primatima je pokazala smanjene nivoe iRNK za GR u hipokampusu kod ispitanika sa stresom u ranom životnom dobu u poređenju sa kontrolama [110]. Naravno, ne treba zanemariti ni činjenicu da nivoi iRNK i odgovarajućih proteina ne moraju nužno biti u apsolutnoj korelaciji, budući da se regulacija genske ekspresije može odigravati na više različitih nivoa. Zbog toga rezultati eksperimenata u kojima je nivo genske ekspresije meren na osnovu iRNK ne moraju odražavati količinu sintetisanih proteina.

Izostanak razlike u ekspresiji glukokortikoidnog receptora u PFC između posmatrane grupe i kontrola nije u skladu sa nama dostupnim podacima iz literature u trenutku pisanja teze. Suprotno očekivanom, uočen je trend povećanja ekspresije ovog proteina kod osoba sa depresivno-anksioznim poremećajem u odnosu na one bez

psihijatrijske dijagnoze. Ove diskrepance u nalazima mogu se objasniti time što je deo ispitanika koristio antidepresivne lekove koji mogu imati uticaj na regulaciju kortikosteroida i na ekspresiju GR. Naime, pokazano je da dugoročna upotreba antidepresiva kod ljudi dovodi do ushodne regulacije i glukokortikoidnih i mineralokortikoidnih receptora u mozgu, dok kratkoročna upotreba čini obrnuto. Nakon 6-9 nedelja terapije funkcija GR se vraća u normalne vrednosti. Ovi efekti antidepresiva se povezuju sa P-glikoproteinom, koji predstavlja jedan od transportera lekova kroz ćelijsku membranu i reguliše preuzimanje i efluks velikog broja medikamenata [111]. Veza između dejstva antidepresivnih lekova i regulacije HHA ose dovodi do zaključka da bi poremećaji na ovom nivou ose možda najpre bili u vezi sa depresijom. Slični rezultati su pokazani i na ćelijama limfocita gde se kod pacijenata pod terapijom različitim antidepresivnim lekovima značajno povećao broj GR po ćeliji u odnosu na one bez terapije [112]. U našoj studiji nismo isključivali osobe koje su koristile različite psihotropne lekove, tim pre što bez adekvatne medicinske dokumentacije nismo mogli da procenimo dužinu trajanja terapije. U narednim studijama, trebalo bi povećati uzorak i kao jednu od podkategorija uvesti i različite vrste terapija. Takođe, uočena statistički značajno niža ekspresija GR u amigdalama kod osoba sa depresivno-anksioznim stanjima u odnosu na one sa dijagnozama iz grupe psihoza, može ukazati na različito poreklo ovih oboljenja u smislu remećenja funkcije HHA ose, kao i na upotrebu antidepresiva koji menjaju ekspresiju GR.

Kada smo analizirali povezanost genotipova u NR3C1 i ekspresije GR u ispitivanim moždanim strukturama mozga i po poreklu smrti (samoubistvo i drugi način smrti) nismo dobili statističku značajnost. Upravo rizičan C alel koji smo ovom studijom doveli u vezu sa samoubistvom, prema dostupnoj literaturi daje produkt koji dovodi do hipersenzitivnosti GR i sledstvene hipokortizolemije. Ipak, u amigdalama smo ispitivanjem dobili sniženu ekspresiju GR koja bi kao krajnji efekat trebalo da ima hiperkortizolemiju. Ovde treba postaviti pitanje kako promene u ispitivanoj varijaciji utiču na fenotip i izvršenje samoubistva. Kao što je već rečeno, osobe sa mutacijom u regionu koji prepoznaje Bcl1 (rs41423247) pokazuju snižene vrednosti kortizola kada su izloženi stresu. Ipak, kada se govori o nivoima kortizola i senzitivnosti GR, poremećaji na nivou HHA ose u etiologiji depresije i suicida su u literaturi opisivani u oba smera. Glukokortikoidi, naime, deluju i kao pozitivni i kao negativni transkripcioni regulatori. Iako se kao etiološki faktor za razvoj depresije češće pominje glukokortikoidna rezistencija, postoje i drugačija objašnjenja. Tačnije, ulogu u etiologiji mogu imati i pojačani efekti GR u limbičkom sistemu. CC homozigoti i heterozigoti imaju hipersenzitivnost na glikokortikoide u smislu HHA negativne povratne sprege do nivoa nadbubrežne žlezde kao efektoru [102]. Ali, homozigoti za isti ovaj polimorfizam mogu imati pojačanu pozitivnu povratnu spregu u limbičkom sistemu, što rezultira pojačanom produkcijom CRH i simptomima depresije. Ovaj polimorfizam, dakle, ima vrlo tkivno specifične efekte, te je i dalje nejasno kakav je njegov uticaj u različitim strukturama mozga i ne može se isključiti da je polimorfizam rs41423247 u vezi sa GR rezistencijom u

limbičkom sistemu. S druge strane, postoje studije koje su merenjem kortizolemije u sistenskoj cirkulaciji i na osnovu DST pokazale snižene nivoe kortizola i GR hipersenzitivnost u suicidu, te objašnjavaju da je suicidalnost posledica nesposobnosti da se izgradi odgovarajući odgovor na stres [25]. U tom slučaju, odstupanja od adaptivnih metaboličkih i kognitivnih sistema koji služe da osoba odgovori na zahteve stresora dovodi do povećanog rizika za samoubistvo. Konačno, ispitivani polimorfizam, kao i ekspresija proteina su mogli posredno, različitim mehanizmima, kroz psihijatrijsko oboljenje, povećati rizik za suicid. Upravo o tome govori i naš rezultat o povećanoj ekspresiji GR u PFC kod osoba koje su bolovale od depresivno-anksioznih poremećaja.

Protein FKBP5 je ko-šaperon Hsp90 koji reguliše senzitivnost GR. Kada je ovaj protein vezan za receptorski kompleks kortizol se vezuje sa manjim afinitetom i translokacija receptora u jedro je manje efikasna. FKBP5 iRNK i ekspresija proteina su indukovane aktivacijom GR što predstavlja ultrakratku negativnu povratnu spregu na unutarćelijskom nivou [69]. Za polimorfizme gena *FKBP5* koji kodira za ovaj protein je pokazano da su povezani sa ushodnom regulacijom FKBP5 nakon aktivacije GR, poremećajem u senzitivnosti GR i regulacijom sistema odgovora na stres. Rizični aleli u vezi su sa pojačanom ekspresijom proteina FKBP5 nakon aktivacije GR, što dovodi do rezistencije GR i smanjene efikasnosti negativne povratne sprege hormona stresa, što dalje rezultira produženim odgovorom hormona stresa nakon izlaganja stresoru. Ova disregulacija može biti faktor rizika za razvoj psihijatrijskog oboljenja, što je pokazano za rs3800373 i rs4713916, a rs1360780 sa pokušajem izvršenja samoubistva [70].

Uprkos podacima iz literature, u našoj studiji polimorfizam rs1360780 u *FKBP5* genu nije pokazao statističku značajnost u povezanosti sa izvršenjem samoubistva. Takođe, ni testiranje uticaja genotipova na nivo letalnosti, mutilantnosti i prisustvo psihijatrijskog oboljenja nisu dali značajne razlike. Možemo pretpostaviti da je jedno od objašnjenja za ovu razliku u rezultatima i veličina uzorka koja se u studijama koje su ispitivale ovaj gen u vezi sa suicidalnošću kretala od 18 do više od 500 ispitanika. Takođe, neke od objavljenih studija su se bavile proučavanjem rizika kod živih osoba u smislu pokušaja samoubistva [65] što se ne može poistovetiti sa uspešno izvršenim samoubistvom [113]. Na kraju, pojedine publikacije o suicidalnosti su proučavale haplotipove koji uključuju i rs1360780 [70]. Naše istraživanje nije obuhvatalo druge bliske polimorfizme, pa je moguće da iz tog razloga nismo detektovali rizične alele.

Zanimljivo je spomenuti da su rizični aleli *FKBP5* gena koji su u vezi sa razvojem psihijatrijskih poremećaja (MDD, bipolarnim poremećajem i PTSD) asocirani i sa bržim odgovorom na terapiju antidepresivima [114]. Ovo može biti od velikog značaja u lečenju i prevenciji psihijatrijskih oboljenja povezanih sa stresom. Naime, ukoliko bi se kod osoba sa psihijatrijskim oboljenjem detektovao rizični alel, terapija bi se mogla odabrati tako da efekti lečenja budu ranije vidljivi, što dalje može prevenirati i izvršenje samoubistva.

Kako bismo upotpunili istraživanje ispitivali smo i ekspresiju proteina FKBP5 i na osnovu literature očekivali povećanu ekspresiju u tkivu PFC, amigdalama i hipokampusu

u grupi osoba koje su izvršile samoubistvo. Ipak, naša studija nije pokazala značajne razlike u ekspresiji ovog proteina između osoba koje su izvršile suicid i onih koje su umrle na drugačiji način. Jedno od objašnjenja za ovakav rezultat svakako može biti veličina i heterogenost uzorka, što daje prostor za obimnija i kompleksnija istraživanja u budućnosti. Kao što je navedeno, upotreba antidepresiva može imati uticaja na efekte FKBP5, te i u slučaju ovog proteina, trebalo bi uvesti podkategorije. Takođe, opisana povezanost FKBP5 sa MDD i PTSP [115] opet povlači pitanje direktne veze ispitivanog gena/proteina sa suicidalnošću. S druge strane, Perez-Ortiz i sar. su u amigdalama zapazili nižu ekspresiju ovog proteina u uzorku od 13 osoba koje su se ubile [107]. Međutim, kriterijum za isključenje u njihovoj studiji bilo je postojanje bilo kakvog psihijatrijskog stanja. Ovakvi slučajevi su izuzetno retki [116]. U našem uzorku od preko 40 samoubistava, svega četiri ispitanika nisu imala registrovano psihijatrijsko oboljenje i to nakon heteroanamnestičkog intervjua, a ne razgovora sa samim ispitanikom. Naime, nameće se pitanje koliko je samoubistvo bez psihijatrijskog stanja verovatno. Naprasna samoubistva, bez prethodnih znakova koje bi porodica primetila, nisu retka, međutim to nije uvek pokazatelj odsustva oboljenja. Neretko se baš prva epizoda depresije, psihoze ili anksioznosti prikaže upravo pokušajem samoubistva, koji može ili ne mora završiti letalnim ishodom. Takođe, stresni životni događaji (smrt bliske osobe, gubitak posla itd.) u navedenom istraživanju nisu ispitivani.

Uopšte gledano, studije o ekspresiji ovog proteina u humanim uzorcima mozga nisu česte. U animalnom modelu, na mladim miševima, jedna studija je pokazala da administracija glukokortikoida smanjuje metilaciju *FKBP5* u hipokampusu, hipotalamusu i krvi, te dovodi do pojačane ekspresije proteina FKBP5 i ponašanja koje odgovara anksioznosti [117]. Znatno češće u ovim humanim tkivima ispitivana je ekspresija *FKBP5* gena i različite studije zaista pokazuju da je ekspresija bila promenjena u samoubistvu u poređenju sa kontrolama [107,118]. U tom smislu, studije kao što je naša su retke i potrebna su dalja istraživanja na nivou samog proteina. Ono što, prema našim saznanjima u literaturi još nije opisano jeste uticaj ekspresije proteina FKBP5 u odnosu na odabir načina za izvršenje samoubistva. Naše istraživanje pokazalo je značajno nižu ekspresiju u hipokampusu kod osoba koje su odabrale visokoletalne načine suicida. Biološka osnova upotrebe visokoletalnih načina uočena je još i u vezi sa potpuno drugačijim proteinom BDNF (engl. *brain-derived neurotrophic factor*) [119]. Hipokampus, kao deo limbičkog sistema, je na brojne načine uključen u poremećaje povezane sa samoubistvom, pogotovo u odgovoru na stres i traumu. Odabir visokoletalnog metoda može, između ostalog, biti posledica rešenosti da se život okonča. Tačnije, pokušaj samoubistva niskoletalnim načinom može biti samo "poziv u pomoć", odnosno nesuicidalno ka sebi usmereno nasilje koje se završilo letalnim ishodom. Brojni autori su povezivali pokušaj samoubistva, suicidalno ponašanje, odnosno uspešno izvršenje samoubistva sa FKBP5. Međutim, ključne razlike između ovih pojmova postoje i veruje se da su oni koji pokušavaju i oni koji izvršavaju suicid potpuno dve različite grupe koje se samo delom preklapaju [113].

Kako je ovo, prema našem saznanju, prva studija koja je uočila povezanost ekspresije FKBP5 proteina i letalnosti izvršenog suicida, potrebno je sprovesti obimnija i detaljnija istraživanja kako na centralnom, tako i na periferenom nivou, a u smislu genetičkih i epigenetičkih promena i promena u ekspresiji samog proteina u različitim tkivima, ne bi li se detaljnije objasnila ova veza sa odabirom visokoletalnog načina samoubistva.

Testiranje povezanosti genotipova polimorfizma rs1360780 i ekspresije proteina FKBP5 u ispitivanim strukturama mozga pokazalo je povezanost snižene ekspresije proteina FKBP5 u PFC sa rizičnim genotipovima (CT+TT), nezavisno od grupa. Ovo nije u skladu sa objašnjenjima koja nudi literatura u vezi sa efektima T alela. Kao što je već pomenuto, ova varijanta pojačava transkripciju te i količinu proteina FKBP5 koji smanjuje senzitivnost GR. Možemo pretpostaviti da su, kao i kod GR efekti genetskog polimorfizma na nivo ekspresije različiti u različitim strukturama mozga. Takođe, i drugi polimorfizmi koje ovde nismo ispitivali su mogli uticati na ovakvo ispoljavanje proteina.

Jedno od glavnih ograničenja savremenih studija ovog tipa je visok komorbiditet kod ispitanika. Primera radi, najmanje polovina pacijenata koji pate od PTSP takođe ima dijagnozu depresije [120]. Ovo je zato što su oba oboljenja povezana sa stresom i imaju simptome i faktore rizika koji se preklapaju. Različiti pristupi kao što su funkcionalni neuroimaging, testovi funkcionisanja HHA ose i identifikacija genetičkih i epigenetičkih faktora u kliničkim i autopsijskim studijama mogu pomoći u diferencijaciji ovakvih poremećaja. Iako su brojne studije potrebne kako bi se razumeo način na koji FKBP5 menja rizik za različita oboljenja i suicidalnost, može biti značajan kao biomarker za povećan rizik za povišen stres i osteljivost na traumu. Kombinovanjem genetičkih, epigenetičkih i transkripcionih pokazatelja moći ćemo da dobijemo uvid u ulogu FKBP5 u afektivnim poremećajima i suicidalnosti.

Protein SKA2 učestvuje u translokaciji GR iz citoplazme u jedro. Ovakva uloga mu omogućava da utiče na negativnu povratnu spregu HHA ose [76]. Prethodna istraživanja koja su se bavila etiologijom samoubistva i oboljenja koja su u uskoj vezi sa njim ispitivala su ekspresiju SKA2 u uzorcima krvi živih ispitanika, dok su u tkivu mozga iz autopsijskog materijala ispitivali ekspresiju gena *SKA2*, odnosno stepen njegove metilacije. U takvim istraživanjima, uočena je smanjena ekspresija proteina u krvi depresivnih pacijenata i ekspresije gena u uzorcima mozga osoba koje su suicid izvršile [78,80,121]. Ovakvi rezultati sugerišu da je poremećaj u normalnom funkcionisanju proteina SKA2 usko povezan sa izvođenjem samoubistva, te je čak predložen kao biomarker samoubistva [121]. Ipak, rezultati nisu uvek jasno pokazivali da li je disregulacija ovog proteina u vezi sa samoubistvom ili pak značajan faktor u etiologiji psihijatrijskog oboljenja [61,121]. Pandey i sar. su, međutim, pokušali da pojasne ove odnose proučavanjem ekspresije gena i proteina u PFC. Došli su do zaključka da je ekspresija *SKA2*/*SKA2* bila značajno snižena u prefrontalnom koreteksu žrtava samoubistva u poređenju sa zdravim kontrolama i psihijatrijskim kontrolama koje nisu pokušavale suicid. Takođe, ekspresija gena i proteina u izvršilaca suicida sa depresijom, shizofrenijom i bolestima zavisnosti bila je značajno

niža u poređenju sa zdravim kontrolama, kao i sa kontrolama sa depresijom i shizofrenijom. Ovakvi rezultati doveli su do zaključka da je ekspresija SKA2 u PFC specifična za suicid, a ne za ispitivane psihijatrijske bolesti [80]. U cilju boljeg shvatanja uloge SKA2/SKA2, naša studija je proučavala polimorfizam rs7208505 i ekspresiju ovog proteina u tri moždane strukture. Učestalosti ispitivanih genotipova nisu pokazale značajnu povezanost sa izvođenjem samoubistva. Nije primećen ni uticaj genotipova na izbor načina samoubistva prema letalnosti i mutilantnosti, kao ni prema prisustvu, odnosno odsustvu psihijatrijskog oboljenja (koje je, kao što smo već naveli utvrđivano nedovoljno preciznim intervjuom u većini slučajeva). Takođe, kada su posmatrane razlike između slučajeva i kontrola niti u jednoj od struktura, pa ni u PFC, nije uočena očekivana statistički značajna razlika. U poređenju sa prethodno navedenom studijom Pandey i sar. naš uzorak je bio nešto manji. Ipak, postojala je jedna značajna razlika, a to je udeo smrtonosnih trovanja psihotropnim lekovima u grupi suicida. Naime, u opisanoj publikaciji u pojedinim slučajevima lekovi prisutni u krvi u vreme umiranja većinom su bili oni koji se daju u terapiji oboljenja od kojih su ispitanici bolovali. Opet se postavlja pitanje mogućeg letalnog ishoda kao posledice nesrećnog slučaja nesuicidalnog ka sebi usmerenog nasilja. Kriterijumi za prosuđivanje o poreklu ovakvih smrti nisu jasno definisani. Ovo može biti uzrok izostanka korelacije između naših rezultata u ekspresiji SKA2 u PFC. U trenutku izrade disertacije nisu bili dostupni literaturni podaci o ekspresiji SKA2 proteina u amigdalama i hipokampusu, te rezultati našeg istraživanja mogu biti razlog za buduće obimnije i detaljnije studije u navedenim delovima mozga. Takođe, ovde treba opet pomenuti uticaj terapije, tačnije antidepresiva koji se učestalo koriste u prevenciji suicida i suicidalnog ponašanja. Naime, pojedini pacijenti razvijaju suicidalne ideje po započinjanju antidepresivne terapije, što je nazvano fenomenom tretmanom izazvana suicidalna ideacija (engl. *treatment-emergent suicidal ideation*, TESI). Jedan od polimorfizama koji se pominje u rasvetljavanju ove pojave je upravo rs7208505 u genu [79]. Detaljnija i obimnija istraživanja na ovom polju bi svakako bila od značaja za adekvatan izbor terapije na nivou pojedinačnog pacijenta u službi prevencije samoubistva.

Značajan rezultat ovog istraživanja je uočena gotovo granična vrednost statističke značajnosti u ekspresiji SKA2 u hipokampusu između osoba obolelih od depresije i bolesti zavisnosti. Tačnije, ekspresija je bila upadljivo niža u grupi depresivno-anksioznih. Kategorija psihijatrijskog komorbiditeta nije upoređivana, jer doprinos pojedinačnih dijagnoza nije određivan. Niža ekspresija ovog proteina teorijski bi rezultirala poremećajem HHA ose u smislu njene hiperreaktivnosti, odnosno hiperkortizolemije. Tačnije, produženi odgovor kortizola na stres u odnosu na pravovremeno vraćanje u fiziološke vrednosti može biti uzrok razvoja depresije. Međutim, kod bolesti zavisnosti, to ne mora biti slučaj. Naime, zavisnost od alkohola ima bifazni efekat na HHA osu dok osoba prolazi kroz različite faze teškog opijanja [122]. Tačnije, ove razvojne faze se ogledaju u smeni hipo- i hiperreaktivnosti HHA ose na stresne događaje. Početak zavisnosti od alkohola praćen je naletima hiperkortizolemije dok osoba prolazi kroz

cikluse ponovljenih epizoda intoksikacije alkoholom i stresa zbog prekidanja uzimanja [123]. Prelazak u stanje zavisnosti je praćeno hiporeaktivnošću ose [124]. Imajući u vidu navedeno, u zavisnosti od toga u kojoj od faza su ispitanici sa zavisnošću bili mogla je postojati niža ili viša reaktivnost ose. Takođe, hipokampus je region mozga ključan za učenje, za koje je potrebna neurogeneza [125]. Hronična, prekomerna upotreba alkohola, kao i trauma u ranom životnom dobu, imaju dramatične efekte na hipokampus [126]. Uočeno je da dugotrajna konzumacija alkohola, između ostalog i putevima posredovanim stresom, utiče na ovu moždanu strukturu [37]. Sve gore navedeno može biti objašnjenje za razliku u ekspresiji SKA2 između osoba sa depresijom i bolestima zavisnosti i to upravo u hipokampusu. Dalja istraživanja sa većim uzorkom, podkategorijama u smislu supstance koja je predmet zavisnosti, ili čak faze u kojoj se bolest nalazi, mogle bi dodatno razjasniti ovakav rezultat.

Konačno, kada smo testirali interakciju između različitih genotipova u ispitivanom polimorfizmu SKA2 gena (AA vs. AG + GG) i ekspresiju proteina SKA2 nije dostignut nivo statističke značajnosti.

Pored prethodno analiziranih bioloških faktora u obe studije slučajeva i kontrola analizirali smo i sociodemografske i brojne druge karakteristike ispitanika.

U uzorku studije slučajeva i kontrola kojom se analizira učestalost varijanti polimorfizama u genima *NR3C1*, *FKBP5* i *SKA2* kod žrtava suicida i osoba koje su umrle na drugi način, a koja je obuhvatila obdukovane slučajeve samoubistava u jednogodišnjem periodu nalazila su se 123 slučaja samoubistva i 141 kontrola. Kao i u literaturi [127] udeo muškaraca je bio oko 3,5 puta veći. Najčešći način samoubistva bio je vešanje (45,83% kod muškaraca i 48,15% kod žena). Kod muškaraca su po učestalosti sledili suicidi izvršeni vatrenim oružjem i skakanjem sa visine, a kod žena skok sa visine i utopljenje. Tokom ove konkretne godine sva samoubilačka trovanja izvršili su muškarci, iako u petnaestogodišnjem uzorku to upadljivo češće čine žene.

U studiju slučajeva i kontrola koja je imala cilj da ustanovi povezanost ekspresije analiziranih proteina sa izvršenjem suicida uključeno je po 46 ispitanika u grupama suicida i kontrola, tako da su bile usklađene po polu i po godinama. Prosečna starost u uzorku je iznosila 51 godinu, što odgovara rezultatima iz naše deskriptivne studije. Takođe, udeo muškaraca u broju suicida je bio značajno veći. Najčešće izabran način suicida bilo je vešanje u ukupnom uzorku, kao i po polovima. Međutim, učestalost ostalih načina suicida se unekoliko razlikuje od onoga što je pokazano u petnaestogodišnjem uzorku. Na ovom mestu treba napomenuti da veličina ovog uzorka svakako nije adekvatna za donošenje validnih zaključaka o sociodemografskim karakteristikama. Međutim, postojalo je još jedno tehničko ograničenje studije. Naime, kod osoba koje su sebi oduzele život vatrenim oružjem pucajući sebi u glavu, skakanjem sa visine ili eksplozivnom napravom često su oštećenja moždanih struktura bila veoma ekstenzivna, te se uzorci nisu mogli uzeti. Iz tog razloga udeo ovih načina je manji.

U istom uzorku, a koji je podgrupa petnaestogodišnjeg, nisu ustanovljene razlike između grupa u odnosu na bračno stanje, stepen edukacije, zaposlenost i kohabitaciju. Ipak, u literaturi postoje podaci da su pojedinci sa višim stepenom edukacije naklonjeniji samoubistvu u trenucima kad se susreću sa neuspehom ili javnim poniženjem [128]. Naši rezultati pak mogu biti pokazatelj da su osobe koje su izvršile samoubistvo uspevale da zadovoljavajuće funkcionišu u svojim društvenim kategorijama, što nas dovodi do poznatog zaključka da se suicidi dešavaju na svim društvenim i kulturnim nivoima.

Ovim istraživanjem proučavali smo i uticaj značajnih životnih događaja i to prema Listi ugrožavajućih životnih događaja (engl. *List of threatening experiences*, LTE). Ovakvi događaji podeljeni su u one koji su se dogodili u periodu od 6 meseci pre izvršenja suicida i one koji su se desili još ranije u toku života. Događaji u poslednjih 6 meseci su podeljeni dodatno u one koji se odnose na ispitanika (Lično) i događaje koje su se desile njihovim bliskom osobama. Uočeno je da su osobe koje su izvršile samoubistvo češće imale značajne životne događaje koje su ih lično pogodili. Takođe, broj proksimalnih i distalnih značajnih životnih događaja bio je statistički značajno veći u posmatranoj grupi, međutim udeo proksimalnih događaja u ukupnim životnim događajima nije pokazao značajnu razliku. Iz ovoga se može zaključiti da su izvršioци samoubistva tokom života imali više stresnih događaja, koji su eventualno mogli uticati na razvoj suicidalnih namera, ali da skorašnji događaji kod većine nisu značajno uticali na sam čin. Sličan zaključak izveli su i Park i sar. [129] koji su ukazali na to da su negativni životni događaji povezani sa većim suicidalnim rizikom kod žena koje boluju od MDD.

U studiji slučajeva i kontrola koja je obuhvatila samoubistva u jednogodišnjem periodu, psihijatrijska oboljenja su bila znatno češća u grupi suicida (oko 57%). Kao što je već istaknuto, u literaturi je taj procenat znatno veći, oko 90%, međutim, intervju koji se u ovom slučaju koristio ne može da detektuje sve slučajeve niti da ih razvrstava po podkategorijama različitih oboljenja. U studiji slučajeva i kontrola koja je proučavala uticaj ekspresije proteina imali smo od strane specijaliste psihijatrije ustanovljenu dijagnozu (bilo na osnovu dostupne medicinske dokumentacije ili heteroanamnestičkih podataka). Kako je u rezultatima pokazano kontrole su očekivano najčešće bile bez psihijatrijskog oboljenja, ali su u gotovo četvrtini ipak bile prisutne bolesti zavisnosti. Ovakav podatak se može objasniti nesmotrenim ponašanjem zavisnika, te nenamernim dovođenjem sebe u opasnost u smislu saobraćanog traumatizma ili razvoja somatskih bolesti koje će pre dovesti do prirodne smrti. U posmatranoj grupi 91,3% ispitanika imalo je neku od praćenih psihijatrijskih dijagnoza, što, uprkos veličini uzorka, odgovara učestalosti u većim studijama [130,131]. Najčešće dijagnoze su bile u kategorijama depresivno-anksioznih stanja i psihijatrijskog komorbiditeta. Međutim, uvidom u to koja su stanja predstavljala komorbidite ustanovljeno je da je apsolutno najčešća dijagnoza bolesti zavisnosti (16/17), koje je pratila dijagnoza depresivno-anksioznih stanja (15/17). Naši rezultati se slažu sa literaturnim podacima koji pokazuju da je kod samoubistva najveća prevalencija depresivnih stanja i zloupotrebe supstanci, najčešće alkohola [131]. Holmstrand i sar.

proučavali su dugoročni rizik za suicid kod različitih psihijatrijskih oboljenja pojedinačno i u komorbiditetu. Depresija, zloupotreba alkohola i psihoze su u toj studiji pokazale povišen rizik same po sebi. Međutim poslednje dve, ukoliko su izolovane, imaju manji rizik od depresije. Ali, ako se prethodno navedenim bolestima dodaju komorbiditetne, rizici značajno rastu. Upadljivo je visok rizik kod muškaraca koji boluju od depresije uz zavisnost od alkohola, čak 16,2% [132].

U studiji slučajeva i kontrola koja je proučavala ekspresiju ispitivanih proteina, uočeno je da je u grupi samoubistava znatno veći udeo osoba koje su se psihijatrijski lečile, što je bilo u skladu sa udelom psihijatrijski obolelih u ovoj grupi. Dodatni pokazatelj da se većina psihijatrijski obolelih i lečila jeste i to što je značajno veći broj psihijatrijski obolelih u vreme umiranja imao pozitivan toksikološki nalaz. Iako su toksikološke analize obuhvatale i psihotropne lekove i droge, prisustvo droga je značilo bolest zavisnosti, te nije značajno uticalo na ovaj zaključak. Takođe, iako nije bilo statistički značajne razlike u prisustvu psihijatrijskog oboljenja u odnosu na broj pokušaja, upadljivo je da osobe bez psihijatrijskog oboljenja nisu imale prethodne pokušaje, što je najverovatnije posledica činjenice da je prvi i poslednji, odnosno uspešni, pokušaj bio prva manifestacija oboljenja ili loše adaptacije na skorašnji životni stresni događaj.

Nakon podele načina suicida na visoko- i niskoletalne u obe studije slučajeva i kontrola visokoletalni načini samoubistva su bili češći od niskoletalnih. U studiji koja se bavila genetičkim varijacijama, najverovatnije zbog veličine uzorka (123 slučaja), broj trovanja u muškaraca i njihovo odsustvo u žena su značajno uticali na njihov odnos, te razlika nije bila očekivano upadljiva između polova. Takođe, u studiji koja je proučavala ekspresiju značajnih proteina nije bilo značajne razlike između polova. Ovo se može objasniti činjenicom da su visokoletalni načini koji muškarci češće biraju (vatreno oružje, eksploziv) retko uzorkovani iz ranije opisanih tehničkih razloga. Petnaestogodišnji uzorak je u tom smislu znatno reprezentativniji za procene ovakvih odnosa.

Kao i u uzorku u deskriptivnoj studiji, koji je obuhvatao manje uzorke iz dve studije slučajeva i kontrola, nije uočena razlika u izboru visokoletalnog načina za izvršenje samoubistva u odnosu na alkoholisanost definisanu granicom alkoholemije 0,3 mg/mL. Podela na podkategorije alkoholemije nije izvršena zbog male veličine uzorka.

U deskriptivnoj studiji koja je obrađivala petnaestogodišnji uzorak izvršenih suicida ispitivali smo brojne moguće faktore rizika, kako one opšte, sociodemografske (pol, starost, bračni status, radni status itd.) tako i brojne druge karakteristike ispitanika. Takođe ispitivani su faktori rizika za izbor određenog načina samoubistva.

Ovaj uzorak činilo je oko tri puta više muškaraca što odgovara podacima Ilića za Republiku Srbiju [127]. Navedeno istraživanje obuhvatilo je period od 1991. do 2014. godine, a uzorak je činilo 24016 muškaraca i 9914 žena. Međutim, prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (SZO) za 2019. godinu razlika u stopi suicida u Srbiji između polova je nešto manja, za muškarce 16,6 na 100000, a za žene 6,3 [3]. Prosečna

starost u trenutku izvršenja suicida bila je 55 ± 18 godina, bez razlike među polovima. Izvođenje samoubistva najčešće je u rasponu 50-69 godina.

Najučestaliji način samoubistva u oba pola u našoj studiji bilo je vešanje (76,1%), što je konzistentno sa podacima za našu zemlju koje iznosi Ilić i Ilić [127]. Kod muškaraca su na drugom i trećem mestu po učestalosti vatreno oružje i skok sa visine, a kod žena skok sa visine i trovanje.

Najučestaliji načini samoubistva se razlikuju među regionima sveta. Prema podacima SZO vešanje, trovanje pesticidima i vatreno oružje su vodeći načini suicida, ali udeo načina varira u različitim regionima sveta [133]. Naime, vešanje prednjači u istočnoj Evropi, vatreno oružje u Sjedinjenim Američkim Državama, dok je skok sa visine učestao u gradovima i urbanim sredinama kao što je Hong Kong. Trovanje pesticidima je metod izbora u mnogim azijskim zemljama i Latinskoj Americi, dok je trovanje lekovima češće u Skandinaviji i Ujedinjenom Kraljevstvu [133]. Razlog iz kojeg se vešanje u našoj zemlji učestalo bira može biti taj što je ovaj način veoma efikasan (spada u visokoletalne načine), jeftin, gotovo bezbolan i jednostavan jer je sredstvo lako dostupno (konopci, kablovi, delovi odeće).

U ovoj studiji, kako je i opisano, a na osnovu različitih publikacija [9,89-91] načini samoubistva su podeljeni na visokoletalne i niskoletalne, i visokoletalan metod je očekivano znatno učestaliji. Jedno od objašnjenja za ovako veliku razliku, pored kulturoloških razlika, može biti i to što trovanja često ostanu neregistrovana. Naime, odsustvo spoljašnjih povreda, tragova na licu mesta (lekovi, droge, njihova ambalaža), korisnih podataka o preminulom rezultiraju time da tužiocima ne zahtevaju obdukcije. Na ovaj način određeni broj slučajeva trovanja ostaje neprimećen i izostaje iz kategorija suicida.

Naše istraživanje je potvrdilo nalaze iz literature [134] da muškarci značajno češće biraju visokoletalne načine suicida, gde vešanje zauzima prvo mesto. Iste rezultate dobili smo i u studijama slučajeva i kontrola. Takođe, uočili smo da je nakon vešanja sledeći najzastupljeniji metod kod muškaraca vatreno oružje (32,8%), a zatim skok sa visine (13,4%). Kod žena se vatreno oružje nalazi tek na petom mestu (5,4%), a nakon vešanja najveću učestalost imaju skok sa visine (28,9%), trovanje (7,5%) i utopljenje (7,3%). Prema istraživanju Ilić i Ilić postoji ushodni trend u ispitivanom periodu u mortalitetu među muškarcima starosne dobi 50-59 koji su autori pripisali samoubistvu vatrenim oružjem i eksplozivnim napravama u Srbiji [127]. Ovo su autori objasnili činjenicom da su muškarci koji su učestvovali u ratnim dejstvima u regionu tokom devedesetih godina prošlog veka donosili kući oružje, koje im je kasnije bilo dostupno. Na isti način autori su objasnili manju stopu u mortalitetu od suicida ovim metodama u mlađih muškaraca koji nisu učestvovali u ratnim dejstvima. Još jedno od mogućih objašnjenja veće učestalosti visokoletalnih metoda u muškaraca je i urođeno viši nivo testosterona. Testosteron utiče na agresivnost, raspoloženje i kogniciju, te kroz ove osobine i na suicidalnost [54]. Takođe, po androgenom modelu izloženost povišenim nivoima androgena u prenatalnom periodu povećava rizik za izvršenje samoubistva [135]. U našoj studiji nije uočena značajna razlika

po starosnim grupama u izboru letalnijeg načina suicida, iako su je pojedine studije uočile u smislu veće letalnosti u starijem životnom dobu (preko 50 godina)[136] kada su namere jasnije, planiranje detaljnije, a sredstva dostupna.

Upotreba vatrenog oružja kod žena je veoma retka. Prema našem iskustvu u obdukcionom radu žene koje koriste vatreno oružje da sebi oduzmu život su one koje oružje koriste u svojem profesionalnom radu (npr. policija). Iz tog razloga se u praksi vodimo pravilom da svako smrtonosno ustreljivanje kod žena smatramo ubistvom dok se ne dokaže drugačije. Dostupnost sredstava je u svakom slučaju izuzetno važan faktor u izboru načina samoubistva [137], te to može biti i jedan od razloga zašto muškarci češće biraju vatreno oružje – češće su kroz profesiju nosioci oružja (policija, vojska), bave se lovom, a i deo kulture u našoj zemlji povlači za sobom i posedovanje oružja.

Naša studija potvrdila je opšteprihvaćene stavove da, iako muškarci tri puta češće umiru od samoubistva, žene imaju značajno češće neuspele pokušaje izvršenja [138]. U tom smislu frekventan izbor vatrenog oružja kod muškaraca može biti i razlog zašto je mortalitet višestruko veći nego kod žena. Takođe, osobe muškog pola češće boluju od bolesti zavisnosti [139] koje su faktor rizika za izvršenje suicida [48]. Nažalost, u našem uzorku zbog nepreciznog intervjua nismo mogli da ispitamo učestalost bolesti zavisnosti.

Mesto izvršenja suicida može imati uticaj na izbor metoda, ili, pak, izbor načina može diktirati mesto izvršenja. Naime, u našem uzorku osobe koje su sebi život oduzimale na javnim površinama (ulica, javna garaža, most, park) činile su to letalnijim načinom. S druge strane učestalost niskoletalnih načina bila je češća na svom posedu (kuća, stan, dvorište, pomoćna zgrada, garaža) nego na drugom mestu. Ovakvi rezultati mogu biti objašnjeni činjenicom da oni koji su izabrali da izvrše samoubistvo na javnom mestu nisu želeli da ostave mogućnost pokušaja spasavanja od strane drugih ljudi i preživljavanja.

Prisustvo psihijatrijskog oboljenja značajno je uticalo na odabir načina samoubistva. Prisustvo ovakve vrste bolesti za retrospektivnu deskriptivnu studiju ustanovljavano je uvidom u upitnik koji se koristi na Institutu za sudsku medicinu u sklopu intervjua koji specijalista sudske medicine obavlja sa članovima porodice ili bliskim prijateljima preminule osobe. Izvršilac samoubistva je mogao imati stručno postavljenu dijagnozu, biti lečen ili ne, ili su heteroanamnestički podaci bili takvi da se lako moglo zaključiti da je neka vrsta oboljenja postojala (najčešće su to bila depresivna stanja, bipolarni poremećaji, psihoze i bolesti zavisnosti). Kako ovakav upitnik nije usko specijalizovan za detekciju psihijatrijskih stanja, ovi rezultati se moraju uzeti sa rezervom. Iz tog razloga, udeo osoba sa psihijatrijskim oboljenjem (53,3%), već dijagnostikovanim ili pretpostavljenim od strane trećih lica koja su davala podatke, je dosta niži nego u literaturi, gde je učestalost oko 90% [130,131]. Slični rezultati dobijeni su i u studiji slučajeva i kontrola koja je ispitivala varijacije u genima, a zbog istog načina prikupljanja heteroanamnestičkih podataka. Dakle, na osnovu dostupnih podataka uočeno je da osobe sa psihijatrijskom dijagnozom češće biraju manje smrtonosan način samoubistva, što je u saglasnosti sa nacionalnom studijom Yeum i sar. koji su takođe zaključili da je faktor rizika za izbor visokoletalnog načina

suicida prethodno nedijagnostikovano psihijatrijsko oboljenje [136]. Dešava se da psihijatar kod pacijenta sa suicidalnom idejom previdi rizik za izvršenje suicida ako nema prethodno ustanovljeno oboljenje, što predstavlja veliki problem jer ovakve osobe biraju visokoletalne načine, te je fatalni ishod verovatniji. Jedno od mogućih objašnjenja za izbor niskoletalnih metoda među bolesnicima može biti i to što su im psihijatrijski lekovi, koji se često nalaze među korišćenima za suicid, dostupniji. Takođe, za visokoletalno ustreljivanje vatrenim oružjem potreban je pristup istom, a dozvole za posedovanje oružja se u slučaju da osoba ima postavljenu dijagnozu teže dobijaju.

Postoji veliki broj publikacija koji se bavi prethodnim pokušajima samoubistva. Takođe, termin pokušaj samoubistva ima više svojih subkategorija i definicija koje nisu uvrštene u upitnik koji smo koristili, niti su ispitivači imali uvid u zvaničnu podelu nasilja usmerenog ka sebi. Naime, ka sebi usmereno nasilje (engl. *self-directed violence* ili *self injurious behaviour*) predstavlja ponašanje koje je usmereno na sebe i namerno dovodi do povređivanja ili ima potencijal da dovede do povrede. Ovakvo nasilje se deli na nesuicidalno i suicidalno. Nesuicidalno ka sebi usmereno nasilje je ono za koje ne postoje eksplicitna ili implicitna suicidalna namera (namera da se sebi oduzme život). U suicidalnom ka sebi usmerenom nasilju ta namera postoji. Dalje, pokušaj samoubistva je ne-fatalno ka sebi usmereno potencijalno povređujuće ponašanje sa namerom da se na taj način sebi oduzme život. Ovakav pokušaj može i ne mora da rezultira povredom. Takođe, treba razlikovati i prekinuto ka sebi usmereno nasilje i to od strane druge osobe ili od strane same osobe koja vrši nasilje nad sobom (još se u literaturi koristi i naziv engl. naziv "*aborted*" suicidal behavior) koje se može dogoditi u bilo kom trenutku pre fatalnog ishoda [140]. Uveden je i termin "ozbiljan pokušaj samoubistva" (engl. *serious suicide attempt*) koji predstavlja pokušaj koji bi bio fatalan da nije bilo prve pomoći i drugih vrsta urgentnog lečenja ili čak i slučajnosti. Ovakvi slučajevi su dragoceni jer daju uvid u razumevanje poremećaja koji bi sa sigurnošću doveli do izvršenog samoubistva [141]. Prethodni pokušaji suicida predstavljaju vrlo značajan faktor rizika za izvršenje suicida [90,142] i zaključci publikacija na ovu temu su vrlo raznovrsni. Prema britanskom pregledu literature približno 7% onih koji su pokušali samoubistvo su kasnije na taj način i umrli, oko 23% je ponovo pokušalo, ali sa nefatalnim ishodom, a čak 70% nije ponovo pokušavalo [143]. Park i saradnici nisu našli nikakvu povezanost između postojanja prethodnog pokušaja samoubistva i letalnosti poslednjeg izbora [9]. Parascakis i sar. su u svojoj studiji zaključili da je u njihovom uzorku četvrtini izvedenih suicida prethodio pokušaj. Većina onih koji su prethodno pokušali samoubistvo (iako definicija prethodnog pokušaja nije jasno istaknuta) promenila je način izvršenja konačnog samoubistva. Osobe koje su u svom prethodnom pokušaju izabrale niskoletalni u sledećem su birali visokoletalni. Takođe, oni koji su pokušali suicid vešanjem ili skakanjem sa visokog mesta ostali su pri svom izboru i u poslednjem [144]. Sa druge strane, neki istraživači su pokazali da je više od polovine onih koji su već pokušavali promenilo svoj način u neki od visokoletalnih, najčešće u vešanje [145,146]. Međutim oni koji su pokušali niskoletalnim

načinom ostaju u toj grupi [145], što važi i za visokoletalne [147], iako ga možda menjaju u okviru grupe letalnosti. Promena iz LLM u HLM je snažan prediktor izvršenog suicida, a sa većim brojem pokušaja raste i letalnost [148].

U našem petnaestogodišnjem uzorku u nešto više od petine (21,6%) svih izvršenih suicida postojao je prethodni pokušaj. I, kako je već pomenuto, značajno je češći kod žena. Dalje, prema našim rezultatima, osobe koje su prethodno pokušavale samoubistvo su statistički značajno češće birale niskoletalni način suicida od onih koji su ga u prvom pokušaju i izvršili ($p < 0,05$). Kako u višegodišnjoj retrospektivnoj studiji nismo imali podatak o načinu prethodnog pokušaja, ne možemo sa sigurnošću tvrditi da li se i u kom smeru kretao letalitet. Takođe, postoji mogućnost da je deo niskoletalnih načina predstavljao nesuicidalno ka sebi usmereno nasilje koje se ipak fatalno završilo. I na kraju, izbor načina može imati potpuno lične razloge koji nisu lako podložni menjanju, te tako oni koji su izabrali trovanje ili oštar predmet za izvršenje prethodni put ostaju pri svom izboru i poslednji, što bi odgovaralo nalazima studije Goñi-Sarriés i saradnika [145].

Kada smo u deskriptivnoj studiji analizirali prisustvo lekova u krvi u vreme izvršenja samoubistva uočeno je da je prisustvo antidepresiva bilo zastupljenije kod žena. Ovakav odnos postoji i u opštoj populaciji. Trend porasta propisivanja antidepresiva je sveprisutan, ali se razlike među polovima održavaju [149]. S druge strane, prisustvo droga bilo je značajno češće u muškaraca što je objašnjivo činjenicom da su muškarci znatno češće i zavisnici od psihoaktivnih supstanci [139].

Razlike u korišćenju lekova u vreme samoubistva u smislu značajno češće upotrebe kod niskoletalnih metoda posledica su velikog učešća samoubilačkih trovanja u ovoj grupi. To se zapaža i iz izbora supstanci gde su upadljivije razlike za upotrebu više od dve vrste supstanci i u kategoriji "drugo" koja je obuhvatala upotrebu kardioloških lekova i pesticida. Takođe, anksiolitici su ubedljivo najčešće korišćen lekovi u grupi visokoletalnih načina, što je najverovatnije posledica široke upotrebe ovih lekova u populaciji.

U našem uzorku od 1709 osoba koje su izvršile suicid sa merenom alkoholemijom u vreme umiranja ustanovljeno je da osobe sa alkoholemijom u rasponu 1,5-2,99mg/mL značajno češće sebi oduzimaju život visokoletalnim načinom. U studiji Parka i sar. to su bile vrednosti u opsegu 1.5-1.99‰, što delimično odgovara i našim nalazima. Takođe, kako u njihovom, tako i u našem istraživanju, nakon pikova u navedenim intervalima, a sa daljim rastom alkoholemije broj visokoletalnih samoubistava je opadao [9]. Ovo se može objasniti činjenicom da visoka alkoholemija dovodi do smanjenih psihomotornih sposobnosti, te je izvođenje radnji kao što je pravljenje omče ili rukovanje vatrenim oružjem otežano. Takođe, poznato je da alkohol povećava impulsivnost [150] te tako konzumacija alkohola može povećati verovatnoću za pokušaj samoubistva kod osoba koje su pod rizikom da ga izvrše [151]. Ipak, literatura sugeriše da impulsivnost i letalnost pokušaja samoubistva mogu imati i obrnut odnos, tj. da impulsivniji pokušaji rezultiraju nižim morbiditetom, dok manje impulsivni češće budu letalniji [152]. S druge strane, ovo ne bi trebalo uzeti kao pravilo i kliničari ne bi smeli da minimalizuju značaj impulsivnih

pokušaja jer, kako Spokas i sar. navode, mogu biti povezani sa sličnim nivoom letalnosti kao i planirani pokušaji [153]. Takođe, konzumacija alkohola pred izvršenje suicida smanjuje uvid osobe u realnost, njenu sposobnost rasuđivanja i odgovornost [154]. Ovo može, u određenom stepenu, uticati na izbor načina izvršenja samog akta jer se razlikuju po kompleksnosti pripreme, planiranja i izvođenja [9]. Imajući na umu efekat alkohola na nervni sistem i različite literaturne podatke koji ne pokazuju jasan konsenzus o vezi alkoholemije i izbora načina samoubistva u smislu njegove letalnosti može se zaključiti da je ova veza veoma kompleksna.

Značajno je istaći, a u vezi sa upotrebom alkohola, da osobe muškog pola češće boluju od bolesti zavisnosti [139] koje su faktor rizika za izvršenje suicida [48]. Na to ukazuju i naši rezultati – muškarci su znatno češće pod uticajem alkohola u trenutku izvršenja. Takođe, u svim kategorijama alkoholemije učešće muškog pola je bilo veće. Ovo može biti jedno od objašnjenja, uz sve prethodno navedeno, zašto češće biraju visokoletalne načine suicida.

Za druge analizirane sociodemografske varijable (zaposlenost, aktuelna partnerska veza, hronična oboljenja, ranije povrede i operacije) u petnaestogodišnjem uzorku nije pokazana značajnost što je u skladu sa dostupnom literaturom [9]. Tako, Kposowa navodi da bračni status nema uticaja na rizik od suicida, sem kod razvedenih muškaraca kod kojih je rizik dva puta veći nego u oženjenih [155]. Ipak, Yip i Caine su ukazali na veoma kompleksan uticaj zaposlenosti. Naime, iako je postojala snažna korelacija između stopa nezaposlenosti i samoubistva, stope suicida kod zaposlenih i nezaposlenih su se kretale u suprotnim smerovima u odnosu na trend u ukupnoj populaciji. Tačnije, stopa suicida je kod nezaposlenih smanjivala tokom perioda recesije, a rasla tokom oporavka ekonomije [156].

Ograničenje dela studije koji je učinjen na petnaestogodišnjem uzorku jeste što je rađen na populaciji teritorije Beograda koja ima približno 1,68 miliona stanovnika, što je 23.68% od ukupne populacije Republike Srbije [157]. Ipak, poznato je da postoji određeni broj ljudi koji živi neprijavljeno, te se pretpostavlja da stvaran broj osoba koje žive i umiru u Beogradu čini trećinu populacije Srbije [158]. Prema aktuelnim srpskim zakonima trebalo bi da postoji jedan sudski lekar na 250000 stanovnika. Od 56 licenciranih lekara specijalista sudske medicine gotovo polovina radi u Beogradu [159]. Tako neravnomerna distribucija može rezultirati većom učestalošću obdukcija u Beogradu u odnosu na druge regione. Činjenica da su ovim istraživanjem pokriveni svi kompletno obdukovani slučajevi samoubistva u samo jednom regionu može se smatrati ograničenjem studije. Ipak, incidencija kompletnih obdukcija i primena zakona u slučaju ovakvih smrti je vrlo neravnomerna. Čak i tako, dostupnost autopsijske dijagnostike je najveća u Beogradu, te čak i da postoji mogućnost za nacionalnu analizu pretpostavljamo da broj slučajeva ne bi bio značajno veći.

Sve prethodno izneto ukazuje da bilo koji od ekstrema u funkcionisanju HHA ose može dovesti do povećanja rizika za izvođenje samoubistva različitim mehanizmima. Tačnije, s jedne strane hipersenzitivnost GR i posledična hipokortizolemija mogu onemogućiti osobu da formira primeren odgovor na stresor u slučajevima kada sredinski faktori sami po sebi predstavljaju traumu koja predisponira osobu za suicid. Suprotno tome, oštećena negativna povratna sprega HHA ose u smislu rezistencije GR na glukokortikoide može dovesti do hiperkortizolemije i produženog odgovora na stres, te i do izvršenja samoubistva.

Uticaoj različitih genetičkih i biohemijskih faktora rizika za izvršenje samoubistva je, osim zbog odgovora na čisto naučna pitanja o etiologiji ove sveprisutne pojave, od izuzetnog značaja i za bolje razumevanje, spoznavanje rizika i prevenciju suicida. Pored toga, pojedine promene u genomu imaju i direktan uticaj na odgovor na terapiju. U tom smislu istraživanja mogu poslužiti za formiranje personalizovane terapije kod podložnih pacijenata.

U etiologiji suicidalnosti ključna mesta pripadaju biološkim, sredinskim i psihološkim faktorima. Uvid u različite socio-demografske karakteristike, postojanje psihopatologije, eventualne psihosocijalne faktore koji su tokom života uticali na jedinku, i konačno biološke, odnosno genetičke pojedinosti, značajan je kako za dijagnostiku i terapiju, tako i u sudskomedicinskoj praksi. Naime, diferencijacija samoubistva, ubistva i zadesa jedno je od najvažnijih forenzičkih pitanja i važan je deo sudskomedicinske prakse i nauke. Ovaj se proces najčešće i u najvećem broju slučajeva završava već u obdukcionoj sali ili se o tome diskutuje kroz veštačenja u daljem sudskom procesu. Proces diferencijacije kategorija nasilne smrti standardno je zasnovan na obdukcionom nalazu (makro/mikroskopskom) koji je u izvesnom postotku dopunjen hemijskotoksikološkim analizama. U onom malom procentu (ili bar onom procentu slučajeva koji smo spremni da priznamo) postavljanje granice i utvrđivanje da li je smrt samoubilačka u odnosu na druge oblike nasilnih smrti veliki je izazov. Ovim multidisciplinarnim istraživanjem pokušali smo da odredimo i prepoznamo pored sudskomedicinskih i potencijalne sociodemografske, biohemijske i genetičke "indikatore" samoubistva. Stoga, uzimajući u obzir značajne razlike između kontrolne i eksperimentalne grupe sprovedenog istraživanja, a u pogledu gorenavedenih "indikatora" konvencionalni načini diferencijacije samoubistava u odnosu na druge oblike nasilnih smrti mogli bi biti podržani ovim rezultatima.

Ova teza nudi predlog sudskomedicinskog modela-vodiča za ekspertizu samoubistva kroz definisanje faktora rizika za izvršenje suicida i odabira određenog načina samoubilačkog metoda, a na osnovu primenjenog multidisciplinarnog pristupa.

6. ZAKLJUČCI

1. Osobe sa rizičnim alelom C u polimorfizmu rs41423247 u *NR3C1* genu koji kodira glukokortikoidni receptor imaju 3,48 puta veći rizik za izvršenje samoubistva u odnosu na nosioce GG genotipa. Ova varijanta povećava senzitivnost receptora i na taj način utiče na poremećaj HHA ose.
2. U osoba koje su izvršile samoubistvo glukokortikoidni receptor, i to njegova α subjednica, ima nižu ekspresiju u amigdalama, u odnosu na osobe koje su umrle na drugi način. Ovakva promena utiče na hiporeaktivnost negativne povratne sprege HHA ose, odnosno može se tumačiti kao predisponirajući faktor za izvršenje suicida.
3. Ovo istraživanje nije potvrdilo značaj SKA2 kao potencijalnog biomarkera za samoubistvo.
4. Na ćelijskom nivou, odabir letalnijeg načina suicida je udružen sa nižom ekspresijom FKBP5 proteina u hipokampusu. Na izbor visokoletalnog načina samoubistva pored sociodemografskih karakteristika utiče akutno napito stanje u vreme izvršenja i to u rasponu alkoholemija od 1,5 do 2,99mg/mL.
5. Osobe sa depresivno-anksioznim poremećajem imaju značajno veću ekspresiju glukokortikoidnog receptora u prefrontalnom korteksu, što ukazuje da u ovih osoba postoji poremećaj HHA ose i odgovora na stres. Kako su ovakva stanja faktor rizika za izvršenje samoubistva, promena u ekspresiji ovog proteina može biti posredni predilekcionni faktor za izvođenje suicida.
6. Upotreba liste ugrožavajućih životnih događaja u sudskomedicinskoj analizi samoubilačkog porekla smrti je neophodna jer je broj lično značajnih/ugrožavajućih životnih događaja veći kod izvršilaca samoubistva (iako udeo skorašnjih životnih događaja ne povećava rizik). Traumatizacija tokom života je često rizični faktor i za razvoj psihijatrijskih oboljenja, pa su depresivno-anksiozna stanja, kao i komorbiditet u kojem učestvuju zajedno sa bolestima zavisnosti, takođe faktori rizika za izvršenje suicida.
7. Potrebna je primena sledećih ispitivanja uz standardno izvedenu sudskomedicinsku obdukciju u sveobuhvatnom sagledavanju multidimezionalnog fenomena samoubistva:
 - a. Kombinovani sudskomedicinski i psihijatrijski intervju sa osobama bliskim preminulom, koji bi, pored dobijanja osnovnih sociodemografskih podataka,

podataka o prethodnim somatskim bolestima i navikama, obuhvatao i tačno utvrđivanje vremena i načina mogućih prethodnih pokušaja suicida. Posebno značajan deo ovog intervjua bilo bi što je preciznije moguće utvrđivanje eventualne psihijatrijske dijagnoze (semistrukturisani standardizovani Mini Internacionalni Psihijatrijski Intervju) i trajanja oboljenja, ukoliko takva dijagnoza već ne postoji. U slučaju prethodno klinički potvrđene bolesti potreban je uvid u kompletnu medicinsku dokumentaciju, uključujući i podatke o upotrebljavanoj terapiji. Obavezno je i utvrđivanje značajnih životnih događaja na osnovu LTE.

- b. Uzimanje uzoraka krvi za genetičko testiranje i to na polimorfizam rs41423247 u *NR3C1* genu koji ukazuje na povećan rizik za izvršenje suicida.
- c. Uzimanje uzoraka mozga i to prefrontalnog korteksa (BA9), amigdala i hipokampusa u cilju ispitivanja ekspresije proteina $GR\alpha$ koja je snižena kod izvršilaca samoubistava. Takođe, ispitivanje ekspresije proteina FKBP5 u ovim strukturama mozga može dati informacije o eventualnom prisustvu depresivno-anksioznih stanja.
- d. Detaljna hemijsko-toksikološka analiza koja bi, pored izuzetno značajnih vrednosti alkoholemije u vreme umiranja, dala i jasan profil koncentracija psihotropnih droga i lekova. Ovakav nalaz bi u korelaciji sa prethodno izvedenim heteroanamnestičkim intervjuom dao uvid u moguća farmakološka dejstva u modifikovanju funkcije HHA ose i na taj način povećanja rizika za samoubistvo.

7. LITERATURA

1. Milovanović M. Samoubistvo. In: Milovanović M, editor. *Sudska Medicina*. 8th ed. Beograd, Srbija: Medicinska knjiga; 1979. p. 353–77.
2. World Health Organization. *Suicide data*. Available from: <https://www.who.int/teams/mental-health-and-substance-use/suicide-data> [Accessed 26th March 2021].
3. World Health Organization. *World Health Statistics data visualizations dashboard*. Available from <https://apps.who.int/gho/data/node.sdg.3-4-data?lang=en> [Accessed 26th March 2021].
4. Jašović Gašić M, Marić N. Suicidnost i suicid. In: Jašović Gašić M, Lečić Toševski D, editors. *Psihijatrija, udžbenik za studente medicine*. Beograd, Srbija: Medicinski fakultet u Beogradu; 2007. p. 251–4.
5. Ječmenica D, Pavlekić S. Zades, samoubistvo, ubistvo. In: Popović V, Atanasijević T, editors. *Sudska medicina, udžbenik za studente medicine*. Beograd, Srbija: Medicinski fakultet u Beogradu; 2010. p. 253–63.
6. Mann JJ, Arango VA, Avenevoli S, Brent DA, Champagne FA, Clayton P, et al. Candidate endophenotypes for genetic studies of suicidal behavior. *Biol. Psychiatry*. 2009;65(7):556–63.
7. McGirr A, Turecki G. The relationship of impulsive aggressiveness to suicidality and other depression-linked behaviors. *Curr Psychiatry Rep*. 2007;9(6):460–6.
8. Pennel L, Quesada J-L, Begue L, Dematteis M. Is suicide under the influence of alcohol a deliberate self-harm syndrome? An autopsy study of lethality. *J Affect Disord*. 2015;177:80–5.
9. Park CHK, Yoo SH, Lee J, Cho SJ, Shin M-S, Kim EY, et al. Impact of acute alcohol consumption on lethality of suicide methods. *Compr Psychiatry*. 2017;75:27–34.
10. Furczyk K, Schutová B, Michel TM, Thome J, Büttner A. The neurobiology of suicide - A Review of post-mortem studies. *J Mol psychiatry*. 2013;1(1):2.
11. Pandey GN. Brain CRF and the HPA axis in suicide. In: Koslow SH, Ruiz P, Nemeroff CB, editors. *A Concise Guide to Understanding Suicide, Epidemiology, Patophysiology and Prevention*. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press; 2014. p. 258–64.
12. Adzic M, Glavonic E, Nesic MJ, Milosavljevic M, Mihaljevic M, Petrovic Z, et al. Glucocorticoid receptor alpha translational isoforms as mediators of early adversities and negative emotional states. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019;90:288–99.
13. DeRijk RH, Schaaf M, de Kloet ER. Glucocorticoid receptor variants: clinical implications. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2002;81(2):103–22.
14. Smith SM, Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in

- neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin Neurosci*. 2006;8(4):383–95.
15. Raison CL, Miller AH. When not enough is too much: the role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders. *Am J Psychiatry*. 2003;160(9):1554–65.
 16. McEwen BS. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res*. 2000;886(1-2):172–89.
 17. Bamberger CM, Schulte HM, Chrousos GP. Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocr Rev*. 1996;17(3):245–61.
 18. Haley DW, Handmaker NS, Lowe J. Infant stress reactivity and prenatal alcohol exposure. *Alcohol Clin Exp Res*. 2006;30(12):2055–64.
 19. Harris A, Seckl J. Glucocorticoids, prenatal stress and the programming of disease. *Horm Behav*. 2011;59(1):279–89.
 20. Heim C, Nemeroff CB. The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. *Biol Psychiatry*. 2001;49(12):1023–39.
 21. Juster R-P, Sindi S, Marin M-F, Perna A, Hashemi A, Pruessner JC, et al. A clinical allostatic load index is associated with burnout symptoms and hypocortisolemic profiles in healthy workers. *Psychoneuroendocrinology*. 2011;36(6):797–805.
 22. McEwen BS, Gianaros PJ. Central role of the brain in stress and adaptation: links to socioeconomic status, health, and disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1186:190–222.
 23. Hardeveld F, Spijker J, Vreeburg SA, Graaf R De, Hendriks SM, Licht CMM, et al. Increased cortisol awakening response was associated with time to recurrence of major depressive disorder. *Psychoneuroendocrinology*. 2014;50:62–71.
 24. Vreeburg SA, Hoogendijk WJG, van Pelt J, Derijk RH, Verhagen JCM, van Dyck R, et al. Major depressive disorder and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: results from a large cohort study. *Arch Gen Psychiatry*. 2009;66(6):617–26.
 25. McGirr A, Diaconu G, Berlim MT, Turecki G. Personal and family history of suicidal behaviour is associated with lower peripheral cortisol in depressed outpatients. *J Affect Disord*. 2011;131(1-3):368–73.
 26. Braquehais MD, Picouto MD, Casas M, Sher L. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction as a neurobiological correlate of emotion dysregulation in adolescent suicide. *World J Pediatr*. 2012;8(3):197–206.
 27. Carlén M. What constitutes the prefrontal cortex? *Science*. 2017;358(6362):478–82.
 28. Wang L, Zhao Y, Edmiston EK, Womer FY, Zhang R, Zhao P, et al. Structural and Functional Abnormalities of Amygdala and Prefrontal Cortex in Major Depressive Disorder With Suicide Attempts. *Front Psychiatry*. 2020;10:923.
 29. LeDoux J. The amygdala. *Curr Biol*. 2007;17(20):R868-74.

30. Rajmohan V, Mohandas E. The limbic system. *Indian J Psychiatry*. 2007;49(2):132–9.
31. Bhatnagar S, Vining C, Denski K. Regulation of chronic stress-induced changes in hypothalamic-pituitary-adrenal activity by the basolateral amygdala. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1032:315–9.
32. Helm K, Viol K, Weiger TM, Tass PA, Grefkes C, Del Monte D, et al. Neuronal connectivity in major depressive disorder: a systematic review. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2018;14:2715–37.
33. Phelps EA. Human emotion and memory: interactions of the amygdala and hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol*. 2004;14(2):198–202.
34. Tatu L, Vuillier F. Structure and vascularization of the human hippocampus. *Front Neurol Neurosci*. 2014;34:18–25.
35. Miller BR, Hen R. The current state of the neurogenic theory of depression and anxiety. *Curr Opin Neurobiol*. 2015;30:51–8.
36. Bremner JD, Randall P, Scott TM, Bronen RA, Seibyl JP, Southwick SM, et al. MRI-based measurement of hippocampal volume in patients with combat-related posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry*. 1995;152(7):973–81.
37. Laakso MP, Vaurio O, Savolainen L, Repo E, Soininen H, Aronen HJ, et al. A volumetric MRI study of the hippocampus in type 1 and 2 alcoholism. *Behav Brain Res*. 2000;109(2):177–86.
38. Mann JJ. A current perspective of suicide and attempted suicide. *Ann Intern Med*. 2002;136(4):302–11.
39. Nock MK, Hwang I, Sampson N, Kessler RC, Angermeyer M, Beautrais A, et al. Cross-national analysis of the associations among mental disorders and suicidal behavior: findings from the WHO World Mental Health Surveys. *PLoS Med*. 2009;6(8):e1000123.
40. Coryell W, Young EA. Clinical predictors of suicide in primary major depressive disorder. *J Clin Psychiatry*. 2005;66(4):412–7.
41. Isometsä ET. Suicides in Mood Disorders in Psychiatric Settings in Nordic National Register-Based Studies. *Front Psychiatry*. 2020;11:721.
42. Bunney WEJ, Fawcett JA. Possibility of a biochemical test for suicidal potential: an analysis of endocrine findings prior to three suicides. *Arch Gen Psychiatry*. 1965;13:232–9.
43. Coryell W, Schlessler M. The dexamethasone suppression test and suicide prediction. *Am J Psychiatry*. 2001;158(5):748–53.
44. Perna G, Schatzberg AF. Anxiety, depression, and suicide: epidemiology, pathophysiology, and prevention. In: Koslow SH, Ruiz P, Nemeffoff CB, editors. *A Concise Guide to Understanding Suicide, Epidemiology, Pathophysiology and Prevention*. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press; 2014. p. 93–100.

45. Jollant F, Lawrence NL, Olié E, Guillaume S, Courtet P. The suicidal mind and brain: a review of neuropsychological and neuroimaging studies. *World J Biol Psychiatry*. 2011;12(5):319–39.
46. Pfeiffer PN, Ganoczy D, Ilgen M, Zivin K, Valenstein M. Comorbid anxiety as a suicide risk factor among depressed veterans. *Depress Anxiety*. 2009;26(8):752–7.
47. Gold PW. The organization of the stress system and its dysregulation in depressive illness. *Mol Psychiatry*. 2015;20(1):32–47.
48. Mino A, Bousquet A, Broers B. Substance abuse and drug-related death, suicidal ideation, and suicide: a review. *Crisis*. 1999;20(1):28–35.
49. Pfeifer P, Bartsch C, Hemmer A, Reisch T. Acute and chronic alcohol use correlated with methods of suicide in a Swiss national sample. *Drug Alcohol Depend*. 2017;178:75–9.
50. Wilcox HC, Conner KR, Caine ED. Association of alcohol and drug use disorders and completed suicide: an empirical review of cohort studies. *Drug Alcohol Depend*. 2004;76 Suppl:S11-9.
51. Lineberry TW, Brady KT. Suicide and substance use disorders. In: Koslow SH, Ruiz P, Nemeroff CB, editors. *A Concise Guide to Understanding Suicide, Epidemiology, Pathophysiology and Prevention*. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press; 2014. p. 117–22.
52. SAMHDA. *National Survey on Drug Use and Health (NSDUH-2012)*. Available from: <https://www.datafiles.samhsa.gov/study/national-survey-drug-use-and-health-nsduh-2012-nid13601> [Accessed 26th March 2021].
53. Grant BF, Stinson FS, Dawson DA, Chou SP, Dufour MC, Compton W, et al. Prevalence and co-occurrence of substance use disorders and independent mood and anxiety disorders: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Arch Gen Psychiatry*. 2004;61(8):807–16.
54. Flensburg-Madsen T, Knop J, Mortensen EL, Becker U, Sher L, Grønbaek M. Alcohol use disorders increase the risk of completed suicide--irrespective of other psychiatric disorders. A longitudinal cohort study. *Psychiatry Res*. 2009;167(1-2):123–30.
55. Stefenson A, Titelman D. Psychosis and Suicide. *Crisis*. 2016;37(3):224–31.
56. Hor K, Taylor M. Suicide and schizophrenia: a systematic review of rates and risk factors. *J Psychopharmacol*. 2010;24(4 Suppl):81–90.
57. Fenton WS. Depression, suicide, and suicide prevention in schizophrenia. *Suicide Life Threat Behav*. 2000;30(1):34–49.
58. Hawton K, Sutton L, Haw C, Sinclair J, Deeks JJ. Schizophrenia and suicide: systematic review of risk factors. *Br J Psychiatry*. 2005;187:9–20.
59. Bartels M, Van den Berg M, Sluyter F, Boomsma DI, de Geus EJC. Heritability of cortisol levels: review and simultaneous analysis of twin studies. *Psychoneuroendocrinology*. 2003;28(2):121–37.

60. Fudalej S, Kopera M, Wołyńczyk-Gmaj D, Fudalej M, Krajewski P, Wasilewska K, et al. Association between FKBP5 Functional Polymorphisms and Completed Suicide. *Neuropsychobiology*. 2015;72(2):126–31.
61. Guintivano J, Brown T, Newcomer A, Jones M, Cox O, Maher BS, et al. Identification and replication of a combined epigenetic and genetic biomarker predicting suicide and suicidal behaviors. *Am J Psychiatry*. 2014;171(12):1287–96.
62. Park S, Hong JP, Lee J-K, Park Y-M, Park Y, Jeon J, et al. Associations between the neuron-specific glucocorticoid receptor (NR3C1) Bcl-1 polymorphisms and suicide in cancer patients within the first year of diagnosis. *Behav Brain Funct*. 2016;12(1):22.
63. Heitzer MD, Wolf IM, Sanchez ER, Witchel SF, DeFranco DB. Glucocorticoid receptor physiology. *Rev Endocr Metab Disord*. 2007;8(4):321–30.
64. Kumsta R, Moser D, Streit F, Koper JW, Meyer J, Wüst S. Characterization of a glucocorticoid receptor gene (GR, NR3C1) promoter polymorphism reveals functionality and extends a haplotype with putative clinical relevance. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2009;150B(4):476–82.
65. Leszczyńska-Rodziewicz A, Szczepankiewicz A, Pawlak J, Dmitrzak-Weglarz M, Hauser J. Association, haplotype, and gene-gene interactions of the HPA axis genes with suicidal behaviour in affective disorders. *ScientificWorldJournal*. 2013;2013:207361.
66. Na K-S, Chang HS, Won E, Han K-M, Choi S, Tae WS, et al. Association between glucocorticoid receptor methylation and hippocampal subfields in major depressive disorder. *PLoS One*. 2014;9(1):e85425.
67. Peng Q, Yan H, Wen Y, Lai C, Shi L. Association between NR3C1 rs41423247 polymorphism and depression: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(39):e12541.
68. Tatro ET, Everall IP, Kaul M, Achim CL. Modulation of glucocorticoid receptor nuclear translocation in neurons by immunophilins FKBP51 and FKBP52: implications for major depressive disorder. *Brain Res*. 2009;1286:1–12.
69. De la Cruz-Cano E. Association between FKBP5 and CRHR1 genes with suicidal behavior: A systematic review. *Behav Brain Res*. 2017;317:46–61.
70. Hernández-Díaz Y, González-Castro TB, Tovilla-Zárate CA, Juárez-Rojop IE, López-Narváez ML, Pérez-Hernández N, et al. Association between polymorphisms of FKBP5 gene and suicide attempt in a Mexican population: A case-control study. *Brain Res Bull*. 2021;166:37–43.
71. Zannas AS, Binder EB. Gene-environment interactions at the FKBP5 locus: sensitive periods, mechanisms and pleiotropism. *Genes Brain Behav*. 2014;13(1):25–37.
72. Supriyanto I, Sasada T, Fukutake M, Asano M, Ueno Y, Nagasaki Y, et al. Association of FKBP5 gene haplotypes with completed suicide in the Japanese population. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;35(1):252–6.

73. Wang Q, Shelton RC, Dwivedi Y. Interaction between early-life stress and FKBP5 gene variants in major depressive disorder and post-traumatic stress disorder: A systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord.* 2018;225:422–8.
74. Mihaljevic M, Franic D, Soldatovic I, Lukic I, Petrovic SA, Mirjanic T, et al. The FKBP5 genotype and childhood trauma effects on FKBP5 DNA methylation in patients with psychosis, their unaffected siblings, and healthy controls. *Psychoneuroendocrinology*. [Preprint] 2021. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2021.105205>.
75. Hanisch A, Silljé HHW, Nigg EA. Timely anaphase onset requires a novel spindle and kinetochore complex comprising Ska1 and Ska2. *EMBO J.* 2006;25(23):5504–15.
76. Rice L, Waters CE, Eccles J, Garside H, Sommer P, Kay P, et al. Identification and functional analysis of SKA2 interaction with the glucocorticoid receptor. *J Endocrinol.* 2008;198(3):499–509.
77. Nevin C, Carroll M. Sperm DNA Methylation, Infertility and Transgenerational Epigenetics. *J Hum Genet Clin Embryol.* 2015;1:004.
78. Kaminsky Z, Wilcox HC, Eaton WW, Van Eck K, Kilaru V, Jovanovic T, et al. Epigenetic and genetic variation at SKA2 predict suicidal behavior and post-traumatic stress disorder. *Transl Psychiatry.* 2015;5(8):e627.
79. Nobile B, Ramoz N, Jaussent I, Dubois J, Guillaume S, Gorwood P, et al. Polymorphisms of stress pathway genes and emergence of suicidal ideation at antidepressant treatment onset. *Transl Psychiatry.* 2020;10(1):320.
80. Pandey GN, Rizavi HS, Zhang H, Bhaumik R, Ren X. The Expression of the Suicide-Associated Gene SKA2 Is Decreased in the Prefrontal Cortex of Suicide Victims but Not of Nonsuicidal Patients. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2016;19(8):pyw015.
81. Shi W, Gerster K, Alajez NM, Tsang J, Waldron L, Pintilie M, et al. MicroRNA-301 mediates proliferation and invasion in human breast cancer. *Cancer Res.* 2011;71(8):2926–37.
82. Zheng J-Z, Huang Y-N, Yao L, Liu Y-R, Liu S, Hu X, et al. Elevated miR-301a expression indicates a poor prognosis for breast cancer patients. *Sci Rep.* 2018;8(1):2225.
83. Baralić I, Popović V. Alkoholizam i alkoholisanost. In: Popović V, Atanasijević T, editors. *Sudska medicina, udžbenik za studente medicine*. Beograd, Srbija: Medicinski fakultet u Beogradu; 2010. p. 169–75.
84. Monoranu CM, Apfelbacher M, Grünblatt E, Puppe B, Alafuzoff I, Ferrer I, et al. pH measurement as quality control on human post mortem brain tissue: a study of the BrainNet Europe consortium. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2009;35(3):329–37.
85. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72:248–54.

86. Brunelle JL, Green R. One-dimensional SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (1D SDS-PAGE). *Methods Enzymol.* 2014;541:151–9.
87. Alegria-Schaffer A. Protein biotinylation. *Methods Enzymol.* 2014;536:109–14.
88. Taylor SC, Posch A. The design of a quantitative western blot experiment. *Biomed Res Int.* 2014;2014:361590.
89. Miller M, Azrael D, Hemenway D. The epidemiology of case fatality rates for suicide in the northeast. *Ann Emerg Med.* 2004;43(6):723–30.
90. Oh SH, Lee KU, Kim SH, Park KN, Kim YM, Kim HJ. Factors associated with choice of high lethality methods in suicide attempters: a cross-sectional study. *Int J Ment Health Syst.* 2014;8:43.
91. Huang Y-C, Wu Y-W, Chen C-K, Wang L-J. Methods of suicide predict the risks and method-switching of subsequent suicide attempts: a community cohort study in Taiwan. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2014;10:711–8.
92. Sasieni PD. From genotypes to genes: doubling the sample size. *Biometrics.* 1997;53(4):1253–61.
93. Mann JJ. Neurobiology of suicidal behaviour. *Nat Rev Neurosci.* 2003;4(10):819–28.
94. Jokinen J, Nordström P. HPA axis hyperactivity and attempted suicide in young adult mood disorder inpatients. *J Affect Disord.* 2009;116(1-2):117–20.
95. Fountoulakis KN, Iacovides A, Fotiou F, Nimatoudis J, Bascialla F, Ioannidou C, et al. Neurobiological and psychological correlates of suicidal attempts and thoughts of death in patients with major depression. *Neuropsychobiology.* 2004;49(1):42–52.
96. Pitchot W, Scantamburlo G, Pinto E, Hansenne M, Reggers J, Ansseau M, et al. Vasopressin-neurophysin and DST in major depression: relationship with suicidal behavior. *J Psychiatr Res.* 2008;42(8):684–8.
97. Pfennig A, Kunzel HE, Kern N, Ising M, Majer M, Fuchs B, et al. Hypothalamus-pituitary-adrenal system regulation and suicidal behavior in depression. *Biol Psychiatry.* 2005;57(4):336–42.
98. Lindqvist D, Träskman-Bendz L, Vang F. Suicidal intent and the HPA-axis characteristics of suicide attempters with major depressive disorder and adjustment disorders. *Arch suicide Res.* 2008;12(3):197–207.
99. Stalder T, Steudte-Schmiedgen S, Alexander N, Klucken T, Vater A, Wichmann S, et al. Stress-related and basic determinants of hair cortisol in humans: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology.* 2017;77:261–74.
100. Marques AH, Silverman MN, Sternberg EM. Glucocorticoid dysregulations and their clinical correlates. From receptors to therapeutics. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1179:1–18.
101. Wüst S, Federenko IS, van Rossum EFC, Koper JW, Kumsta R, Entringer S, et al. A

psychobiological perspective on genetic determinants of hypothalamus-pituitary-adrenal axis activity. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1032:52–62.

102. van Rossum EFC, Koper JW, van den Beld AW, Uitterlinden AG, Arp P, Ester W, et al. Identification of the BclI polymorphism in the glucocorticoid receptor gene: association with sensitivity to glucocorticoids in vivo and body mass index. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2003;59(5):585–92.

103. Krishnamurthy P, Romagni P, Torvik S, Gold PW, Charney DS, Detera-Wadleigh S, et al. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms in premenopausal women with major depression. *Horm Metab Res.* 2008;40(3):194–8.

104. Pujols L, Mullol J, Roca-Ferrer J, Torrego A, Xaubet A, Cidlowski JA, et al. Expression of glucocorticoid receptor alpha- and beta-isoforms in human cells and tissues. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002;283(4):C1324–31.

105. Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK, Ulrich-Lai Y, Ostrander MM, Choi DC, et al. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol.* 2003;24(3):151–80.

106. Gold PW, Drevets WC, Charney DS. New insights into the role of cortisol and the glucocorticoid receptor in severe depression. *Biol Psychiatry.* 2002;52(5):381–5.

107. Pérez-Ortiz JM, García-Gutiérrez MS, Navarrete F, Giner S, Manzanares J. Gene and protein alterations of FKBP5 and glucocorticoid receptor in the amygdala of suicide victims. *Psychoneuroendocrinology.* 2013;38(8):1251–8.

108. Pandey GN, Rizavi HS, Ren X, Dwivedi Y, Palkovits M. Region-specific alterations in glucocorticoid receptor expression in the postmortem brain of teenage suicide victims. *Psychoneuroendocrinology.* 2013;38(11):2628–39.

109. McGowan PO, Sasaki A, D'Alessio AC, Dymov S, Labonté B, Szyf M, et al. Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nat Neurosci.* 2009;12(3):342–8.

110. Arabadzisz D, Diaz-Heijtz R, Knuesel I, Weber E, Pilloud S, Dettling AC, et al. Primate early life stress leads to long-term mild hippocampal decreases in corticosteroid receptor expression. *Biol Psychiatry.* 2010;67(11):1106–9.

111. Mason BL, Pariante CM. The effects of antidepressants on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Drug News Perspect.* 2006;19(10):603–8.

112. Calfa G, Kademian S, Ceschin D, Vega G, Rabinovich GA, Volosin M. Characterization and functional significance of glucocorticoid receptors in patients with major depression: modulation by antidepressant treatment. *Psychoneuroendocrinology.* 2003;28(5):687–701.

113. DeJong TM, Overholser JC, Stockmeier CA. Apples to oranges?: a direct comparison between suicide attempters and suicide completers. *J Affect Disord.* 2010;124(1-2):90–7.

114. Binder EB. The role of FKBP5, a co-chaperone of the glucocorticoid receptor in the

- pathogenesis and therapy of affective and anxiety disorders. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34 Suppl 1:S186-95.
115. Criado-Marrero M, Rein T, Binder EB, Porter JT, Koren J 3rd, Blair LJ. Hsp90 and FKBP51: complex regulators of psychiatric diseases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2018;373(1738):20160532.
116. Sanati A. Does suicide always indicate a mental illness? *London J Prim Care (Abingdon)*. 2009;2(2):93-4.
117. Lee RS, Tamashiro KLK, Yang X, Purcell RH, Harvey A, Willour VL, et al. Chronic corticosterone exposure increases expression and decreases deoxyribonucleic acid methylation of Fkbp5 in mice. *Endocrinology*. 2010;151(9):4332-43.
118. Sinclair D, Fillman SG, Webster MJ, Weickert CS. Dysregulation of glucocorticoid receptor co-factors FKBP5, BAG1 and PTGES3 in prefrontal cortex in psychotic illness. *Sci Rep*. 2013;3:3539.
119. Schenkel LC, Segal J, Becker JA, Manfro GG, Bianchin MM, Leistner-Segal S. The BDNF Val66Met polymorphism is an independent risk factor for high lethality in suicide attempts of depressed patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2010;34(6):940-4.
120. Flory JD, Yehuda R. Comorbidity between post-traumatic stress disorder and major depressive disorder: alternative explanations and treatment considerations. *Dialogues Clin Neurosci*. 2015;17(2):141-50.
121. Niculescu AB, Levey D, Le-Niculescu H, Niculescu E, Kurian SM, Salomon D. Psychiatric blood biomarkers: avoiding jumping to premature negative or positive conclusions. *Mol Psychiatry*. 2015;20(3):286-8.
122. Stephens MAC, Wand G. Stress and the HPA axis: role of glucocorticoids in alcohol dependence. *Alcohol Res*. 2012;34(4):468-83.
123. Rose AK, Shaw SG, Prendergast MA, Little HJ. The importance of glucocorticoids in alcohol dependence and neurotoxicity. *Alcohol Clin Exp Res*. 2010;34(12):2011-8.
124. Koob GF, Le Moal M. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology*. 2001;24(4):97-129.
125. Winocur G, Wojtowicz JM, Sekeres M, Snyder JS, Wang S. Inhibition of neurogenesis interferes with hippocampus-dependent memory function. *Hippocampus*. 2006;16(3):296-304.
126. McClintick JN, Xuei X, Tischfield JA, Goate A, Foroud T, Wetherill L, et al. Stress-response pathways are altered in the hippocampus of chronic alcoholics. *Alcohol*. 2013;47(7):505-15.
127. Ilic M, Ilic I. Suicide in Serbia. *J Affect Disord*. 2016;193:187-93.
128. Pompili M, Vichi M, Qin P, Innamorati M, De Leo D, Girardi P. Does the level of education influence completed suicide? A nationwide register study. *J Affect Disord*.

2013;147(1-3):437-40.

129. Park S, Hatim Sulaiman A, Srisurapanont M, Chang S, Liu C-Y, Bautista D, et al. The association of suicide risk with negative life events and social support according to gender in Asian patients with major depressive disorder. *Psychiatry Res.* 2015;228(3):277-82.

130. Arsenault-Lapierre G, Kim C, Turecki G. Psychiatric diagnoses in 3275 suicides: a meta-analysis. *BMC Psychiatry.* 2004;4:37.

131. Bertolote JM, Fleischmann A. Suicide and psychiatric diagnosis: a worldwide perspective. *World Psychiatry.* 2002;1(3):181-5.

132. Holmstrand C, Bogren M, Mattisson C, Brådvik L. Long-term suicide risk in no, one or more mental disorders: the Lundby Study 1947-1997. *Acta Psychiatr Scand.* 2015;132(6):459-69.

133. Ajdacic-Gross V, Weiss MG, Ring M, Hepp U, Bopp M, Gutzwiller F, et al. Methods of suicide: international suicide patterns derived from the WHO mortality database. *Bull World Health Organ.* 2008;86(9):726-32.

134. Rutz W, Rihmer Z. Suicide in men. In: Wasserman D, Wasserman C, editors. *Oxford Textbook of Suicide Prevention.* Oxford, United Kingdom: Oxford University Press; 2009. p. 249-55.

135. Lenz B, Röther M, Bouna-Pyrrou P, Mühle C, Tektas OY, Kornhuber J. The androgen model of suicide completion. *Prog Neurobiol.* 2019;172:84-103.

136. Yeum T-S, Kim B, Kim EY, Kim SH, Ha K, Ahn YM. Factors Affecting Suicide Method Lethality Among Suicide Attempters in the Korea National Suicide Survey. *J Nerv Ment Dis.* 2018;206(3):202-10.

137. Elnour AA, Harrison J. Lethality of suicide methods. *Inj Prev.* 2008;14(1):39-45.

138. Ruiz P. Global epidemiology of suicide. In: Koslow SH, Ruiz P, Nemeroff CB, editors. *A Concise Guide to Understanding Suicide, Epidemiology, Patophysiology and Prevention.* Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press; 2014. p. 13-6.

139. Becker JB, Hu M. Sex differences in drug abuse. *Front Neuroendocrinol.* 2008;29(1):36-47.

140. Posner K, Oquendo MA, Gould M, Stanley B, Davies M. Columbia Classification Algorithm of Suicide Assessment (C-CASA): classification of suicidal events in the FDA's pediatric suicidal risk analysis of antidepressants. *Am J Psychiatry.* 2007;164(7):1035-43.

141. Levi-Belz Y, Beautrais A. Serious Suicide Attempts. *Crisis.* 2016;37(4):299-309.

142. Beghi M, Rosenbaum JF, Cerri C, Cornaggia CM. Risk factors for fatal and nonfatal repetition of suicide attempts: a literature review. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2013;9:1725-36.


143. Owens D, Horrocks J, House A. Fatal and non-fatal repetition of self-harm. Systematic review. *Br J Psychiatry.* 2002;181:193-9.

144. Paraschakis A, Michopoulos I, Douzenis A, Christodoulou C, Lykouras L, Koutsaftis F. Switching suicide methods in order to achieve lethality: a study of Greek suicide victims. *Death Stud.* 2014;38(6-10):438–42.
145. Goñi-Sarriés A, Blanco M, Azcárate L, Peinado R, López-Goñi JJ. Are previous suicide attempts a risk factor for completed suicide? *Psicothema.* 2018;30(1):33–8.
146. Suokas J, Suominen K, Isometsä E, Ostamo A, Lönnqvist J. Long-term risk factors for suicide mortality after attempted suicide--findings of a 14-year follow-up study. *Acta Psychiatr Scand.* 2001;104(2):117–21.
147. Runeson B, Tidemalm D, Dahlin M, Lichtenstein P, Langstrom N. Method of attempted suicide as predictor of subsequent successful suicide: national long term cohort study. *BMJ.* 2010;341:c3222.
148. Lopez-Castroman J, Perez-Rodriguez M de las M, Jausent I, Alegria AA, Artes-Rodriguez A, Freed P, et al. Distinguishing the relevant features of frequent suicide attempters. *J Psychiatr Res.* 2011;45(5):619–25.
149. Brody DJ, Gu Q. Antidepressant Use Among Adults: United States, 2015-2018. *NCHS Data Brief.* 2020;(377)1–8.
150. McCarthy DM, Niculete ME, Treloar HR, Morris DH, Bartholow BD. Acute alcohol effects on impulsivity: associations with drinking and driving behavior. *Addiction.* 2012;107(12):2109–14.
151. Kaplan MS, McFarland BH, Huguet N, Conner K, Caetano R, Giesbrecht N, et al. Acute alcohol intoxication and suicide: a gender-stratified analysis of the National Violent Death Reporting System. *Inj Prev.* 2013;19(1):38–43.
152. Baca-Garcia E, Diaz-Sastre C, Basurte E, Prieto R, Ceverino A, Saiz-Ruiz J, et al. A prospective study of the paradoxical relationship between impulsivity and lethality of suicide attempts. *J Clin Psychiatry.* 2001;62(7):560–4.
153. Spokas M, Wenzel A, Brown GK, Beck AT. Characteristics of individuals who make impulsive suicide attempts. *J Affect Disord.* 2012;136(3):1121–5.
154. Bhattacharjee S, Bhattacharya A, Thakurta RG, Ray P, Singh OP, Sen S. Putative effect of alcohol on suicide attempters: an evaluative study in a tertiary medical college. *Indian J Psychol Med.* 2012;34(4):371–5.
155. Kposowa AJ. Marital status and suicide in the National Longitudinal Mortality Study. *J Epidemiol Community Health.* 2000;54(4):254–261.
156. Yip PSF, Caine ED. Employment status and suicide: the complex relationships between changing unemployment rates and death rates. *J Epidemiol Community Health.* 2011;65(8):733–6.
157. Gavrilovic D. Regions, cities and municipalities. In: Gavrilovic D, editor. *Statistical Yearbook of the Republic of Serbia.* Belgrade, Serbia: Statistical Office of the Republic of Serbia; 2016. p. 415–20.

158. Bogdanovic MD, Maric GD, Pekmezovic TD, Alempijevic DM. Evaluation of coding ill-defined and unknown causes of death in the Republic of Serbia. *J Forensic Leg Med.* 2019;62:34-9.
159. Lekarska komora Srbije. *Zbirka Podataka - evidencija lekara sa važećom licencom januar 2021*. Available from: <http://www.lks.org.rs/clanovi-lks/cid182-672/zbirka-podataka-evidencija-lekara-sa-vazecom-licencom-januar-2021> [Accessed 26th February 2021].

PRILOZI

Prilog 1. Upitnik koji se standardno koristi na Institutu za sudsku medicinu Medicinskog fakulteta u Beogradu za intervjuisanje bliskih srodnika i prijatelja preminule osobe.


 Institut za sudsku medicinu
 "Milovan Milovanović"
 Medicinski fakultet, Beograd

Form. SAMOUBISTVO, ver. 20130308

PODACI O SLUČAJU S Br.

Podatke daje Ime i prezime _____ Srodstvo _____
 Adresa stanovanja _____ kontakt telef. _____

PODACI O U MRLM

IME _____ PREZIME _____
 Datum rođenja _____ Mesto rođenja _____ Država, grad _____
 Adresa stanovanja _____
Mesto i opština stanovanja, ulica i broj
 Od kada živi na toj adresi _____ izbeglica Da Ne

Nacionalnost _____ Religiozan Da Ne Verispovest _____

Radni status <small>Zanimanje</small> <input type="checkbox"/> penzioner <input type="checkbox"/> zaposlen <input type="checkbox"/> nezaposlen <input type="checkbox"/> starosna <input type="checkbox"/> invalidska <input type="checkbox"/> porodična	Porodični status <input type="checkbox"/> neoženjen/neudata <input type="checkbox"/> oženjen/udata <input type="checkbox"/> vanbračna zajednica <input type="checkbox"/> udovac/udovica <input type="checkbox"/> razveden-a od kada _____ <input type="checkbox"/> nepoznato živeo/živela sa _____ broj dece
Osuđivanost <input type="checkbox"/> krivična <input type="checkbox"/> prekršajna <input type="checkbox"/> nepoznato <input type="checkbox"/> bio u zatvoru dužina kazne _____ vrsta krivičnog dela _____	Vojna obaveza <input type="checkbox"/> služio <input type="checkbox"/> oslobođen
Učešće u ratu <input type="checkbox"/> Drugi svetski rat <input type="checkbox"/> YU 1991-99	

OPŠTI ZDRAVSTVENI PODACI O U MRLM

Hronična oboljenja hipertenzija epilepsija obstruktivna bolest pluća drugo _____
 dijabetes ulkusna bolest koronarna bolest srca
 hepatitis TBC bolest bubrega
navesti druga značajna hronična oboljenja

Lečen-a bolnički ambulantno-redovno ambulantno-neredovno nije lečen

Terapija _____

Ranije operacije (koje/kada) _____

Ranije povrede (koje/kada) _____

Vid uredan da ne _____

Sluh uredan da ne _____

Pušenje duvana ne da koliko? _____ od kada? _____

Upotreba alkohola ne povremeno opijao se lečen
 redovno nije se opijao (gde/kada) _____

Upotreba narkotika ne povremeno redovno lečen
 vrsta droge _____ od kada? _____ (gde/kada) _____

Psijhijatrijska oboljenja ne da lečen
 Dijagnoza _____ (gde/kada) _____

Terapija _____

Mesto smrti	Očevidac	Najava suicida	Raniji pokušaji
<input type="checkbox"/> sopstveni stan	<input type="checkbox"/> ne	<input type="checkbox"/> ne	<input type="checkbox"/> ne
<input type="checkbox"/> tuđi stan	<input type="checkbox"/> da Ko? _____	<input type="checkbox"/> da-uopšteno	<input type="checkbox"/> nepoznato
<input type="checkbox"/> ulica/park	Kada je poslednji put viđen? _____	<input type="checkbox"/> najavio način	<input type="checkbox"/> da
<input type="checkbox"/> kafana/hotel	Ko ga je video? _____	<input type="checkbox"/> nepoznato	Koliko puta? _____
<input type="checkbox"/> radno mesto	Ko je našao leš? _____		Kada? _____
<input type="checkbox"/> nepoznato			Kako? _____
<input type="checkbox"/> drugo _____			
Oproštajno pismo	<input type="checkbox"/> da <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/> nepoznato		
Smrt nastupila	Datum smrti _____	Čas smrti _____	<input type="checkbox"/> nepoznato

Po povredi	Transport	Prvi prijem	Datum prijema u Bgd
<input type="checkbox"/> odmah umro	<input type="checkbox"/> kola hitne pomoći	<input type="checkbox"/> DZ	_____
<input type="checkbox"/> nadživljavanje	<input type="checkbox"/> putnička kola	<input type="checkbox"/> RMC	Ustanova
<input type="checkbox"/> svestan	<input type="checkbox"/> nepoznato	<input type="checkbox"/> Beograd	_____
<input type="checkbox"/> bez svesti	<input type="checkbox"/> drugo		Datum smrti
<input type="checkbox"/> nepoznato			_____

DETALJI IZ PORODIČNE ANAMNEZE

Samoubistva	Ubistva	Alkoholizam	Duševno bolesni
<input type="checkbox"/> ne	<input type="checkbox"/> ne	<input type="checkbox"/> ne	<input type="checkbox"/> ne
<input type="checkbox"/> nepoznato	<input type="checkbox"/> nepoznato	<input type="checkbox"/> nepoznato	<input type="checkbox"/> nepoznato
<input type="checkbox"/> da	<input type="checkbox"/> da	<input type="checkbox"/> da	<input type="checkbox"/> da
Ko? _____	Ko? _____	Ko? _____	Ko? _____
Kada? _____	Kada? _____		Od čega? _____
Kako? _____	Kako? _____		

Vatreno oružje	Eksploziv
Vrsta _____	Vrsta _____ Vlasnik _____
Dominantna ruka _____	
Vlasnik	Trovanje
<input type="checkbox"/> da <input type="checkbox"/> dozvola <input type="checkbox"/> Nađeno na LM	Vrsta _____ Ambalaža <input type="checkbox"/> da <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/> nepoznato
<input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/> ne	
<input type="checkbox"/> nepoznato <input type="checkbox"/> nepoznato <input type="checkbox"/> nepoznato	Utopljenje
	Gde? _____ Plivač <input type="checkbox"/> da <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/> nepoznato
Skok sa visine	Vešanje
<input type="checkbox"/> stan <input type="checkbox"/> stepenište <input type="checkbox"/> most	<input type="checkbox"/> potpuno <input type="checkbox"/> nepotpuno <input type="checkbox"/> nepoznato Vrsta omče _____
<input type="checkbox"/> krov <input type="checkbox"/> građevina <input type="checkbox"/> nepoznato	Visina tačke vezivanja omče _____
<input type="checkbox"/> drugo _____ Visina _____	
Podloga	Sečivo/oštrica
<input type="checkbox"/> zemlja <input type="checkbox"/> voda <input type="checkbox"/> drugo	Dominantna ruka _____ Približne dimenzije sečiva _____
<input type="checkbox"/> čvrsta <input type="checkbox"/> nepoznato	Nađeno na LM
	<input type="checkbox"/> da <input type="checkbox"/> Vrsta <input type="checkbox"/> Nož <input type="checkbox"/> nepoznato
	<input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/> kama <input type="checkbox"/> drugo
	<input type="checkbox"/> nepoznato <input type="checkbox"/> perorez

MOGUĆI MOTIVI

DETALJI O DOGAĐAJU

Datum _____

Lekar _____

Prilog 2. Opšti psihijatrijski intervju

Osoba koja daje podatke o ispitaniku:

Ime i prezime: _____

Kontakt: _____

Srodstvo sa ispitanikom: _____

Broj osoba koje daju podatke: _____

Broj dana između smrti i intervjuja: _____

I Sociodemografski podaci o ispitaniku:

Ime i prezime: _____

Pol: M Ž

Uzrast: _____

Bračno stanje:

1. Neoženjen/neudata
2. Oženjen/udata
3. Razveden/razvedena
4. Udovac/udovica
5. Vanbračna veza

Deca:

1. Ne
2. Da, maloletna _____ (broj)
3. Da, punoletna _____ (broj)

Obrazovanje (navesti broj godina edukacije):

Zaposlenost – dužina RS

1. Učenik/student
2. Nikada zapošlavan/a
3. Aktuelno nezaposlen/a
4. Zaposlen/a
5. Penzioner/ka (INV?)

Sa kim je ispitanik živeo?

1. Sam
2. (navesti): _____

Religioznost

1. Ne
2. Da (verispovest): _____

Duvan

1. U poslednjih 6 meseci: DA NE
2. U toku života: DA NE

Alkohol

1. U poslednjih 6 meseci: DA NE
2. U toku života: DA NE

Psihoaktivne supstance

1. U poslednjih 6 meseci: DA NE
2. U toku života: DA NE

II Klinički podaci o ispitaniku:

Da li je lečen psihijatrijski?

1. Ne
2. Da, ambulantno
3. Da, hospitalno

Da li su imali uvid u med.dokumentaciju? _____

Psihijatrijske Dg: _____

Broj afektivnih epizoda: _____

Broj ranijih pokušaja samoubistva: _____

Uzrast na početku bolesti: _____

Dužina trajanja bolesti: _____

Primenjivani psihofarmaci u toku života:

Psihijatrijski hereditet

	P	NP	Sui
I stepen srodstva			
II ili III stepen srodstva			

Somatske bolesti:

1. Ne
2. Da (navesti): _____

III Skorašnji životni događaji (poslednjih 6 meseci):

1. Ne
2. Da, bliska osoba (navesti): _____
3. Da, lično (navesti): _____

Prilog 3. Lista ugrožavajućih životnih događaja (List of Threatening Experiences - LTE)

<i>Događaj</i>	<i>U proteklih šest meseci</i>	<i>U dosadašnjem životu</i>
1. Ozbiljna lična bolest, ozbiljna povreda ili pretrpljeni napad	DA /NE	DA/NE
2. Blizak član porodice ozbiljno bolestan, povređen ili pretrpeo napad	DA /NE	DA/NE
3. Smrt roditelja, deteta ili supružnika	DA /NE	DA/NE
4. Smrt bliskog prijatelja ili drugog rođaka	DA /NE	DA/NE
5. Razdvajanje zbog bračnih problema	DA /NE	DA/NE
6. Raskid stabilne veze	DA /NE	DA/NE
7. Ozbiljni problemi sa bliskim prijateljem, komšijom ili rođakom	DA /NE	DA/NE
8. Nezaposlenost ili traženje posla duže od mesec dana	DA /NE	DA/NE
9. Otpušten sa posla	DA /NE	DA/NE
10. Velika finansijska kriza	DA /NE	DA/NE
11. Problemi sa policijom i pojavljivanje na sudu	DA /NE	DA/NE
12. Nešto od predmeta velike vrednosti izgubljeno ili ukradeno	DA /NE	DA/NE

Prilog 4. Lista lekova i droga obuhvaćenih testiranjem

BENZODIAZEPINI

Diazepam
Nordiazepam
Oksazepam
Temazepam
Lorazepam
Midazolam
Nimetazepam
Prazepam
Flunitrazepam
7-aminoflunitrazepam
Zolpidem
Alprazolam
Bromazepam

ANTIPSIHOTICI

Risperidon
Olanzapin
Levomepromazin
Haloperidol
Flufenazin
Klozapin

ANTIDEPRESIVI

Mianserin
Mirtazapin
Amitriptilin
Klomipramin
Venlafaksin
Citalopram
Maprotilin

ANTIEPILEPTICI

Karbamazepin
Lamotrigin

PSIHOSTIMULANSI

Kokain
Benzoilekgonin

AMFETAMINI

Amfetamin
Metamfetamin
MDEA
MBDB
MDMA
MDA

NARKOTIČKI ANALGETICI

Tramadol
Metadon

OPIJATI

Morfin
Kodein
6-monoacetilmorfin

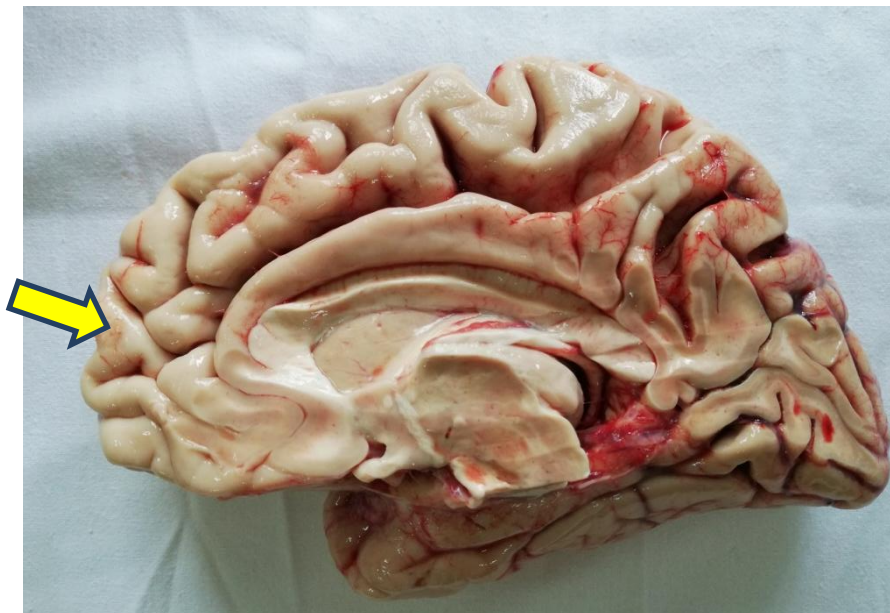
ORALNI ANTIDIJABETICI

Metformin
Gliklazid

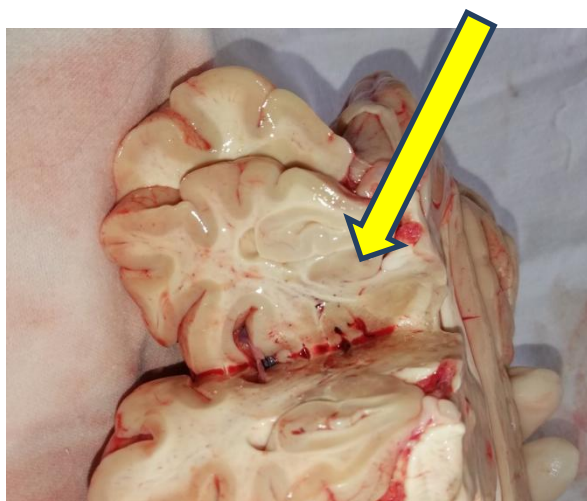
ANTIHIPERTENZIVI

Propranolol
Fosinopril
Metoprolol
Atenolol

Prilog 5. Mesta u moždanom tkivu iz kojih su uzimani uzorci za ispitivanje ekspresije proteina



Prefrontalni korteks (BA9)



Amigdale



Hipokampus

BIOGRAFIJA

Radnić dr Bojana rođena je 4. oktobra 1985. godine u Beogradu. Medicinski fakultet u Beogradu upisala je 2004. godine, a diplomirala je 2010. godine sa srednjom ocenom 9,69. Tokom studija bila je stipendista Fonda za mlade talente Republike Srbije, Republičke fondacije za razvoj naučnog i umetničkog podmlatka i Fonda „Ass dr Zorana Penezić“. Dobitnik je nagrada Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu za najbolje studente četvrte i pete godine. Dr Bojana Radnić je još kao student ispoljila interesovanje za naučnoistraživački rad, bila je autor i koautor na pet studentskih naučnih radova.

Na Institutu za sudsku medicinu Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu zaposlila se kao saradnik u nastavi 2011. godine. U zvanje asistenta za užu naučnu oblast Sudska medicina izabrana je 2013. godine. Poslediplomske doktorske akademske studije iz Molekularne medicine upisala je školske 2012/2013. godine. Zvanje specijaliste sudske medicine stekla je 2017. godine. Saradnik je na dva projekta Medicinskog fakulteta u Beogradu: „Analiza genskih polimorfizama CIP izoenzima u populaciji Srbije“ finansiranom od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije i „Time of occurrence, frequency, optimal way of detection of SARS-CoV2 and COVID-19 in the autopsy material of the Institute of Forensic Medicine, University of Belgrade, Faculty of Medicine“ finansiranom od strane Fonda za nauku Republike Srbije. Autor je i koautor u 31 stručnom radu i publikaciji, od kojih je 18 objavljeno u časopisima indeksiranim u CC/SCI bazi podataka. Član je Srpskog lekarskog društva i Lekarske komore Srbije.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Бојана Раднић

Број индекса ММ 02/12

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Судскомедицински и клинички значај повезаности полиморфизама гена FKBP5, NR3C1 и SKA2 и нивоа експресије одговарајућих протеина са поремећајем хипоталамо-хипофизно-адреналне осе у етиологији самоубиства

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 1.04.2021.

Бојана Раднић

образац изјаве о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Бојана Раднић

Број индекса ММ 02/12

Студијски програм Молекуларна медицина

Наслов рада Судскомедицински и клинички значај повезаности полиморфизама гена FKBP5, NR3C1 и SKA2 и нивоа експресије одговарајућих протеина са поремећајем хипоталамо-хипофизно-адrenalне осе у етиологији самоубиства

Ментор проф. др Татјана Атанасијевић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 1.04.2021.

Bojana Radnic

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Судскомедицински и клинички значај повезаности полиморфизама гена FKBP5, NR3C1 и SKA2 и нивоа експресије одговарајућих протеина са поремећајем хипоталамо-хипофизно-адrenalне осе у етиологији самоубиства

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

у Београду, 1. 04. 2021.

Ђорђио Родуић