

NAU NOM VE U MEDICINSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U

BEOGRADU

Nau no ve e Medicinskog fakulteta u Beogradu na sednici održanoj 09.03.2017. godine, broj 5940/09, odredilo je lanove Komisije za ocenu završene doktorske disertacije kandidata dr Marine Mihaljevi , pod nazivom

„Uticaj polimorfizama FKBP5 gena, traume u detinjstvu i neuroticizma na rizik od psihotičnog poremećaja“.

Mentor za izradu doktorske disertacije je Prof. dr Na a Mari Bojovi . Komentor za izradu doktorske disertacije je Prof. dr Ivana Novakovi .

Imenovana je Komisija u sastavu:

1. Akademik prof. dr Dušica Le i Toševski, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
2. Prof. dr Ivanka Markovi , Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
3. Prof. dr Slavica ũki Dejanovi , Medicinski fakultet, Univerzitet u Kragujevcu

lanovi Komisije su detaljno prou ili priloženu doktorsku disertaciju i podnose Nau nom ve u Medicinskog fakulteta u Beogradu slede i

IZVEŠTAJ

A. Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija „**Uticaj polimorfizama FKBP5 gena, traume u detinjstvu i neuroticizma na rizik od psihotičnih poremećaja**“ napisana je na 102 strane i podeljena na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, metode, rezultati, diskusija, zaključci i spisak literature. U disertaciji se nalazi ukupno 13 tabela, 8 grafikona i 5 slika. Doktorska disertacija sadrži podatke o komisiji, sažetak na srpskom i engleskom jeziku, spisak skraćena i biografiju kandidata.

U **uvodu** su predstavljena savremena saznanja i shvatanja psihotičnih poremećaja i potencijalnih etioloških mehanizama. Opisana je pojava psihotičnih simptoma u opštoj populaciji i koncept psihoze kao sindroma na kontinuumu od zdravlja ka bolesti. Detaljno su prikazana dosadašnja saznanja o genetičkim i psihosocijalnim faktorima rizika za nastanak psihotičnih poremećaja. Posebno su naglašeni, među psihosocijalnim faktorima rizika, efekti traume u detinjstvu i neuroticizma na razvoj psihoze. Takođe, detaljno su opisani različiti pristupi genetičkim istraživanjima (genomske studije asocijacije, studije gena kandidata i GxE studije), a zatim su predstavljeni najznačajniji rezultati u datim oblastima. Posebno je opisana tema uticaja stresa na psihotične poremećaje, gde je naglašena uloga hipotalamo-hipofizno-adrenalne (HPA) osovine, kao potencijalnog neurobiološkog mehanizama uključenog u razvoj psihoze. Opisan je dijazeza-stres model, gde je istaknuta hipoteza o biološkoj (genskoj) predispoziciji za poremećaj aktivnosti HPA osovine koji dolazi do izražaja nakon izlaganja stresogenim faktorima spoljašnje sredine. Zatim, detaljno je predstavljen značaj FKBP5 gena, gena kandidata GxE studija, u regulaciji aktivnosti HPA osovine. Navedena je uloga proteina koji FKBP5 gen kodira (*FK-506 binding protein 51*) u glukokortikoidnom signalnom putu, njegov uticaj na regulaciju aktivnosti HPA osovine, kao i efekat funkcionalnih varijanti FKBP5 gena na molekularne, strukturalne i funkcionalne promene u mozgu. Opisana su dosadašnja saznanja o efektima FKBP5 genskih varijanti i njihovoj interakciji sa traumom u detinjstvu na razvoj psihotičnih poremećaja.

Ciljevi istraživanja su jasno definisani. Sastoje se od nekoliko koraka: 1) ispitivanja razlika u distribuciji genotipa i alela ispitivanih FKBP5 polimorfizama (rs9296158, rs3800373, rs9470080, rs737054, rs6926133, rs9380529, rs9394314, rs2766533 i rs12200498), haplotipova koje daju polimorfizmi grade, kao i uestalost rizi nih alela funkcionalnih polimorfizama (rs9296158, rs3800373 i rs9470080) izme u grupa pacijenata, njihovih zdravih prvostepenih srodnika i kontrola; 2) ispitivanje uticaja rizi nih FKBP5 genskih varijanti (rizi ni aleli funkcionalnih polimorfizama i haplotipovi koje grade), neuroticizma i traume u detinjstvu na rizik od psihoti nog poreme aja i 3) procene me usobne povezanosti traume u detinjstvu, neuroticizma i psihoti nih iskustava, kao i uticaja rizi nih FKBP5 genskih varijanti na fenotip (neuroticizam i psihoti na iskustva).

Metode sadrže detaljan opis istraživa kog protokola, svih istraživa kih postupaka, koriš enih instrumenata, na ina obrade podataka i tuma enja rezultata. Istraživanje predstavlja studiju preseka koja je obuhvatila 158 ispitanika podeljenih u tri grupe: grupa pacijenata (52 ispitanika), grupa zdravih prvostepenih srodnika pacijenta sa psihoti nim poreme ajem (55 ispitanika), i grupa zdravih kontrola (51 ispitanik). Jasno i precizno su opisani kriterijumi za uklju ivanje i isklju ivanje iz istraživanja. Detaljno je opisan metod ekstrakcije DNK i genotipizacije FKBP5 polimorfizama. Dat je pregled instrumenata i skala koriš enih za procenu traume u detinjstvu, neuroticizma, psihoti nih iskustava i depresivnih simptoma. Detaljno su navedene i adekvatno obrazložene statisti ke metode koje su koriš ene u dobijanju rezultata, *Haploview* program za analizu haplotipa, a navedena su i odobrenja svih eti kih odbora ustanova u kojima je istraživanje sprovedeno.

Rezultati obuhvataju detaljan prikaz nalaza dobijenih u sprovedenom istraživanju. Rezultati istraživanja su izloženi jasno, pregledno i sistemati no u 9 tabela i 8 grafikona.

U **diskusiji** su navedeni rezultati jasno i detaljno obra eni, a zatim su pore eni sa savremenim i zna ajnim ispitivanjima iz ove oblasti. U diskusiji su prikazana i ograni enja istraživanja.

Na osnovu iznetih i diskutovanih rezultata uoblieni su **zaključci** koji predstavljaju jasne odgovore na postavljene ciljeve.

Korišena **literatura** sadrži spisak od 229 referenci.

B. Kratak opis postignutih rezultata

Ispitivanje uestalosti rizinih FKBP5 genskih varijanti pokazalo je veu frekventnost rizinih alela funkcionalnih polimorfizama FKBP5 gena (rs9296158, rs3800373 i rs9470080) u grupi pacijenta. Tako e, po prvi put do sada u istraživanjima je ispitivana distribucija FKBP5 haplotipa gde je pokazano da je “rizi an” AGTC haplotip u estaliji u grupi pacijenta, dok su nosioci nerizinih, “protektivnih” FKBP5 haplotipova su bili u estaliji u grupi kontrola i srodnika. Ispitivanjem uticaja bioloških (rizi ne FKBP5 genske varijante) i psihosocijalnih faktora rizika (trauma u detinjstvu i neuroticizam) na podložnost za psihozu pokazano je da su oni individualni prediktori psihotinih poreme ajaa, me u kojima najja u prediktivnu vrednost imaju biološki faktori, a zatim neuroticizam i trauma i detinjstvu. Rizine FKBP5 genske varijante (posebno nosioci G alela polimorfizma rs3800373 i nosioci jedne ili dve kopije AGTC haplotipa) direktno nose rizik za razvoj psihotinih poreme ajaa, a prisustvo traume u detinjstvu dodatno pogoršava njihov efekat pove avaju rizik za bolest skoro dva puta. Rezultati istraživanja su tako e potvrdili nalaze iz literature da je ja ina povezanosti neuroticizma i psihotinih simptoma uslovljena naslednim odnosno geneti kim faktorima. Preciznije, povezanost neurotizma i psihotinih iskustava je bila najja a u grupi pacijenata, kod srodnika je bila nešto slabija, dok kod kontrola data povezanost nije postojala. Analizom neuroticizma, psihotinih iskustava, i geneti kih varijabli, pokazano je da su rizine FKBP5 genske varijante direktni prediktori višeg nivoa neuroticizma, ime indirektno uti u na težinu psihotinih simptomatologije.

C. Uporedna analiza sa rezultatima iz literature

Rezultati ispitivanja faktora rizika koji uti u na podložnost za poreme aje iz psihotinih spektra su potvrdili nalaze iz literature da su psihosocijalni faktori -

neuroticizam i trauma u detinjstvu, prediktori psihotičnih poremećaja (van Os i Jones, 2001, Heins i sar, 2011). Zatim, rezultati istraživanja pokazali su direktan uticaj rizika njihovih FKBP5 genskih varijanti (A alel polimorfizma rs9296158 i G alel polimorfizma rs3800373) posebno u prisustvu traume u detinjstvu, naglašavajući i njihov udružen efekat na bolest. U skladu sa datim nalazima je istraživanje Collip i saradnika koji su pokazali da GxE interakcija, između nosioca A alela polimorfizma rs9296158 i trauma u detinjstvu kao sredinskog faktora, utiče na psihotičnu simptomatologiju (Collip i sar, 2013). Efekat same interakcije A alela polimorfizma rs9296158 i traume u detinjstvu nije pokazan u doktorskoj disertaciji već je dobijen aditivni efekat, a jedno od mogućih objašnjenja jeste da su pacijenti imali znatno manje traume u detinjstvu u odnosu na pacijente iz studije Collip i saradnika. Srednja vrednost traume u okviru doktorske disertacije je bila 1,4, a opseg 1-2,7 (vrednosti pitanja od 1 do 5), dok je u studiji Collip i saradnika srednja vrednost traumatizacije u detinjstvu bila 1,7 a opseg 0-3,2 (vrednosti pitanja od 0 do 4). Međutim, s druge strane, Ajnakina i saradnici pokazali su, kao i doktorska disertacija, aditivan efekat stresa i FKBP5 gena na razvoj psihotičnih poremećaja (Ajnakina i sar., 2014). Naime, rezultati istraživanja Ajnakina i saradnika pokazali su direktan uticaj rizika njihovih T alela polimorfizma rs1360780 u dominantnom genetičkom modelu, kada su u model uključeni stresogeni faktori kao što je razvod roditelja i zloupotreba kanabisa. Rezultati doktorske disertacije dobijeni analizom dominantnog genetičkog modela za polimorfizam rs3800373 u skladu su sa njihovim nalazima. Preciznije, sirovi rezultati dominantnog genetičkog modela (OR=2,74; 95%CI: 1,22–6,14; p=0,014) veoma su slični prilagođenim rezultatima Ajnakine i saradnika za stresne faktore kada je primenjen dominantan genetički modela za rs1360780 (OR=2,81; 95%CI: 1,23–6,43; p=0,002). Konzistentno sa njihovim nalazima, rizik za psihotične poremećaje u doktorskoj disertaciji povećao se kada je primenjen prilagođen model za traumu u detinjstvu (OR=4,26; p=0,004). Slični rezultati za različite polimorfizme u navedenim studijama su otkriveni s obzirom da su dati funkcionalni polimorfizmi (rs1360780, rs9296158, rs471396 i rs3800373) snažno povezani u haplobloku (Binder i sar., 2008). Pored navedenih studija o uticaju FKBP5 gena na psihotične poremećaje (Collip i sar., 2013; Ajnakina i sar., 2014), brojne studije govore o uticaju rizika njihovih FKBP5 genskih varijanti na psihijatrijske poremećaje koja je etiopatogeneza povezana sa stresom, kao što su depresija i post-traumatski stresni poremećaj (Binder i sar., 2004; Binder i sar., 2008; Lavebratt i sar., 2010; Szczepankiewicz i sar., 2014). Skorašnja meta-analiza je pažljivim ispitivanjem do sada

objavljenih istraživanja posebno istakla uticaj re eg “rizi nog” G alela funkcionalnog polimorfizma rs3800373, koriš enog i u doktorskoj disertaciji, na rizik za nastanak depresivnog poreme aja (Rao i sar., 2016). Tako e, povezanost rizi nog haplotipa i psihoze psihoze u skladu je sa rezultatima iz literatutre o uticaju datog haplotipa na razli ita psihopatološka ispoljavanja (Bevilacqua i sar., 2012; Leszczy ska-Rodziewicz i sar., 2014; Martín-Blanco i sar., 2016), me u kojima su i psihoti ni simptomi u opštoj populaciji (Cristóbal-Narváez i sar. 2016; Yaylaci i sar., 2016).

Rezultati analize fenotipa potvrdili su nalaze iz literature da trauma u detinjstvu uti e na psihoti na iskustva kod pacijenta i zdravih ispitanika (srodnici i kontrole). Dati rezultati mogu se povezati sa studijom Trotta i saradnika koja je pokazala da svaka vrsta traume u detinjstvu uti e na perzistentnost psihoti nih simptoma kod osoba pod povišenim rizikom za psihozu i kod pacijenta sa dijagnostikovanim psihoti nim poreme ajem (Trotta i sar., 2015). Tako e, treba naglasiti da je prema literaturi uticaj traume u detinjstvu specifi no vezan za pozitivne psihoti ne simptome (van Dam i sar., 2014; Duhig i sar., 2015), što upravo i opisuje varijabla psihoti nih iskustava koja je koriš ena u doktorskoj disertaciji (CAPE-P). Dalje, trauma u detinjstvu je bila prediktorska varijbala neuroticizma što je tako e u skladu sa podacima iz literatutre koji su pokazali da trauma u detinjstvu predstavlja sredinski faktor rizika za razvoj li nosti u vidu pove anja neuroticizma, kao mere negativnog afektiviteta (Roy i sar., 2002; Li i sar., 2014). U skladu sa literaturom su i rezultati ispitivanja povezanosti psihoti nih iskustava i neuroticizma koji su pokazali da je neuroticizam snažan prediktor psihoti nih simptoma kod pacijenta i srodnika. Sli ne rezultate su objavili Boyette i saradnici, koji su pokazali da ja ina povezanosti raste sa podložnoš u za psihoti ne poreme aje, odnosno povezanost u njihovom istraživanja je rasla od zdravih kontrola bez naslednih faktora za oboljenje, ka prvostepenim srođnicima i pacijentima (Boyette i sar., 2013).

D. Objavljeni rezultati koji ine deo teze

Radovi objavljeni u asopisu indeksiranom u SCI/CC bazi:

1. Mihaljevic M, Zeljic K, Soldatovic I, Andric S, Mirjanic T, Richards A, i sar.
The emerging role of the FKBP5 gene polymorphisms in vulnerability-stress

model of schizophrenia: further evidence from a Serbian population. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2016; (in press).

E. Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Uticaj polimorfizama FKBP5 gena, traume u detinjstvu i neuroticizma na rizik od psihotičnog poremećaja“ kandidata dr Marine Mihaljević predstavlja originalan naučni doprinos, jer je prva studija koja na integrativan i sistematičan način evaluira uticaj rizika FKBP5 genskih varijanti na srpskoj populaciji pacijenata obolelih od psihotičnog poremećaja. Takođe, ovo je prva studija koja je ispitivala razlike u distribuciji FKBP5 haplotipa između pacijenata, srodnika i kontrola. Dodatno, ispitivani su efekti značajnih psihosocijalnih faktora rizika, traume u detinjstvu i neuroticizma, na podložnost za psihotičan poremećaj, kao i njihovu međusobnu povezanost sa psihotičnim iskustvima.

Navedena evaluacija fokusirana je na deo bioloških i psihosocijalnih faktora koji nose rizik za nastanak psihoze, pažljivo i detaljno rasvetljavaju i jedan od segmenata od značaja u etiopatogenezi shizofrenije kao najstroženijeg psihijatrijskog poremećaja.

Značajan naučni doprinos ove disertacije predstavlja nalaz veće frekventnosti rizika alela funkcionalnih polimorfizama FKBP5 gena i rizika haplotipa u grupi pacijenata, što može da predstavlja genetsku predispoziciju za povišenu vulnerabilnost na stres, odnosno povišenu stres-senzitivnost kod obolelih. Sa druge strane, veća učestalost nerizika, „protektivnih“ FKBP5 haplotipova u grupi kontrola i srodnika može da govori u prilog genetske predispozicije za potencijalnu rezilijentnost HPA osovine prilikom izlaganju stresu.

Poseban doprinos nauci su rezultati doktorske disertacije koji su pokazali da su biološki (rizici FKBP5 genske varijante) i psihosocijalni faktori rizika (trauma u detinjstvu i neuroticizam) individualni prediktori psihotičnog poremećaja. Rizici FKBP5 genske varijante direktno utiču na razvoj psihotičnog poremećaja, a prisustvo traume u detinjstvu dodatno pogoršava njihov efekat povećavajući rizik za bolest skoro

dva puta. Dakle, dokazima o uticaju FKBP5 gena i traume u detinjstvu na psihoti ne poreme aje podržan je koncept dijateza-stres modela, odnosno da interakcija biološke senzitivnosti HPA sistema i stresogenih faktora uti e na razvoj psihoti nog poreme aja.

Dodatno, nau ni doprinos doktorske disertacije jeste potvrda rezultata iz literature koji su ukazali da je ja ina povezanosti neuroticizma i psihoti nih simptoma uslovljena naslednim, odnosno geneti kim, faktorima. Daljom analizom neuroticizma, psihoti nih iskustava, i geneti kih varijabli, ova doktorska disertacija je pokazala da su rizi ne FKBP5 genske varijante direktni prediktori višeg nivoa neuroticizma, ime indirektno uti u na težinu psihoti ne simptomatologije. Dati nalaz je doprineo boljem razumevanju psihološkog faktora rizika (neuroticizma) za psihoti ne poreme aje, i ukazao je na mogu u gensku osnovu povišene stres-senzitivnosti, što je u skladu sa hipotezom o endogenoj (biološkoj) vulnerabilnosti pacijenata sa psihozom. Tako e, datim rezultatima ukazano je da bi mogla da postoji geneti ka predispozicija za dijateza-stres model psihoti nog poreme aja.

Kona no, mogu nost da se osobe podele u rizi ne i rezilijentne grupe u odnosu na razvoj psihoti nih poreme aja na osnovu geneti ke predispozicije za regulaciju HPA osovine, i sledstveno bioloških korelata neurobiološkog puta na koji uti u, predstavljaju nove smernice u strategijama primarne i sekundarne prevencije psihoti nih poreme aja. Budu a terapija poreme aja iz psihoti nog spektra, od koje se o ekuje personalizovan pristup, ve a efikasnost, i bolja podnošljivost, trebalo bi da uklju i farmakološke i/ili ne-farmakološke intervencije u cilju regulacije poreme aja HPA aktivnosti po ev od najranijih faza bolesti.

Doktorska disertacija je ura ena prema svim principima nau noistraživa kog rada, sa precizno definisanim ciljevima, originalnim nau nim pristupom, savremenom metodologijom rada, adekvatno prikazanim i diskutovanim rezultatima i jasno uobli enim zaklju cima.

Uzevši u obzir gore navedeno, kao i dosadašnji nau ni rad kandidata, Komisija predlaže Nau nom ve u Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati pozitivnu ocenu predložene doktorske disertacije dr Marine Mihaljevi i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

Beograd, 13.04.2017. godine

Članovi Komisije:

Akademik prof. dr Dušica Le i Toševski

Prof. dr Ivanka Markovi

Prof. dr Slavica uki Dejanovi

Mentor:

Prof. dr Na a Mari Bojovi

Komentor:

Prof. dr Ivana Novakovi
