

**NAUČNOM VEČU U MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu održanoj 24.12.2015. godine imenovana je Komisija u sastavu:

1. Prof. dr Dušica Lešić Toševski, Institut za mentalno zdravlje, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Srpska akademija nauka i umetnosti
2. Prof. dr Nataša Petronijević, Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Aleksandra Nedić, Klinika za psihijatriju Kliničkog centra Novi Sad, Medicinski fakultet Univerziteta u Novom Sadu

za ocenu završne doktorske disertacije pod nazivom:

**„ZNAČAJ REGULACIJE GLUKOKORTIKOIDNOG RECEPTORA U
STRUKTURALNOM MODELU PODLOŽNOSTI ZA DEPRESIJU“**

kandidata dr Milice Jović, zaposlene na Klinici za psihijatriju, Klinički centar Srbije u Beogradu.

Mentor doktorske disertacije je doc. dr Nađa Marić Bojović, a komentor je dr sc. Miroslav Adžić, viši naučni saradnik.

Članovi Komisije su detaljno proučili priloženu doktorsku disertaciju i podnose Naučnom veću u Medicinskog fakulteta u Beogradu sledeći

IZVEŠTAJ

A. Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija „ZNAČAJ REGULACIJE GLUKOKORTIKOIDNOG RECEPTORA U STRUKTURALNOM MODELU PODLOŽNOSTI ZA DEPRESIJU“ napisana je na 94 strane i podeljena na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i spisak literature. Doktorska disertacija sadrži podatke o komisiji, sažetak na srpskom i engleskom jeziku, spisak skraćivanja i biografiju kandidata.

U **uvodu** su predstavljena osnovna saznanja o depresivnom poremećaju i konceptu strukturalnog modelovanja. U prvom delu uvoda prikazane su epidemiološke karakteristike depresije, klinička slika i kriterijumi za postavljanje dijagnoze depresije. U drugom delu uvoda su prikazane najzastupljenije biološke teorije depresije, sa posebnim fokusom na ulogu hipotalamo-hipofizno-adrenalne (HPA) osovine u nastanku depresivnog poremećaja. Detaljno je prikazan i signalni put glukokortikoidnog receptora (GR), uz aktuelna saznanja vezana za značaj fosforilacije GR-a u depresiji, gde se dr Jović oslanja na značajne, na globalnom nivou jedinstvene rezultate istraživačke grupe kojoj pripada. U trećem delu uvoda prikazani su modeli koji objašnjavaju povezanost crtanosti i depresije, a dat je i prikaz istraživanja koja su ispitivala povezanost crtanosti i aktivnost HPA osovine. U četvrtom delu uvoda prikazan je efekat stresogenih događaja u različitim stadijumima neurorazvoja i razvoja individue na nastanak depresije. U poslednjem delu uvoda prikazani su osnovni pojmovi vezani za statistički metod strukturalnog modelovanja i predstavljene su mogućnosti koje ova metoda pruža za proučavanje etiopatogeneze depresije. U uvodu se nalaze dve sheme, jedna tabela i četiri slike.

Ciljevi istraživanja su jasno definisani. Glavni cilj jeste konstruisanje strukturalnog modela vulnerabilnosti za depresiju, radi eksploracije interakcija između tri faktora: parametara regulacije GR-a (bioloških faktora), crtanosti (psiholoških faktora) i skorašnjih ugrožavajućih životnih događaja. To obuhvata kvantifikovanje udela svake od navedene tri grupe faktora u objašnjavanju varijanse vulnerabilnosti za

depresiju, određivanje koeficijenata putanje (*path coefficients*) u međusobnim interakcijama navedenih faktora, i shematski prikaz opisanih interakcija.

Materijal i metode sadrže detaljan opis svih istraživačkih postupaka, korištenih instrumenata, načina obrade podataka i tumačenja rezultata. Istraživanje predstavlja studiju preseka koja je obuhvatila 70 ispitanika (35 osoba sa dijagnozom akutnog depresivnog poremećaja i 35 zdravih kontrola). Jasno i precizno su opisani kriterijumi za uključivanje i isključivanje iz istraživanja. Dat je pregled instrumenata korištenih za procenu podložnosti za depresiju i čitljivosti, a detaljno je prikazana procedura analize kortizola i molekularnih parametara signalizacije GR-a iz limfocita periferne krvi. Detaljno su navedene i adekvatno obrazložene statističke metode koje su korištene u dobijanju rezultata, a navedena su i odobrenja svih etičkih odbora ustanova u kojima je istraživanje sprovedeno. Ovom poglavlju pripadaju dve sheme.

Rezultati obuhvataju detaljan prikaz nalaza dobijenih u sprovedenom istraživanju. Rezultati istraživanja su izloženi jasno, pregledno i sistematično u šest tabela, dva grafikona, dve sheme i jednoj slici.

Diskusija je napisana na odgovarajućim i naučnim, potkrepljena naučnim i savremenim navodima iz literature. Prethodno opisani rezultati su upoređeni sa savremenim i naučnim domaćim i svetskim studijama iz ove oblasti. Takođe, prikazana je i perspektiva dobijenih rezultata, konkretno perspektiva korištenja fosforilacije GR-a kao biomarkera podložnosti za depresiju. Takođe je predložen dizajn terapije depresije koja bi bila zasnovana na modulaciji fosforilacije GR-a. Prednosti i organska enzimskog ovog potencijalnog terapijskog modaliteta takođe su detaljno su opisani u ovom poglavlju.

Zaključci su uobličeni na osnovu diskutovanih rezultata i prikazani su u vidu konciznog rezimea.

Literatura sadrži spisak od 225 referenci koje su citirane u radu.

B. Kratak opis postignutih rezultata

Varijable koje su značajno korelirale sa podložnošću za depresiju bile su: neuroticizam, ekstroverzija, ugrožavajući životni događaji, kao i tri parametra regulacije aktivnosti GR-a (GR fosforilisan na serinu 226 – pGR-226, GR fosforilisan na serinu 211 – pGR-211 i protein FKBP51). U proceduri strukturalnog modelovanja su najpre formirane dve latentne varijable: varijabla *biološki faktori*, koja je uključila opisane tri parametara regulacije aktivnosti GR, i varijabla *psihološki faktori*, koja je obuhvatila neuroticizam i ekstroverziju. Inicijalno, zadovoljavajuća podesnost modela je postignuta sa sledećim vrednostima indeksa podesnosti: $\chi^2=10,74$, $p=0,378$, CFI=0,996, RMSEA=0,033. Podesnost modela je dodatno poboljšana kada je dodata kovarijansa greške merenja između neuroticizma i ugrožavajućih životnih događaja (indeksi podesnosti: $\chi^2=9,268$, $p=0,413$, CFI=0,999, RMSEA=0,021). U modelu značajni prediktori položnosti za depresiju bili su *psihološki faktori* ($p=0,001$) i *biološki faktori* ($p=0,002$), pri čemu su *psihološki faktori* snažnije predviđali podložnost za depresiju od *bioloških faktora*. Takođe, značajan je bio efekat *psiholoških faktora* na *biološke faktore* ($p=0,002$). Iako ugrožavajući životni događaji nisu imali direktan efekat na podložnost za depresiju ili parametre signalizacije GR-a, pokazali su značajan efekat na *psihološke faktore* ($p=0,007$). Putanja od ugrožavajućih događaja do latentne varijable *biološki faktori* nije dostigla statističku značajnost ($p=0,999$). Opisani model sa interakcijama između navedenih faktora je prikazan grafikom.

C. Uporedna analiza sa rezultatima iz literature

Glavni nalazi istraživanja su da su *parametri GR signalizacije* (izraženi kroz latentnu varijablu *biološki faktori*) i *crte ličnosti* (izražene kroz latentnu varijablu *psihološki faktori*) imali *direktan nezavisni efekat na podložnost za depresiju*, dok skorašnji stresogeni događaji nisu predviđali podložnost za depresiju direktno, ali su pokazali značajan efekat na crte ličnosti.

Fosforilacija GR-a je do sada nedovoljno ispitivana u kontekstu afektivnih poremećaja. Skorašnja istraživanja naše grupe (po našem najboljem saznanju, jedinstvena u svetu) ukazala su na to da iako se pacijenti sa depresijom nisu razlikovali

od zdravih kontrola prema nivoima ukupnog nuklearnog GR-a, imali su značajno više vrednosti pGR-226, kao i niži odnos pGR-211/pGR-226, što ukazuje na sniženu transkripcionu aktivnost GR-a u depresiji (Simic i sar., 2013a). U aktuelnoj disertaciji, me u parametrima GR signalizacije, parametar pGR-226 meren u limfocitima periferne krvi je pokazao ja u korelaciju sa negativnim afektivnim stanjima od nivoa FKBP51 i pGR-211 u istom tkivu. Ovo je značajan nalaz, s obzirom da je do sada u literaturi nivo FKBP51 proteina (uz povezane genske analize) bio glavni fokus istraživanja koja su proučavala intracelularnu signalizaciju GR-a u depresiji, a fosforilisanost GR-a je relativno novi ali nedvosmisleno važan parametar. Višegodišnjim istraživanjem u Srbiji, koje sprovode Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu i Institut za nuklearne nauke Vinča, potkrepljenim serijom publikacija, jasno je istaknut značaj istraživanja fosforilacije GR-a u pokušajima da se pronađu molekularni biomarkeri izmenjene funkcije HPA osovine u depresiji. Takođe, skorašnje prekliničke studije pokazale su da različite grupe antidepresiva utiču na funkciju GR-a tako što modulišu fosforilaciju receptora (Mitic i sar., 2013; Guidotti i sar., 2013). U perspektivi, dizajn kliničkih studija u vezi sa efektima antidepresiva na aktivnost GR-a, uključujući i status fosforilisanosti receptora, stvorile uslove za kreaciju novih terapijskih mogućnosti koje bi delovale preko signalnog puta GR-a.

U aktuelnom modelu, crtelice imale su najjači efekat na podložnost za depresiju, a među njima neuroticizam je bio taj koji je imao najveći koeficijent putanje kada je u pitanju latentna varijabla *psihološki faktori*. Ovo je u saglasnosti sa prethodnim istraživanjima koja su izdvojila *neuroticizam kao ključni prediktor depresije* (Kendler i sar., 2004). Istraživanja su pokazala da osobe sa visokim neuroticizmom imaju izraženiji trenutni negativni efekat, jače i trajnije negativne emocije kada suočene sa svakodnevnim problemima (Jacobs i sar., 2011). Takođe, u ovom modelu psihološki faktori su pokazali značajan efekat na biološke faktore. Prethodna istraživanja su uglavnom proučavala vezu neuroticizma i HPA osovine merenjem koncentracije kortizola po buđenju ili koncentracije kortizola u odgovoru na stres, ali konzistentna poveznost nije utvrđena (Ormel i sar., 2013; McCleery i Goodwin, 2001; Zobel i sar., 2004; Oswald i sar., 2006; Tyrka i sar., 2008; Zoccola i sar., 2010). U ovoj doktorskoj tezi kortizol je od svih ispitivanih bioloških parametara imao najslabiju povezanost sa podložnošću za depresiju, što upućuje da je potreban specifičiji, osetljiviji parametar funkcije HPA osovine kada se ispituje podložnost sa

depresiju i što potkrepljuje potrebu za analizama na citoplazmatskom nivou i u jedru, što je u ovoj disertaciji i ostvareno.

Stresogeni životni događaji nisu imali *direktan* efekat na podložnost za depresiju, niti na biološke faktore. Ovo ne iznenađuje ako se uzme u obzir da se, kada se sagleda tok depresije, povezanost između stresogenih događaja i epizoda depresije smanjuje sa vremenom, tj. po etak svake sledeće depresivne epizode sve manje zavisi od prisustva stresogenog događaja (Willner i sar., 2013). S obzirom na to da je aktuelni uzorak bio heterogen po pitanju prisustva kliničke depresije (i po pitanju broja depresivnih epizoda kod pacijenata), značajna povezanost između stresogenih događaja i podložnosti za depresiju nije bila uočena. Međutim, ugrožavajući događaji su imali značajan efekat na *psihološke faktore* u našem modelu, upravo i na njihov *posredan efekat* na podložnost za depresiju.

U finalnom modelu, pouzdanost je poboljšana kada je uključena kovarijansa greške merenja između neuroticizma i ugrožavajućih životnih događaja. Ovo je u saglasnosti sa prethodnim studijama koje su pokazale da *neuroticizam utiče na prijavljivanje broja stresogenih događaja* (Brett i sar., 1990). Prema tome, ostaje pitanje do koje mere primenjeni upitnik za ugrožavajuće životne događaje meri stresogene životne događaje, a koliko je pod uticajem trenutnog negativnog afekta.

D. Objavljeni rezultati koji čine deo teze

Radovi objavljeni u časopisu indeksiranom u SCI/CC bazi:

1. **Jovicic M**, Maric NP, Soldatovic I, Lukic I, Andric S, Mihaljevic M, Pavlovic Z, Mitic M, Adzic M. The role of glucocorticoid receptor phosphorylation in the model of negative affective states. *World J Biol Psychiatry*. 2015;16(5):301-11. doi: 10.3109/15622975.2014.1000375 (IF 4.183, kategorija M21).
2. **Jovicic MJ**, Lukic I, Radojicic M, Adzic M, Maric NP. Modulation of c-Jun N-terminal kinase signaling and specific glucocorticoid receptor phosphorylation in the

treatment of major depression. *Med Hypotheses*. 2015 Sep;85(3):291-4. doi: 10.1016/j.mehy.2015.05.015. (IF 1.074, kategorija M23).

E. Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „ZNAČAJ REGULACIJE GLUKOKORTIKOIDNOG RECEPTORA U STRUKTURALNOM MODELU PODLOŽNOSTI ZA DEPRESIJU“ kandidata dr Milice Jović predstavlja originalan naučni rad koji je predmet konstruisanja strukturalnog modela biopsihosocijalne podložnosti za depresiju. Naučni doprinos ovog istraživanja je višestruk. Na prvom mestu, to je predstavljanje koncepta strukturalnog modelovanja u proučavanju etiologije kompleksnih psihijatrijskih oboljenja. Iako se ova statistička metoda sve više koristi u svetu, nije nam poznato da je do sada korišćena za proučavanje povezanosti molekularnih i psihijatrijskih fenomena u Srbiji.

Takođe, fosforilacija GR-a u depresiji je nedovoljno istražen fenomen, a ovo je prva studija koja uvrštava fosforilisanost GR-a u strukturalni model kliničke depresije, ispitujući kontinuum od zdravlja, preko ispod-pražnih (supkliničkih) simptoma depresije, do jasne epizode depresivnog poremećaja. Na kraju, u ovoj disertaciji je istovremeno ispitana povezanost fosforilacije GR-a i nivoa FKBP51 sa simptomima depresije. Na taj način je pokazano koji od ova dva molekularna parametra može poslužiti kao bolji marker vulnerabilnosti za depresiju. Ovo je značajno zbog toga što se FKBP51, kao važan modulator aktivnosti GR-a, već razmatra kao potencijalni ciljni molekul za terapiju depresije, a bolje razumevanje ostalih učesnika u signalnom putu GR-a pomoći će razvoj novih terapijskih strategija u lečenju depresivnog poremećaja i prevenciji progresije negativnih afektivnih stanja (fizioloških varijeteta normalnosti) u kliničku formu afektivnih poremećaja.

Doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja i rada, sa precizno definisanim ciljevima, originalnim naučnim pristupom, savremenom metodologijom rada, adekvatno prikazanim i diskutovanim rezultatima i jasno uobličanim zaključcima.

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 Milice Jovi i i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

Beograd, 18.1.2016. godine

Mentor

lanovi Komisije:

Doc. dr Na a Mari Bojovi

Prof. dr Dušica Le i Toševski

Komentor

Prof. dr Nataša Petronijevi

Dr sc. Miroslav Adži

Prof. dr Aleksandra Nedi