

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ И ВЕЋУ ДОКТОРСКИХ СТУДИЈА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА

На V редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду-Биолошког факултета, одржаној 10.03.2017. године, прихваћен је извештај ментора проф. др Душанке Савић-Павићевић о урађеној докторској дисертацији **Јелене Н. Карановић** под насловом „**Варијанте у генима за едитовање РНК, серотонински рецептор 2Ц и триптофан-хидроксилазу 2 као фактори ризика за покушај самоубиства код психијатријских болесника**“, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Душанка Савић-Павићевић, ванредни професор Универзитета у Београду-Биолошког факултета, др Горан Брајушковић, ванредни професор Универзитета у Београду-Биолошког факултета, др Маја Ивковић, доцент Универзитета у Београду-Медицинског факултета и др Владимир Јовановић, научни сарадник Универзитета у Београду-Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“. Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација **Јелене Н. Карановић** под насловом „**Варијанте у генима за едитовање РНК, серотонински рецептор 2Ц и триптофан-хидроксилазу 2 као фактори ризика за покушај самоубиства код психијатријских болесника**“ написана је на 116 страна и садржи 17 слика и 19 табела. Пагинирани текст докторске дисертације чине следећа поглавља: Увод (22 стране), Циљеви рада (1 страна), Материјал и методе (20 страна), Резултати (29 страна), Дискусија (19 страна), Закључци (2 стране), Литература (1 страна) и Прилози (6 страна). Дисертација садржи и уобичајене уводне (непагиниране) стране са неопходним информацијама о докторској дисертацији, затим, Сажетак на српском и енглеском језику са кључним речима, податке о научној области са ужом научном облашћу и УДК бројем, Листу скраћеница и Садржај, док на крају садржи Биографију аутора, Одлуку етичког одбора Клиничког центра Србије, репринте радова из докторске дисертације и обавезне прилоге (Изјаву о ауторству, Изјаву о истовестности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјаву о коришћењу).

Анализа докторске дисертације

У својој докторској дисертацији кандидаткиња **Јелена Н. Карановић** изучава допринос генетичких и срединских фактора и њихових удружених и интерактивних ефеката ризику за покушај самоубиства, као дела континуума самоубилачког понашања који представља глобални здравствени проблем без ефикасних мера превенције и лечења.

У поглављу **Увод**, унутар седам потпоглавља, дат је сажет приказ самоубилачког понашања као сложеног фенотипа и приказ досадашњих сазнања о срединским факторима ризика и неуробиолошкој основи која је била полазиште за одабир гена-кандидата који су

у овој тези изучавани као фактори ризика. У првом потпоглављу дефинисан је континуум самоубилачког понашања, наведени су епидемиолошки подаци и дат је приказ његове етиологије према моделу 'предиспозиција-стрес'. Друго потпоглавље описује психијатријске поремећаје као најчешће коморбидитете покушаја самоубиства. У трећем потпоглављу описани су стресни догађаји и злостављања из детињства, као значајни средински фактори ризика за покушај самоубиства, и акутни стресни догађаји, као непосредни поводи за покушај самоубиства. У четвртм потпоглављу описане су студије генетичких асоцијација и студије интеракција генетичких и срединских фактора као приступи у идентификацији фактора ризика сложених фенотипова. У петом потпоглављу, које се састоји из три дела, описана је хипофункција серотонинског неуротрансмитерског система код самоубилачког понашања. Посебна пажња посевећена је повезаности измењеног нивоа експресије и генетичких варијанти гена за триптофан-хидроксилазу 2 (*TPH2*), ензима који катализује синтезу серотонина у мозгу, и гена за серотонински рецептор 2C (*HTR2C*). Шесто потпоглавље описује едитовање РНК катализовано аденозин деаминазама које делују на РНК (*ADAR* и *ADARB1*) и његову повезаност са самоубилачким понашањем. Од посебног интереса за полазиште ове тезе је да се едитовањем транскрипата *TPH2* и *HTR2C* одржава оптимална серотонинска неуротрансмисија, што је детаљно описано. У седмом потпоглављу наведена су сазнања о интеракцијама стресних животних догађаја и серотонинског система, и о могућој улози едитовања РНК као посредника у овим интеракцијама.

У поглављу **Циљеви** дефинисано је пет научних циљева:

1. Испитати појединачне асоцијације четири домена стресних догађаја током детињства (општих траума, физичког, емоционалног и сексуалног злостављања) и акутних стресних догађаја са покушајем самоубиства код психијатријских болесника из Србије.
2. Извршити одабир tag тачкастих варијанти гена за едитовање РНК (*ADAR* и *ADARB1*) и анализирати структуру хапблокова у регионима генома од интереса.
3. Испитати асоцијације гена *ADAR* и *ADARB1* са покушајем самоубиства код психијатријских болесника кроз тестирање асоцијације појединачних tag варијанти и хапблокова.
4. Испитати асоцијације појединачних варијанти rs6318 (Cys23Ser) гена *HTR2C* и варијанти rs7305115 и rs4290270 гена *TPH2* са покушајем самоубиства код психијатријских болесника.
5. Испитати удружени ефекат срединских и генетичких фактора и њихове међусобне интеракције на ризик за покушај самоубиства код психијатријских болесника.

Поглавље **Материјал и методе** организовано је у пет потпоглавља. У првом потпоглављу описан је критеријум за одабир психијатријских болесника, док су у другом описани валидирани клинички упитници за процену стресних догађаја из детињства (eng. *Early Trauma Inventory-Self Report*, ETI-SR) и акутних стресних догађаја (eng. *Life Threatening Experiences Questionnaire*, LTE-Q). У трећем потпоглављу описани су критеријуми за одабир тачкастих варијанти гена *HTR2C* и *TPH2*, и процедура за одабир tag тачкастих варијанти *ADAR* и *ADARB1* региона од интереса уз навођење свих коришћених база података, претраживача генома и софтверских програма. Четврто поглавље садржи описане молекуларно генетичке методе са свим информацијама неопходним за репродуковање експерименталних процедура. У петом потпоглављу описани су статистички тестови коришћени за испитивање асоцијације одабраних срединских и генетичких фактора и њихових удружених ефекта и интеракција на

предиспозицију за покушај самоубиства, као и за корекцију вишеструких тестирања, контролисање коваријата и процену статистичке снаге студије, уз навођење коришћених статистичких програма.

У поглављу **Резултати**, организованом у десет потпоглавља, детаљно су наведени резултати истраживања уз одговарајуће табеларне и илустративне приказе. У првом потпоглављу приказане су карактеристике испитаника по којима се група која је покушала самоубиство по старости, полу и психијатријским дијагнозама не разликује од групе која није покушала самоубиство. Друго потпоглавље описује резултате испитивања повезаности стресних животних догађаја према којима већи број доживљених општих траума и догађаја емоционалног злостављања током детињства, као и већи број пријављених стресних догађаја током последњих 12 месеци живота повећавају ризик за покушај самоубиства као независни фактори. Треће поглавље приказује одабране tag тачкасте варијанте *ADAR* и *ADARBI* региона од интереса и њихове хаплоблок структуре, док су у четвртном поглављу наведене карактеристике одабраних tag варијанти (позиција у геному према *GRCh37*, учесталост ређег алела и локација у гену) и резултати њихове функционалне анотације према подацима базе *Regulome*. У петом поглављу приказани су резултати оптимизације коришћених молекуларно генетичких метода. Шесто и седмо поглавље приказују резултате асоцијације појединачних варијанти и хаплотипова са покушајем самоубиства, према којима су варијанте *rs9983925*, *rs4819035* и хаплоблок из 3' краја гена *ADARBI* и *rs6318* гена *HTR2C* идентификоване као независни фактори ризика. У осмом потпоглављу описани су резултати моделовања удружених и интерактивних ефеката стресних животних догађаја и генетичких варијанти које су према претходно приказаним резултатима биле статистички значајано повезане са покушајем самоубиства. Ови резултати указују на постојање сложених интеракција између стресних догађаја из детињства (општих траума и емоционалног злостављања), као и да се ефекат општих траума на самоубилачко понашање испољава код болесника са поремећајем расположења (депресивним поремећајем и биполарним афективним поремећајем). Девето потпоглавље приказује резултате према којима се ефекат општих траума из детињства на покушај самоубиства модификује варијантом *rs4290270* гена *TPH2*, док десето поглавље приказује резултат моделовања према којима је ова интеракција сложенија јер зависи и од варијанте *rs4819035* гена *ADARBI*.

У поглављу **Дискусија** кандидаткиња је дала упоредну анализу оригиналних резултата ове докторске дисертације и података из литературе. Посебна пажња посвећена је дискутовању резултата везаних за генетички детерминисану повезаност едитовања РНК са самоубилачким понашањем, која је први пут описана у овом истраживању, и истакнуто је да је варијанта *rs4819035* гена *ADARBI* потенцијално регулаторна варијанта која утиче на експресију не само *ADARBI*, већ и на експресију две дуге некодирајуће РНК (*LINC00205* и *BX322557.10*) у мозгу. Кроз дискусију удруженог ефекта и интеракција идентификованих фактора ризика јасно је уочљива неопходност овог приступа у изучавању развоја самоубилачког понашања и сложених особина уопште. Такође, дискутована су ограничења овог истраживања и истакнут је његов могући клинички значај.

У поглављу **Закључак** кандидаткиња прецизно и јасно износи најзначајније закључке ове докторске дисертације:

1. Као независни фактори ризика за покушај самоубиства код психијатријских болесника из Србије идентификоване су опште трауме и емоционално злостављање током детињства и акутни стресни догађаји.
2. За анализу *ADAR* региона од интереса, који је обухватио комплетан ген *ADAR* са по околних 10 кб, одабрано је 12 таг тачкастих варијанти које формирају један хапоблок и са којима је још 44 варијанти било у високој неравнотежној везаности.
3. За анализу *ADARBI* региона од интереса, који кодира деаминазни домен и 3' UTR, одабрано је 11 таг тачкастих варијанти које формирају два хапоблока и са којима је још 38 варијанти било у високој неравнотежној везаности.
4. Као независни генетички фактори ризика за покушај самоубиства код психијатријских болесника идентификоване су варијанте rs9983925 и rs4819035 гена *ADARBI*, хапоблок rs9637192-rs2253763-rs4819035 из 3' краја гена *ADARBI* и варијанта rs6318 гена *HTR2C*.
5. Испитивањем удруженог ефекта независних генетичких и срединских фактора ризика и њихових међусобних интеракција на ризик за покушај самоубиства код психијатријских болесника, идентификована су два минимална најбоље фитована модела.
6. Први модел удружених ефеката укључио је варијанту rs9983925 гена *ADARBI*, варијанту rs6318 гена *HTR2C*, емоционално злостављање током детињства, акутне стресне догађаје, интеракцију 'опште трауме x емоционално злостављање' и интеракцију 'опште трауме x психијатријске дијагнозе'.
7. Други модел удружених ефеката укључио је опште трауме из детињства, интеракцију 'опште трауме x психијатријске дијагнозе', интеракцију 'опште трауме x rs4290270 гена *TPH2*' и интеракцију 'опште трауме x rs4290270 гена *TPH2* x rs4819035 гена *ADARBI*'.
8. Предиспозиција за самоубилачко понашање код психијатријских болесника, барем једним делом, дефинисана је генетички детерминисаним индивидуалним разликама у генима *HTR2C* и *TPH2*, и генима за едитовање РНК деаминацијом аденозина у инозин, што је први пут показано у овој студији, као и дијагностикованим поремећајима расположења, кумулативним излагањем различитим стресним догађајима током детињства и акутним стресним догађајима.
9. Потенцијални клинички значај ове студије је да идентификовани фактори ризика могу помоћи у идентификацији психијатријских болесника који имају повећан ризик за самоубилачко понашање, чак и у раној фази болести, као и да могу усмерити испитивање нових биомаркера и терапеутика на процес едитовања РНК.

У поглављу **Литература** дата је листа од 185 библиографских јединица. Списак литературе је адекватан, актуелан и покрива све аспекте истраживања и дискусије резултата. На крају овог поглавља дат је преглед 13 коришћених електронских база података и 5 софтверских програма који су доступни *online*.

У поглављу **Прилози** дате су додатне информације везане за поглавља Материјал и методе и Резултати.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. Karanović, J., Šviković, S., Pantović, M., Durica, S., Brajušković, G., Damjanović, A., Jovanović, V., Ivković, M., Romac, S. and Savić Pavićević, D. (2015). Joint effect of ADARB1 gene, HTR2C gene and stressful life events on suicide attempt risk in patients with major psychiatric disorders. *World Journal of Biological Psychiatry*, 16(4), pp. 261-271. (ИФ₂₀₁₃ 4.225) **M21**
2. Karanović, J., Ivković, M., Jovanović, V.M., Šviković, S., Pantović-Stefanović, M., Brkušanin, M., Damjanović, A., Brajušković, G. and Savić-Pavićević, D. (2017). Effect of childhood general traumas on suicide attempt depends on TPH2 and ADARB1 variants in psychiatric patients. *Journal of Neural Transmission*. doi:10.1007/s00702-017-1677-z.3. (ИФ₂₀₁₅ 2.587) **M22**

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. Karanović, J., Ivković, M., Jovanović, V., Pantović Stefanović, M., Brkušanin, M., Damjanović, A., Brajušković, G. and Savić Pavićević, D. (2016). Effect of childhood general traumas on suicide attempt depends on TPH2 and ADARB1 variants in psychiatric patients. *Psihijatrija danas Supplementum/2016/48/1/5-145*, p. 80. XV Congress of Serbian Psychiatric Association WPA Co-sponsored and Regional Congress of Psychiatric Association for Eastern Europe and the Balkans. Belgrade, Serbia. October 12-15, 2016. **M34**
2. Karanović, J., Šviković, S., Pantović, M., Djurica, S., Brajušković, G., Damjanović, A., Jovanović, V., Ivković, M., Romac, S. and Savić Pavićević, D. (2015). Association of HTR2C gene with suicide attempt risk in Serbian patients with major psychiatric disorders. Book of abstracts, pp. 58-59. 11th Balkan Congress of Human Genetics. Belgrade, Serbia. September 17-20, 2015. **M34**
3. Karanović, J., Šviković, S., Pantović, M., Durica, S., Brajušković, G., Damjanović, A., Jovanović, V., Ivković, M., Romac, S. and Savić Pavićević, D. (2015). Association of ADARB1 gene with suicide attempt risk in patients with major psychiatric disorders. *European Journal of Human Genetics*, 23(Supplement 1), p. 414. European Human Genetics Conference 2015. Glasgow, Scotland, UK. June 6-9, 2015. **M34**

Б4. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

1. Karanović, J., Pantović, M., Brkušanin, M., Brajušković, G., Romac, S., Ivković, M. and Savić Pavićević, D. (2014). Interactions of TPH2 variants and childhood abuse as risk factors for suicide attempt in Serbian psychiatric patients. Book of Abstracts, p. 123. V Congress of the Serbian Genetic Society. Kladovo (Belgrade), Serbia. September 28-October 2, 2014. **M64**

Мишљење и предлог Комисије:

Докторска дисертација **Јелене Н. Карановић** написана је у складу са образложењем наведеним у пријави теме и садржи све релевантне елементе неопходне за овакву врсту рада. Приказани резултати потврђују успешну реализацију постављених циљева истраживања. Истраживања у оквиру докторске тезе истичу генетички детерминисану повезаност едитовања РНК са самоубилачким понашањем, која је први пут описана у овом истраживању, и значај испитивања њихових удружених и интерактивних ефеката са генетички детерминисаним разликама серотонинског система и стресних животних догађаја као фактора ризика који доприносе самоубилачком понашању. Резултати ове тезе публиковани су у два научна рада (категорије M21 и M22) и представљени су на три међународне и једној националној конференцији и представљају оригинални научни допринос у области молекуларне генетике болести човека и биомедицине.

На основу свега изложеног, Комисија предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај Извештај и одобри кандидаткињи **Јелени Н. Карановић** јавну одбрану докторске дисертације под насловом: **„Варијанте у генима за едитовање РНК, серотонински рецептор 2Ц и триптофан-хидроксилазу 2 као фактори ризика за покушај самоубиства код психијатријских болесника“**.

КОМИСИЈА:

Др Душанка Савић-Павићевић, редовни професор
Универзитета у Београду-Биолошког факултета

Др Горан Брајушковић, ванредни професор
Универзитета у Београду-Биолошког факултета

Др Маја Ивковић, доцент
Универзитета у Београду-Медицинског факултета

Др Владимир Јовановић, научни сарадник
Универзитета у Београду-Института за биолошка
истраживања „Синиша Станковић“

У Београду, 10.04.2017. године.