

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA

UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 28.04. 2016. godine, broj 5940/4 imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Nivoi medjućelijskog adhezionog molekula-1 i vaskularnog ćelijskog adhezionog molekula-1 u serumu obolelih od bipolarnog afektivnog poremećaja i shizofrenije“

kandidata dr Maje Pantović Stefanović, zaposlene na Klinici za psihijatriju Kliničkog centra Srbije u Beogradu, kao lekara na specijalizaciji iz psihijatrije. Mentor je Doc. dr Maja Ivković. Komentor je Prof. dr Nataša Petronijević.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Aleksandar Damjanović, specijalista neuropsihijatrije, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Olivera Stanojlović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Goran Mihajlović, specijalista neuropsihijatrije, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu

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

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Maje Pantović Stefanović napisana je na 151 strani i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, materijal i metod, rezultati, diskusija,

zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 18 tabela, 12 grafika, 2 dijagrama i 1 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata i podatke o komisiji.

U **uvodu** je definisan značaj shizofrenije (SCH) i bipolarnog afektivnog poremećaja (BAP), kao oboljenja sa potencijalno zajedničkom neurobiološkom osnovom. Istaknut je značaj kontinualnog sagledavanja ovih poremećaja, kao deo savremenog pristupa ispitivanju oboljenja iz shizo-afektivnog kontinuuma. Analizirane su istorijske postavke koje su dovele do formiranja ovakvog pristupa. Takodje, detaljno su predstavljene epidemiološke sličnosti i razlike između BAP i SCH koje govore u prilog zajedničkoj ili različitoj osnovi oboljenja. Dalje su analizirani klinička slika i tok BAP i SCH, kao fundamenti za istraživanje neurobioloških osnova međuođnosa ovih bolesti. U okviru samih neurobioloških osnova detaljno su prikazane biološke sličnosti i razlike među obolelima, koje podrazumevaju genetske biomarkere, neuro-morfološke korelate, neurotrofine, parametre oksidativnog stresa i medijatore inflamatornih procesa. Pored značaja kontinualnog sagledavanja BAP i SCH dodatno su prikazana aktuelna saznanja vezana za značaj longitudinalnog pristupa afektivnim i psihotičnim poremećajima u okviru kojeg je naglašena važnost sagledavanja prirodne progresije bolesti.

U drugom delu uvoda, detaljno je prikazana uloga adhezionih molekula u kliničkoj slici i etiopatogenezi psihijatrijskih poremećaja. Opisana je struktura i funkcija adhezionih molekula i predstavljena je važnost njihovih različitih podfamilija. U okviru prikaza podfamilija adhezionih molekula posebna pažnja bila je posvećena podfamiliji imunoglobulinima sličnih adhezionih molekula (Ig-CAMs), kao najveće grupe adhezionih molekula čiji predstavnici su visoko eksprimirani na razvojnem i zreom centralnom nervnom sistemu (CNS). Dalje, prikazana su aktuelna saznanja vezana za strukturu i funkciju najvažnijih predstavnika Ig-CAMs, međućelijskog adhezionog molekula-1 (ICAM-1) i vaskularnog ćelijskog adhezionog molekula-1 (VCAM-1). Naročito je naglašena njihova uloga u CNS-u sa osvrtom na regulaciji funkcije krvno-možđane barijere (KMB). Prikazana su aktuelna saznanja bazirana na in vivo i in vitro istraživanjima, vezana za značaj ICAM-1 i VCAM-1 u psihijatrijskim bolestima. Predstavljen je i značaj njihovih solubilnih formi

(sICAM-1 i sVCAM-1) kao indikatora aktivacije endotelnog sistema KMB. Istaknuta je povezanost ovih imunskih medijatora sa izmenama u neurotransmiterskim sistemima vezanim za poremećaje raspoloženja i psihotične poremećaje.

Ciljevi istraživanja su precizno definisani. Sastoje se u ispitivanju serumskih koncentracija sICAM-1 i sVCAM-1 kod dve grupe obolelih i zdravih kontrola. Ciljevi doktorske teze bili su da se ispita: (a) da li se koncentracije sICAM-1 i sVCAM-1 u serumu razlikuju između obolelih od BAP i SCH; (b) da li se koncentracije sICAM-1 i sVCAM-1 u serumu obolelih od BAP/SCH razlikuju u odnosu na zdrave ispitanike; (c) da li se koncentracije sICAM-1 i sVCAM-1 u serumu obolelih od BAP/ SCH razlikuju u remisiji u odnosu na akutnu fazu bolesti; (d) da li postoji povezanost koncentracija sICAM-1 i sVCAM-1 u serumu obolelih od BAP/SCH sa stepenom psihopatologije, kliničkim karakteristikama toka bolesti i primenjenim farmakoterapijskim protokolima.

U poglavlju **Materijal i metod** navedeno je da je istraživanje sprovedeno na Klinici za psihijatriju Kliničkog centra Srbije i na Institutu za medicinsku i kliničku biohemiju Medicinskog fakulteta u Beogradu. Istraživanje je bilo sprovedeno u skladu sa Kodeksom dobre naučne prakse Medicinskog fakulteta u Beogradu i Helsinškom deklaracijom Evropske ministarske konferencije o mentalnom zdravlju Svetske zdravstvene organizacije, a odobreno od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Detaljno je opisana selekcija ispitanika koji su učestvovali u istraživanju. Precizno su navedeni instrumenti korišćeni u istraživanju. U okviru primenjenih instrumenata opisan je polustrukturisani psihijatrijski upitnik kao i primenjeni psihometrijski instrumenti. Detaljno je opisana procedura uzorkovanja i analize biološkog materijala. Naveden je način uzimanja i pripreme uzoraka krvi za analizu. Opisan je postupak određivanja koncentracije sICAM-1 i sVCAM-1 u serumu.

U poglavlju **Rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

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

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Korišćena **literatura** sadrži spisak od 312 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Rezultati istraživanja ukazuju na to da je koncentracija sICAM-1 u serumu obolelih od BAP i SCH bila statistički značajno viša u odnosu na zdrave ispitanike u akutnoj fazi bolesti. U fazi remisije statistički značajno povećanje je i dalje bilo prisutno u obolelih od SCH dok je u obolelih od BAP došlo do normalizacije koncentracije ovog ćelijskog adhezionog molekula u odnosu na zdrave ispitanike. Koncentracija sVCAM-1 u serumu obolelih od BAP i SCH je bila statistički značajno niža u odnosu na zdrave ispitanike i u akutnoj fazi i u fazi remisije bolesti.

Zapaženo je da se koncentracije sICAM-1 u serumu ne razlikuju između obolelih od BAP i SCH ni u akutnoj fazi ni u fazi remisije bolesti, dok su koncentracije sVCAM-1 u serumu bile statistički značajno više u obolelih od BAP u odnosu na obolele od SCH, i u akutnoj fazi i u fazi remisije bolesti.

Serumska koncentracija sICAM-1 nije pokazala značajnu povezanost sa parametrima aktuelne epizode ni parametrima toka bolesti kod obolelih od BAP, dok su kod obolelih od SCH zapažene više serumske koncentracije sICAM-1 kod pacijenata sa trajanjem bolesti preko 10 godina u odnosu na grupe pacijenta sa kraćim trajanjem bolesti.

Koncentracija sVCAM-1 u serumu je pokazala značajnu korelaciju sa parametrima aktuelne epizode kod obolelih od BAP. Zapažena je značajna negativna korelacija sa intenzitetom simptoma manije i značajna pozitivna korelacija sa intenzitetom simptoma depresije u akutnoj fazi bolesti. Takođe koncentracija sVCAM-1 bila je značajno niža kod obolelih od BAP u akutnoj epizodi manije u odnosu na obolele u akutnoj epizodi depresije.

Koncentracija sVCAM-1 u serumu obolelih od BAP u akutnoj fazi bolesti je bila povezana sa parametrima toka bolesti i značajno je inverzno korelirala sa dužinom trajanja maničnih simptoma tokom života, kao i težinom bolesti. Takođe je koncentracija sVCAM-1

bila značajno niža kod obolelih od BAP sa predominantnim maničnim polaritetom u odnosu na pacijente sa jednakim ili depresivnim polaritetom bolesti.

Primena viših doza antipsihotika, kao i primena antidepresiva iz grupe selektivnih inhibitora ponovnog preuzimanja serotonina i noradrenalina (SNRI) i tricikličnih antidepresiva (TCA), u cilju terapije aktuelne epizode, bila je povezana sa nižim koncentracijama sICAM-1 u serumu, u fazi remisije BAP. Primene kombinovane terapije stabilizatorima raspoloženja u cilju terapije aktuelne epizode bila je povezana je sa višim serumskim koncentracijama sVCAM-1 u remisiji obolelih od BAP.

Longitudinalna, kumulativna primena psihofarmaka je bila povezana samo sa koncentracijom sICAM-1 u serumu obolelih od BAP. Niže koncentracije sICAM-1 su primećene u akutnoj fazi u slučaju duže terapije atipičnim antipsihoticima i antidepresivima primenjenim u višoj dozi. U fazi remisije BAP primećeno je da su niži nivoi sICAM-1 bili povezani samo sa dužinom tretmana, a ne i sa dozom lekova.

Pri sagledavanju ukupnog uzorka obolelih (BAP i SCH) zapaženo je da je sniženje sVCAM-1 u akutnoj fazi bolesti povezano sa psihotičnom, pozitivnom simptomatologijom, praćenom kognitivnim oštećenjem u kontinualno sagledanim simptomima, kao i jačom tendencijom ka pripadnosti spektru shizofrenih nasuprot afektivnih poremećaja.

Rezultati su dalje pokazali da je prisustvo psihotične simptomatologije medijator u prediktorskoj ulozi koncentracije sVCAM-1 u serumu na tendenciju ka pripadnosti određenoj dijagnostičkoj kategoriji, kao i da uloga sVCAM-1 može biti potencirana moderatorskom ulogom herediteta na afektivne poremećaje.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Istraživanje ove doktorske disertacije i njeni rezultati ukazuju da su koncentracije sICAM-1 u serumu obolelih od BAP i SCH, u akutnoj fazi bolesti, bile značajno više u odnosu na zdrave ispitanike, kao i da do normalizacije ovog imunskog medijatora, u fazi remisije, dolazi samo kod obolelih od BAP. Sa druge strane, koncentracija sVCAM-1 u serumu obolelih od BAP i SCH su bile značajno niže u odnosu na zdrave ispitanike bez obzira na fazu

bolesti. Rezultati vezani za serumske koncentracije sICAM-1 u kliničkim studijama pokazali je sniženje sICAM-1 kod obolelih od SCH, u nekoliko do sada objavljenih istraživanja (Schwarz et al, 1999, 2000; Kavzoglu et Hariri, 2013). Iako rezultati aktuelne doktorske disertacije nalaze suprotno, razlog za navedene razlike je moguće tražiti u većem broju ispitanika uključenih u aktuelnu studiju, boljoj kontroli interferirajućih faktora, strožijoj selekciji ispitanika, ali i činjenici da su se pacijenti uključeni u aktuelno istraživanje verovatno nalazili u kasnijem stadijumu razvoja bolesti. Sa druge strane, serumskim nivoima sICAM-1 kod obolelih od BAP bavile su se do sada samo dve studije i to uzimajući u obzir isključivo pacijente u prvoj epizodi manije (Kesebir et al., 2014; Turan et al., 2014). Njihova istraživanja govore o povećanim koncentracijama ovog imunskog medijatora u akutnoj fazi i njegovoj normalizaciji kod navedene subpopulacije obolelih od BAP, što je u saglasnosti i sa aktuelnim istraživanjem. Takodje, najčešće je evidentirano i da nivoi sVCAM-1 nisu izmenjeni kod obolelih od SCH (Graham et al., 2009; Kavzoglu et Hariri, 2013; Meyer et al., 2009), posebno kod pacijenata u prvoj epizodi bolesti. Ipak, slično našem istraživanju, sniženje serumskih koncentracija sVCAM-1 evidentirano je kod obolelih od poremećaja iz autističnog spektra (Kameno et al., 2013) koji je, iako razvojni poremećaj, blizak shizofreniji i psihotičnim poremećajima uopšte. Sa druge strane, prethodne studije zapazile su povećane koncentracije sVCAM-1 kod pacijenata obolelih od BAP (Kesebir et al., 2014; Turan et al., 2014). Aktuelna doktorska disertacija nalazi drugačije rezultate u akutnoj fazi BAP, kao i odsustvo normalizacije sVCAM-1 u fazi remisije što je takodje suprotno navedenim istraživanjima. Ipak, aktuelna studija uključila je veći broj ispitanika, kontrolisala interferirajuće faktore i detaljno analizirala ostale faktore koji mogu biti povezani sa izmenama u imunskim medijatorima. Takodje, jedan od razloga koji bi mogli dovesti do diskrepancije u rezultatima je i činjenica da su pacijenti aktuelne studije bili nešto stariji, sa najmanje jednom prethodnom depresivnom epizodom bolesti i primenjenom psihofarmakološkom terapijom tokom života.

Prema našim saznanjima, aktuelna doktorska disertacije je prva koje se bavila poredjenjem serumskih koncentracija sICAM-1 i sVCAM-1 izmedju grupe obolelih od BAP i grupe obolelih od SCH. Malobrojne studije koje su se bavile ekspresijom ICAM-1, na

endotelu krvnih sudova mozga obolelih od ovih oboljenja, nalaze njegovu povećanu ekspresiju kod obolelih od BAP u odnosu na pacijente obolele od SCH (Thomas et al., 2004). Ista studija bavila se određivanjem ekspresije VCAM-1 kod ovih populacija pacijenata, ali usled niske imunoreaktivnosti VCAM-1 kvantifikacija ovog imunskog medijatora nije bila moguća. Uporedna analiza rezultata aktuelne disertacije i navedene studije iz metodoloških razloga je otežana. Većina istraživača smatra da je koncentracija solubilne forme ćelijskih adhezionih molekula u značajnoj meri proporcionalna količini molekula eksprimiranih na ćelijama (Lewczuk et al., 1998). Ipak, prema nekim istraživanjima kinetika i medjuodnos ove dve forme nije nužno vremenski linearan i može zavisiti od prirode oboljenja, faze inflamacije i drugih faktora (Witkowska et Borawska, 2004). Ipak, ukoliko bi se u obzir uzelo prvo stanovište i nalazi Thomas et al. (2004), očekivali bi se povišeni nivoi sICAM-1 kod obolelih od BAP u odnosu na SCH, što nije slučaj u prikazanoj doktorskoj tezi. Medjutim, aktuelno istraživanje govori i o značaju progresije oboljenja te je moguće da su navedene razlike posledica inicijalno funkcionalnih, zajedničkih promena, a zatim i strukturnih razlika kao posledice različite progresije bolesti (Buckley et al., 2004; Maier et al., 2006).

U saglasnosti sa primećenim povećanjem serumskih koncentracija sVCAM-1 nakon kombinovane primene stabilizatora raspoloženja kod obolelih od BAP u aktuelnoj doktorskoj tezi su i eksperimentalne studije koje ukazuju da je upravo ko-tretman stabilizatorima raspoloženja odgovoran za redukciju prethodno aktiviranih proinflamatornih puteva (Chiu et al., 2011). Akutna primena ovakvih protokola odgovorna je i za stabilizaciju krvno-moždane barijere (Yu et al., 2013), a odskora postoje indicije da se sam proces stabilizacije odvija kroz inhibiciju adhezije monocita i inflamatornih molekula, u kojoj učestvuju upravo molekuli ispitivani u ovoj doktorskoj disertaciji (Beurel, 2011; Boyko et al., 2015; Ramirez et al., 2010). Ispitivanje uticaja terapije vršeno je i u odnosu na antipsihotike pa je evidentirano da ova grupa lekova ne deluje ili pak može dovesti do povećanja vrednosti sICAM-1, dok su rezultati vezani za uticaj na sVCAM-1 takodje nekonzistentni i nalaze smanjenje ili nepromenjene vrednosti ovog medijatora kod obolelih od SCH (Kavzoglu et Hariri, 2013; Meyer et al., 2009; Schwarz et al., 1999), što je delimično u saglasnosti i sa rezultatima aktuelne studije koja ne nalazi povezanost primene antipsihotika i izmena u nivoima imunskih

medijatora iste populacije pacijenata. Posebno interesantno je da, uprkos značaju ove vrste terapije, povezanost primene antipsihotika sa izmenama u nivoima adhezionih molekula kod obolelih od BAP, prema našim saznanjima, nije ranije ispitivana, a aktuelna disertacija nalazi smanjenje nivoa sICAM-1 kod obolelih od BAP na terapiji atipičnim antipsihoticima.

Takodje, aktuelna doktorska teza zapazila je smanjenje sICAM-1 nakon terapije TCA i SNRI, ali ne i drugim antidepresivima. Mali broj istraživanja bavio se ispitivanjem uticaja antidepresiva na nivo adhezionih molekula, a većinom se radi o animalnim modelima ili in vitro istraživanjima, dok su malobrojne kliničke studije bile fokusirane na delovanje antidepresiva u okviru unipolarne depresije (Dawood et al., 2016; Saengjaroentham et al., 2015; Shapovalov et al., 2014). Eksperimentalne studije nalaze da su smanjeni nivoi serotonina povezani sa povećanom ekspresijom VCAM-1 i ICAM-1 u cerebralnom korteksu animalnih modela (Saengjaroentham et al., 2015), dok lekovi iz grupe selektivnih inhibitora ponovnog preuzimanja serotonina (SSRI) takodje povećavaju ekspresiju ICAM-1 na neuronima miševa (Shapovalov et al., 2014). Sa druge strane klinička studija Dawood et al. (2016), kod obolelih od unipolarne depresije ne nalazi uticaj kratkotrajne, akutne primene SSRI na sICAM-1 i sVCAM-1, što je u delimičnoj saglasnosti i sa aktuelnom studijom. Istraživanja koja bi se bavila delovanjem antidepresiva na nivo adhezionih molekula u BAP, prema našim saznanjima, nije bilo. Pored jasnih metodoloških razloga vezanih za razliku u populaciji u odnosu na ispitivanje Dawood et al. (2016), potencijalne razlike u nalazima mogu biti posledica različite periferne i centralne distribucije adhezionih molekula (Witkowska et Borawska, 2004), ili pak prethodne longitudinalne izloženosti terapiji. Takodje, rezultate drugih studija treba tumačiti sa rezervom jer, iako ubedljivi, oni su bazirani na malim, dijagnostički heterogenim uzorcima, uz odsustvo kontrole psihopatologije i bez poredjenja sa dugoročnom terapijom (Dawood et al., 2016; Munzer et al., 2013; Piletz et al., 2009).

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. **Stefanović Pantović M**, Petronijević N, Dunjić-Kostić B, Velimirović M, Nikolić T, Jurišić V, Lačković M, Damjanović A, Totić-Poznanović S, Jovanović AA, Ivković M.

Role of sICAM-1 and sVCAM-1 as biomarkers in early and late stages of schizophrenia.
Journal of Psychiatric Research 2016; 73:45-52.

E) Zaključak

Doktorska disertacija „**Nivoi medjućelijskog adhezionog molekula-1 i vaskularnog ćelijskog adhezionog molekula-1 u serumu obolelih od bipolarnog afektivnog poremećaja i shizofrenije**“ dr Maje Pantović Stefanović predstavlja originalni naučni doprinos jer je prva studija koja se bavila poremedjenjem sICAM-1 i sVCAM-1 između obolelih od BAP i obolelih od SCH, kao i prva studija koja se bavila analizom serumskih koncentracija solubilnih formi navedenih adhezivnih molekula u svim vrstama akutne afektivne epizode u BAP. Ovim istraživanjem rasvetljeni su izvesni aspekti uloge sICAM-1 i sVCAM-1 u okviru akutnih epizoda obe bolesti, ali i njihovog toka. Navedeni rezultati potkrepljuju pretpostavku da su mehanizmi koji dovode do neuroinflamacije verovatno zajednički za oba poremećaja, dok su procesi koji dovode do neuroprotekcije i restitucije neuralne homeostaze bolje očuvani kod BAP i da je na njih moguće delovati u većoj meri. Oni ukazuju i da je vrlo verovatno da se oba procesa nalaze pod kontrolom hereditarnih i sredinskih faktora od kojih posebno značajnu ulogu ima kumulativna, longitudinalna ekspozicija pojedinim činiocima. Ovo, u nozološkom smislu, ukazuje na delimično zajedničku biološku osnovu između psihotičnih i afektivnih poremećaja, ali i na značaj longitudinalnih izmena u inflamatornom statusu obolelih. Rezultati ove doktorske disertacije bi mogli da pomognu u razumevanju mehanizama koji učestvuju u patogenezi BAP i SCH i da ukažu na moguće strategije u prevenciji i tretmanu obe bolesti.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

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

U Beogradu, 23.05. 2016.

Članovi Komisije:

Prof. dr Aleksandar Damjanović

Prof. dr Olivera Stanojlović

Prof. dr Goran Mihajlović

Mentor:

Prof. dr Maja Ivković

Komentor:

Prof. Dr Nataša Petronijević
