

## **Наставно-научном већу**

### **Универзитета у Београду – Хемијског факултета**

**ПРЕДМЕТ:** Извештај комисије за оцену докторске дисертације кандидата **Катарине З. Симић**, мастер хемичара

На редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Хемијског факултета, одржаној 14. марта 2023. године, изабрани смо за чланове Комисије за оцену докторске дисертације (одлука бр. 79/7) кандидата Катарине З. Симић, мастер хемичара, студента докторских студија Универзитета у Београду – Хемијског факултета и истраживача сарадника Универзитета у Београду – Института за хемију, технологију и металургију – Института од националног значаја за Републику Србију, пријављене под насловом

#### **„Метаболомичко испитивање биомаркера у серуму оболелих од шизофреније и биполарног афективног поремећаја”**

Веће научних области природних наука Универзитета у Београду је на својој седници одржаној 27. маја 2021. године, на захтев Хемијског факултета, дало сагласност на предлог теме докторске дисертације (евиденциони број 61206-1217/4-21). Комисија је докторску дисертацију прегледала и Наставно-научном већу подноси следећи

### **ИЗВЕШТАЈ**

#### **А. Приказ садржаја дисертације**

Докторска дисертација кандидата Катарине З. Симић написана је на 117 страна А4 формата (фонт Times New Roman; величина 12 pt; проред 1; маргине 2 cm) и садржи 54 слике и 18 табела. Дисертација се састоји од седам поглавља: Увод (1 страна), Општи део (27 страна), Експериментални део (3 стране), Резултати и дискусија (61 страна), Закључак (1 страна), Литература (17 страна, 244 цитата) и Прилог (6 страна, 12 слика). Поред наведеног, дисертација садржи: Насловну страну на српском и енглеском језику, Страну са информацијама о менторима и члановима Комисије, Захвалницу, Сажетак на српском и енглеском језику (по 1 страна), Садржај (2 стране), Листу скраћеница (1

страна), Биографију кандидата (1 страна), Списак радова и саопштења проистеклих из дисертације (1 страна), Изјаву о ауторству (1 страна), Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада (1 страна) и Изјаву о коришћењу (2 стране).

У **УВОДУ** је указано на значај теме докторске дисертације и на изазове у дијагностици менталних болести схизофреније и биполарног афективног поремећаја. Дефинисани су предмет и циљ истраживања докторске дисертације и дат је кратак опис садржаја осталих поглавља.

**ОПШТИ ДЕО** се састоји од шест поглавља. Дат је приказ менталних обољења (схизофренија и биполарни поремећај), као и њихових основних карактеристика, класификације и симптома који их карактеришу. Описани су симптоми схизофреније и биполарног поремећаја и изазови који се јављају у дијагностици. Такође, сагледана су досадашња истраживања заснована на примени различитих инструменталних техника у анализи биофлуида оболелих од ових болести са циљем утврђивања потенцијалних биомаркера. У наставку овог поглавља описани су принципи хеометријске анализе и најчешће коришћене статистичке методе (PCA и OPLS-DA).

У **ЕКСПЕРИМЕНТАЛНОМ ДЕЛУ** описани су узорци анализирани у овој докторској дисертацији и њихова припрема за анализе нуклеарно-магнетно резонантног спектроскопијом (НМР) и гасном хроматографијом са масено спектрометријским детектором (ГХМС). Дат је преглед коришћених реагенса, растварача и параметара примењених у инструменталним и статистичким методама.

У **РЕЗУЛТАТИМА И ДИСКУСИЈИ** представљен је оригинални научни допринос ове докторске дисертације. Детаљно су приказани експериментални резултати инструменталне и хеометријске анализе. У оквиру резултата хеометријске анализе дискутовано је о различитим моделима и потенцијалним биомаркерима за раздвајање: (1) схизофреније и контролне групе, (2) биполарног поремећаја и контролне групе и (3) схизофреније и биполарног поремећаја. Приказани су спектроскопски подаци утврђених серумских биомаркера пацијената са подручја Републике Србије и дискутована је универзалност биомаркера и њихов значај у дијагностици наведених болести.

У **ЗАКЉУЧКУ** су сумирани резултати проистекли из ове дисертације. По први пут је утврђено пет потенцијалних биомаркера за разликовање схизофреније и биполарног поремећаја НМР анализом узорака крви оболелих са подручја Републике Србије.

**ЛИТЕРАТУРА** садржи укупно 244 референце наведене по редоследу појављивања у тексту.

Поред наведеног, докторска дисертација садржи и **ПРИЛОГ** у коме су приказани репрезентативни дводимензионални НМР спектри узорака серума пацијената оболелих од схизофреније и биполарног поремећаја, као и контролне групе.

## **Б. Кратак опис постигнутих резултата**

Предмет истраживања ове докторске дисертације је метаболомичко испитивање серума оболелих од схизофреније и биполарног афективног поремећаја. Истраживање обухвата НМР, ГХМС и хеометријску анализу узорака серума оболелих и здравих особа. Хеометријском анализом различитих група утврђени су потенцијални биомаркери значајни за раздвајање група од интереса на основу података добијених НМР експериментима. ГХМС анализом узорака серума оболелих потврђено је 16 биомаркера за схизофренију и 15 за биполарни афективни поремећај, који су претходно утврђени НМР спектроскопијом. Такође дискутовано је о могућности стварања универзалног сета биомаркера ових обољења на основу утврђених биомаркера током овог истраживања и литературних података.

С циљем утврђивања серумских биомаркера пацијената оболелих од схизофреније и биполарног поремећаја применом спектроскопских метода и хеометријске анализе, оптимизоване су методе припреме узорака крви за НМР и ГХМС анализе. Такође, оптимизовани су и аквизициони параметри за различите једнодимензионалне и дводимензионалне НМР експерименте.

НМР анализом серума оболелих од схизофреније утврђено је 26 потенцијалних биомаркера. По први пут су утврђена четири нова серумска биомаркера: аспартат/аспарагинска киселина, лизин, 2-хидроксибутерна киселина и ацилглицерол. Анализом серума оболелих од биполарног поремећаја утврђена су 22 потенцијална биомаркера, од којих је по први пут утврђено шест нових серумских биомаркера: треонин, аспартат,  $\gamma$ -аминобутерна киселина, 2-хидроксибутерена киселина, серин и маноза. Утврђено је и пет потенцијалних биомаркера за разликовање ових обољења и то су  $\gamma$ -аминобутерна киселина, валин, глицерол, маноза и глукоза.

Анализом узорака пацијената са подручја Републике Србије и поређењем сетова биомаркера схизофреније и биполарног поремећаја добијених НМР анализом са већ утврђеним сетовима потенцијалних биомаркера у серуму пацијената бразилског и кинеског географског порекла утврђено је преклапање за 13 биомаркера за схизофренију и 9 биомаркера за биполарни поремећај. Ови сетови представљају основу за универзални сет биомаркера ових обољења.

## **В. Упоредна анализа резултата кандидата са резултатима из литературе**

Схизофренија и биполарни афективни поремећај су широко распрострањена психичка обољења која доводе до значајних функционалних оштећења, инвалидитета, као и преране смрти. Светска здравствена организација процењује да широм света има двадесет милиона оболелих од схизофреније и четрдесет и пет милиона оболелих од биполарног поремећаја. Претпоставља се да су глобални трошкови настали услед поменутих обољења енормни, иако их је тешко проценити због комплексности утицаја који ове болести имају на друштво и економију. Процењује се да само на подручју Сједињених Америчких Држава трошкови износе преко 300 милијарди долара годишње [1].

Тачни узроци схизофреније и биполарног афективног поремећаја још увек нису познати. Претпоставља се да ова обољења могу бити последица комбинације генетских и психолошких фактора, као и утицаја окружења оболелих. Дијагностика ових поремећаја заснована је на клиничкој феноменологији и ограничена је на процену психијатра након стандардног разговора са пацијентом или његовим старатељем, што је временски захтевно и може бити отежано услед заједничких симптома (суманутост и халуцинације) ова два поремећаја. Поред потребе за бољим разумевањем настанка болести, за поузданијом дијагностиком заснованом на биомаркерима у крви или урину оболелих, савремена медицина такође има потребу за персонализованим приступом лечењу пацијената који подразумева оптимизован медицински третман и поуздано праћење деловања терапије [2,3].

Литературни подаци о НМР и масено спектрометријским (МС) метаболомичким и липидомичким [4] анализама узорака крви и урина пацијената оболелих од схизофреније [5,6] и биполарног афективног поремећаја [7,8] указују на могућност примене спектроскопских и спектрометријских метода за идентификацију метаболита у урину и

крви пацијента који би могли бити потенцијални биомаркери ових поремећаја. Метаболомика заснована на НМР спектроскопији, због својих предности као што су једноставна припрема узорака, добра поновљивост и могућност *in vivo* испитивања [9], једна је од најчешће коришћених техника.

У овој докторској дисертацији, кандидаткиња је по први пут урадила НМР метаболомичку анализу серума оболелих од схизофреније и биполарног поремећаја са подручја Републике Србије и утврдила потенцијалне биомаркере за њихово разликовање.

Међутим, како би се успоставио универзални сет биомаркера ових обољења, који би могао имати примену у дијагностици и праћењу дејства медицинске терапије код пацијената, неопходно је испитивање узорака пацијената различитог географског и етничког порекла применом одговарајуће систематичне методологије [10].

Доступни литературни подаци базирани на НМР спектроскопији утврђених биомаркера искоришћени су не само као основа за приказ и поређење резултата, већ и за формирање универзалног сета података. Поређењем идентификованих сетова биомаркера ових обољења добијених анализом српских узорака са већ утврђеним сетовима потенцијалних биомаркера серума бразилског и кинеског географског порекла, утврђено је преклапање 13 биомаркера за схизофренију и 9 биомаркера за биполарни поремећај. Ови резултати могу бити добра основа за креирање универзалног сета биомаркера.

## Литература:

1. Cloutier M., Greene M., Guerin A., Touza., Wu E., “The economic burden of bipolar I disorder in the United States in 2015”, *Journal of Affective Disorders*, 2018, 226, pp. 45-51.
2. Alda M., Manchia M., “Personalized management of bipolar disorder”, *Neuroscience Letters*, 2017, 669, pp 3-9.
3. Bzdok D., Meyer-Lindenberg A., “Machine Learning for Precision Psychiatry: Opportunities and Challenges”, *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*, 2018, 3, pp 233-230.
4. Ribeiro C., Klassen A., Pedrini M., Carvalho M., Sussulini A., “A preliminary study of bipolar disorder type I by mass spectrometry-based serum lipidomics”, *Psychiatry Research*, 2017, 258, pp 268-273.
5. Tasic Lj., Pontes J., Carvalho M., Cruz G., Mas C., Sethi S., Pedrini M., Rizzo L., Zeni-Graiff M., Asevedo E., Lacerda A., Bressan R., Jesus Poppi R., Brietzke E., Hayashi M., “Metabolomics and lipidomics analyses by <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance of schizophrenia patient serum reveal potential peripheral biomarkers for diagnosis”, *Schizophrenia Research*, 2017, 185, pp 182-189.
6. Yang J., Chen T., Sun L., Zhao Z., Qi X., Zhou K., Cao Y., Wang X., Qiu Y., Su M., Zhao A., Wang P., Yang P., Wu J., Feng G., He L., Jia W., Wan C., “Potential metabolite markers of schizophrenia”, *Psychiatry*, 2018, 18, pp 67-78.
7. Lan M., McLoughlin G., Griffin J., Tsang T., Huang J., Yuan P., Manji H., Holmes E., Bahn S., “Metabolomic analysis identifies molecular changes associated with the pathophysiology and drug treatment of bipolar disorder”, *Molecular Psychiatry*, 2018, 14, pp 269-279.
8. Sethi, S., Pedrini, M., Rizzo, L.B., Zeni-Graif, M., Dal Mas, C., Cassinelli, A.C., Noto, M.N., Asevedo, E., Cordeiro, Q., Pontes, J.G.M., Brasil, A.J.M., Lacerda, A., Hayashi, M.A.F., Poppi, R., Tasić, Lj., Brietzke, E., “<sup>1</sup>H-HMP, <sup>1</sup>H-HMP T<sub>2</sub>-edited, and 2D-HMP in bipolar disorder metabolic profiling”, *International Journal of Bipolar Disorders*, 2017, 5 pp 23-32.
9. Stanisić, D., Martins, L.G., Tasic, Lj., *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Analyses of Biological Samples. In Tools and Trends in Bioanalytical Chemistry*, Kubota: Zurich, Switzerland, 2022, pp 203-221.
10. Viant M., Ebbels T., Beger R., Ekman D., Epps D., Kamp H., Leonards P., Loizou G., MacRae J., Van Ravenzwaay B., Rocca-Serra P., Salek R., Walk T., Weber R., “Use cases, best practice and reporting standards for metabolomics in regulatory toxicology”, *Nature Communication*, 2019, 10, pp 3041-3051.
11. Rinschen M., Ivanisevic J., Giera M., Siuzdak G., “Identification of bioactive metabolites using activity metabolomics”, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2019, 20, pp 353-367.

## Г. Објављени радови и саопштења који су део дисертације

Из резултата ове докторске дисертације проистекла су два научна рада у међународном часопису са SCI листе објављена у истакнутом међународним часописима (M22). Поред тога, из резултата ове докторске дисертације проистекла су и четири саопштења, два на научним скуповима од међународног значаја штампана у изводу и два на научним скуповима од националног значаја штампана у изводу.

### Радови објављени у истакнутим међународним часописима (M22):

1. **Simić Katarina**, Todorović Nina, Trifunović Snežana, Miladinović Zoran, Gavrilović Aleksandra, Jovanović Silvana, Avramović Nataša, Gođevac Dejan, Vujisić Ljubodrag, Tešević Vele, Tasić Ljubica, Mandić Boris, NMR Metabolomics in Serum Fingerprinting of Schizophrenia Patients in a Serbian Cohort, *Metabolites*, 2022, 12, 707, <https://doi.org/10.3390/metabo12080707>.
2. **Simić Katarina**, Miladinović Zoran, Todorović Nina, Trifunović Snežana, Gavrilović Aleksandra, Jovanović Silvana, Avramović Nataša, Gođevac Dejan, Vujisić Ljubodrag, Tešević Vele, Tasić Ljubica, Mandić Boris, Metabolomic Profiling of Bipolar Disorder by <sup>1</sup>H-NMR in Serbian Patients, *Metabolites*, 2023, 13, 607, <https://doi.org/10.3390/metabo13050607>.

### Саопштења са међународног скупа штампана у изводу (M34):

1. Avramović Nataša, **Simić Katarina**, Miladinović Zoran, Todorović Nina, Trifunović Snežana, Gavrilović Aleksandra, Jovanović Silvana, Gođevac Dejan, Vujisić Ljubodrag, Tešević Vele, Tasic Ljubica, Mandić Boris, <sup>1</sup>H-NMR-based serum metabolomics of bipolar disorder patients, IAPC-10 Meeting, Belgrade, Serbia, September, 2023, <https://cer.ihtm.bg.ac.rs/handle/123456789/7390>.
2. Avramović Nataša, **Simić Katarina**, Miladinović Zoran, Todorović Nina, Trifunović Snežana, Gavrilović Aleksandra, Jovanović Silvana, Gođevac Dejan, Vujisić Ljubodrag, Tešević Vele, Tasic Ljubica, Mandić Boris, <sup>1</sup>H-NMR metabonomic view on schizophrenia, IAPC-10 Meeting, Belgrade, Serbia, September, 2023, <https://cer.ihtm.bg.ac.rs/handle/123456789/7392>.

#### Саопштења са скупа од националног значаја штампана у изводу (M64):

1. **Simić Katarina**, Todorović Nina, Miladinović Zoran, Ivanović Stefan, Trifunović Snežana, Vujisić Ljubodrag, Tešević Vele, Jovanović Vesna, Avramović Nataša, Gavrilović Aleksandra, Jovanović Silvana, Costa Tassia, Huan Liu Leticia, Barros Pedro, Stanišić Danijela, Mandić Boris, Tasić Ljubica. Evaluation of the universality of NMR metabolic fingerprints of schizophrenia, 21th Annual Central European HMP Symposium & Bruker users meeting, Belgrade, September, 2019, ISSN: 978-86-7220-100-0, <https://cer.ihtm.bg.ac.rs/handle/123456789/7536>.
2. **Simić Katarina**, Ivanović Stefan, Trifunović Snežana, Mandić Boris, *Serum biomarkers of schizophrenia*, 8th Conference of Young Chemists of Serbia, Belgrade, Serbia, October, 2022, ISBN: 978-86-7132-080-1, <https://cer.ihtm.bg.ac.rs/handle/123456789/5552>.

#### Д. Провера оригиналности докторске дисертације

Оригиналност ове докторске дисертације проверена је 18. априла 2024. године на начин прописан Правилником о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду. Помоћу програма *iThenticate* утврђено је да количина подударача текста износи 14%. Овај степен подударности последица је цитата, библиографских података о коришћеној литератури, тзв. општих места и података у вези са темом дисертације, као и да је појединачно највеће подудараче текста са претходно публикованим резултатима истраживања проистеклих из дисертације кандидата, што је у складу са чланом 9. Правилника.

На основу свега изложеног Комисија сматра да је докторска дисертација Катарине З. Симић оригинална, као и да су у потпуности поштована академска правила цитирања, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.



## **Б. Закључак комисије**

На основу прегледа докторске дисертације и свега изложеног у Извештају, може се закључити да је докторска дисертација под насловом „**Метаболомичко испитивање биомаркера у серуму оболелих од шизофреније и биполарног афективног поремећаја**” кандидаткиње, мастер хемичара Катарине Симић, успешно одговорила на све постављене задатке са циљем утврђивања потенцијалних биомаркера у серуму пацијента оболелих од шизофреније и биполарног афективног поремећаја. Истраживања у оквиру ове дисертације су према структури, методологији и обиму урађена и написана у складу са образложењем неведеним у пријави теме, за коју је Веће научних области природних наука Универзитета у Београду, а на захтев Хемијског факултета дало сагласност својом одлуком број 61206-1217/4-21.

Резултати истраживања проистекли из ове докторске дисертације објављени су у два научна рада на којима је кандидаткиња први аутор. Оба рада су објављена у истакнутим међународним часописима (M22). Такође, кандидаткиња је резултате објавила у оквиру четири саопштења (два категорије M34 и два категорије M64), од којих је једно саопштење са скупа од националног значаја штампано у изводу (M64) добило награду за најбоље постерско саопштење.

Комисија сматра да резултати проистекли из ове дисертације дају значајан допринос НМР метаболомичком проучавању серума оболелих од шизофреније и биполарног поремећаја и утврђивању потенцијалних биомаркера за разликовање ових обољења, нарочито због тога што су испитивања серума оболелих са подручја Републике Србије сада рађена по први пут. У ширем смислу, резултати добијени у оквиру ове докторске дисертације значајно ће допринети примени инструменталних техника при утврђивању потенцијалних биомаркера различитих психијатријских обољења и поремећаја.

На основу свега наведеног, а у складу са Законом о високом образовању и Статутом Хемијског факултета, Комисија сматра да су испуњени сви услови за одбрану докторске дисертације и са великим задовољством предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду – Хемијског факултета да поднету докторску дисертацију Катарине З. Симић, под насловом „**Метаболомичко испитивање биомаркера у серуму оболелих од схизофреније и биполарног афективног поремећаја**”, прихвати и одобри њену одбрану за стицање академског звања доктор хемијских наука.

Београд, 23. април 2024.

Комисија:

---

др Снежана Трифуновић, научни саветник  
Универзитет у Београду – Хемијски  
факултет

---

др Љубодраг Вујисић, ванредни професор  
Универзитет у Београду – Хемијски  
факултет

---

др Гордана Крстић, доцент  
Универзитет у Београду – Хемијски факултет

---

др Милка Јадранин, научни саветник  
Универзитет у Београду – Институт за хемију,  
технологију и металургију – Институт од  
националног значаја за Републику Србију

---

др Чедо Миљевић, доцент  
Универзитет у Београду – Медицински  
факултет