

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Vesna R. Šobot

**POVEZANOST POLIMORFIZAMA  
GLUTATION TRANSFERAZA KLASE MI,  
OMEGA, PI I TETA SA RIZIKOM ZA  
NASTANAK PRIMARNOG GLAUKOMA  
OTVORENOG UGLA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2024.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Vesna R. Šobot

**ASSOCIATION OF GLUTATHIONE  
TRANSFERASE MU, OMEGA, PI AND THETA  
POLYMORPHISMS WITH PRIMARY OPEN  
ANGLE GLAUCOMA**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2024

**MENTOR 1:**

Prof. dr Tatjana Đukić, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

**MENTOR 2:**

Prof. dr Miroslav Stamenković, vanredni profesor Fakulteta za specijalnu edukaciju i rehabilitaciju Univerziteta u Beogradu

**ČLANOVI KOMISIJE:**

1. Prof. dr Tatjana Simić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, predsednik komisije
2. Prof. dr Ana Savić Radojević, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Doc. dr Igor Kovačević, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
4. Doc. dr Dejan Rašić, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
5. Prof. dr Jasmina Đorđević-Jocić, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu

Datum odbrane:

*Zahvaljujem prof. dr Tatjani Simić na ukazanom poverenju i pruženoj prilici da svoje istraživanje obavim u okviru istraživačkog tima pod njenim rukovodstvom na Institutu za medicinsku i kliničku biohemiju.*

*Posebnu zahvalnost dugujem svom mentoru, prof. dr Tatjani Đukić na bezrezervnom poverenju, uloženom trudu, neizmernoj podršci i strpljenju tokom svih faza izrade ove doktorske disertacije.*

*Izražavam zahvalnost komentoru, prof. dr Miroslavu Stamenkoviću na stručnoj podršci i korisnim savetima tokom rada na doktorskoj disertaciji.*

*Zahvaljujem prof. dr Ani Savić-Radojević na razumevanju, uloženom vremenu i konstruktivnim savetima tokom realizacije ove doktorske teze.*

*Želela bih da zahvalim članovima komisije, prof. dr Tatjani Simić, prof. dr Ani Savić Radojević, prof. dr Jasmini Đorđević-Jocić, doc. dr Igoru Kovačeviću i doc. dr Dejanu Rašiću na korisnim sugestijama koje su doprinele kvalitetu disertacije.*

*Veliku zahvalnost izražavam najbližim saradnicima, kolegama, sestrama i tehničarima Klinike za očne bolesti, UKCS, kao i članovima kolektiva Klinike za očne bolesti KBC Zvezdara.*

*Zahvaljujem se svim nastavnicima, saradnicima i laborantima sa Instituta za medicinsku i kliničku biohemiju na pomoći tokom realizacije ovog istraživanja.*

*Posebnu zahvalnost upućujem svojoj porodici i prijateljima na podršci i razumevanju.*

*Takođe, zahvaljujem se koautorima radova koji su proizašli kao rezultat istraživanja u okviru ove doktorske teze jer su učestvovali u:*

- 1. Kreiranju koncepta teze: prof. dr Tatjana Đukić, prof. dr Miroslav Stamenković, prof. dr Ana Savić Radojević, prof. dr Tatjana Simić*
- 2. Prikupljanju podataka: dr Ivan Senčanić, dr Siniša Babović, dr Jovan Milić*
- 3. Formalnoj analizi: dr Milica Đokić*
- 4. Istraživanju: prof. dr Vesna Jakšić, prof. dr Marija Božić, doc. dr Aleksandra Radosavljević, doc. dr Sonja Šuvakov, asist. dr Đurđa Jerotić,*
- 5. Metodologiji: Prof. dr Tatjana Đukić, prof. dr Miroslav Stamenković, prof. dr Marija Matić, prof. dr Marija Plješa Ercegovac*
- 6. Superviziji: Prof. dr Tatjana Simić, prof. dr Miroslav Stamenković, prof. dr Ana Savić Radojević*
- 7. Pisanju – originalni nacrt: Prof. dr Tatjana Đukić, prof. dr Miroslav Stamenković*
- 8. Pisanju – recenzija i uređivanje: prof. dr Ana Savić Radojević, prof. dr Miroslav Stamenković, prof. dr Tatjana Đukić*

# POVEZANOST POLIMORFIZAMA GLUTATION TRANSFERAZA KLASE MI, OMEGA, PI I TETA SA RIZIKOM ZA NASTANAK PRIMARNOG GLAUKOMA OTVORENOG UGLA

## SAŽETAK

**Cilj:** Cilj ovog rada je bio da se utvrdi uticaj genskih polimorfizama glutation transferaza *GSTM1*, *GSTP1* (rs1695 i rs1138272), *GSTO1* (rs 4925), *GSTO2* (rs156697) i *GSTT1* kao i uticaj genskih polimorfizama glutation peroksidaze, *GPX1* (rs1050450) i superoksid dizmutaze, *SOD2* (rs4880) na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla (POAG). Dodatno, ispitivan je i udruženi efekat navedenih polimorfizama na rizik za razvoj POAG-a.

**Pacijenti i metode:** U istraživanje su bila uključena 102 ispitanika obolela od POAG-a dok se kontrolna grupa sastojala od 302 ispitanika odgovarajućeg pola i starosti. Polimorfizmi *GSTM1* i *GSTT1* su određivani po modifikovanoj multipleks PCR metodi dok su polimorfizmi *GSTP1* (rs1695 i rs1138272), *GSTO1* (rs 4925), *GSTO2* (rs156697), kao i *GPX1* rs1050450 i *SOD2* rs4880 određivani kvantitativnom reakcijom lančanog umnožavanja (qPCR). Statistička značajnost razlike između grupe bolesnika sa glaukomom i kontrolne grupe je ispitivana Studentovim t-testom za kontinuirane varijable sa normalnom raspodelom, dok je  $\chi^2$  test upotrebljen za kategorijalne varijable. Univarijantna logistička regresiona analiza je korišćena za procenu postojanja statistički značajne razlike učestalosti pojedinih genotipova u studijskoj i kontrolnoj grupi.

**Rezultati:** Nosioi *GSTT1* aktivnog genotipa su imali statistički značajan veći rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla (OR=1,92, 95%CI=1,02-3,64, p=0,044), a u kombinaciji sa *GSTM1* nultim genotipom rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla je bio dvostruko veći (OR=4,36, 95%CI=1,21-15,65, p=0,024). Nije pokazana statistički značajna povezanost između polimorfizama *GSTO1* gena kao ni polimorfizama *GSTO2* gena sa obolevanjem od primarnog glaukoma otvorenog ugla, iako su nosioi *GSTO2*\*GG genotipa imali dvostruko veći rizik za nastanak POAG-a (OR=2,15; 95%CI=0,92-5,04; p=0,077). S druge strane, homozigotni nosioi varijantnih oblika oba gena (*GSTO1*\*AA/*GSTO2*\*GG) imali su statistički značajno povećan rizik za obolevanje od primarnog glaukoma otvorenog ugla (OR=8,21, 95%CI=2,17-31,04, p=0,002). Što se pojedinačnog *GPX1* polimorfizma tiče, nije uočena statistički značajna povezanost ovog polimorfizma i rizika za nastanak POAG-a iako su nosioi *GPX1*\*TT genotipa imali 2,2 puta veći rizik za razvoj glaukomske neuropatije od pojedinaca kojima je potvrđen *GPX1*\*CC genotip (OR=2,20, 95%CI=0,88-5,54, p=0,093). Rezultati studije su pokazali da su heterozigotni nosioi *SOD2*\*TC polimorfizma imali više nego dvostruko veći rizik za nastanak POAG-a u odnosu na homozigotne nosioce referentnog *SOD2*\*CC (OR=2,11, 95%CI=1,09-4,09, p=0,026). Takođe, istovremeni nosioi varijantnog *GPX1*\*TT i referentnog *SOD2*\*CC su bili pod značajno većim rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla (OR=6,66, 95%CI=1,75-25,36, p=0,005).

**Zaključci:** Rezultati su pokazali da istovremeno prisustvo varijantnih alela *GSTO1* i *GSTO2* statistički značajno povećava rizik za razvoj POAG-a. Pored toga, pokazan je modulirajući efekat *GSTT1* aktivnog genotipa, pojedinačno i u kombinaciji sa *GSTM1* nultim genotipom na oboljevanje od glaukoma. Heterozigotni nosioi varijantnog *SOD2*\*TC genotipa su imali dvostruko veći rizik za nastanak POAG-a u odnosu na homozigotne nosioce referentnog *SOD2*\*CC genotipa. Takođe, udruženi efekat varijantnog *GPX1*\*TT i referentnog *SOD2*\*CC genotipa je značajno modulirao rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.

**Ključne reči:** primarni glaukom otvorenog ugla, glutation transferaze, glutation peroksidaza 1, superoksid dizmutaza 2, oksidativni stres

**Naučna oblast:** Medicina

**Uža naučna oblast:** Biologija tumora i oksidativna oboljenja

**UDK Br:**

# ASSOCIATION OF GLUTATHIONE TRANSFERASE MU, OMEGA, PI AND THETA POLYMORPHISMS WITH PRIMARY OPEN ANGLE GLAUCOMA

## ABSTRACT

**Aim:** The aim of this study was to determine the association of genetic polymorphisms of glutathione transferases *GSTM1*, *GSTP1* (rs1695 and rs1138272), *GSTO1* (rs4925), *GSTO2* (rs156697), *GSTT1*, as well as genetic polymorphisms of glutathione peroxidase, *GPX1* (rs1050450) and superoxide dismutase, *SOD2* (rs4880) on POAG risk. Additionally, the combined effect of these polymorphisms on the risk of POAG development was evaluated.

**Patients and methods:** Single nucleotide polymorphisms in *GSTO1* (rs4925), *GSTO2* (rs156697), *GSTP1* (rs1695 and rs1138272), *GPX1* (rs1050450) and *SOD2* (rs4880) were determined by quantitative polymerase chain reaction (qPCR) in 102 POAG patients and 302 respective controls. Genotyping of *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms was carried out by modified multiplex polymerase chain reaction method. The statistical significance of the difference between the study group and the control group was tested using Student's t-test for continuous variables with a normal distribution, while the  $\chi^2$  test was used for categorical variables. Univariate logistic regression analysis was used to assess the risk of primary open angle glaucoma development.

**Results:** Carriers of the *GSTT1* active genotype had a significantly increased risk of developing primary open-angle glaucoma (OR=1.92, 95% CI=1.02-3.64, p=0.044), and in combination with the *GSTM1* null genotype, the risk of developing primary open-angle glaucoma was doubled (OR=4.36, 95% CI=1.21-15.65, p=0.024). No association was found between *GSTO1* gene polymorphism and POAG. As for *GSTO2* gene polymorphisms, carriers of the *GSTO2*\*GG genotype had twice the risk of developing POAG (OR=2.15; 95% CI=0.92-5.04; p=0.077) but without statistical significance. The risk to develop POAG was more pronounced in individuals with both *GSTO1* and *GSTO2* variant genotypes (*GSTO1*\*AA/*GSTO2*\*GG) (OR=8.21, 95% CI=2.17-31.04, p=0.002). No association was found regarding *GPX1* gene polymorphism and the susceptibility to POAG, although carriers of the *GPX1*\*TT genotype had a 2.2 times higher risk of developing glaucomatous neuropathy than individuals with confirmed *GPX1*\*CC genotype (OR=2.20, 95% CI=0.88-5.54, p=0.093). As for *SOD2* polymorphism, heterozygous carriers of the variant *SOD2*\*TC had more than twice the risk of developing POAG compared to homozygous carriers of the reference *SOD2*\*CC genotype (OR=2.11, 95% CI=1.09-4.09, p=0.026). Additionally, carriers of the variant *GPX1*\*TT and reference *SOD2*\*CC genotype were at significantly increased risk of developing primary open-angle glaucoma (OR=6.66, 95% CI=1.75-25.36, p=0.005).

**Conclusion:** The results obtained indicate that *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTO1*, *GSTO2*, *GPX1* and *SOD2*, individually and in combination, are associated with increased risk of POAG.

**Key words:** primary open angle glaucoma, glutathione, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTO1*, *GSTO2*, *GPX1*, *SOD2*, oxidative stress

**Research area:** Medicine

**Research field:** Tumor biology and oxidative diseases

**UDK Nr:**



## SADRŽAJ

1	UVOD.....	1
1.1	Glaukom.....	2
1.2	Primarni glaukom otvorenog ugla.....	4
1.2.1	Epidemiologija.....	4
1.2.2	Etiologija i faktori rizika za nastanak glaukoma.....	5
1.2.3	Patofiziologija nastanka glaukoma.....	9
1.3	Glutation transferaze.....	19
1.3.1	Glutation transferaza M1.....	22
1.3.2	Glutation transferaze O1 i O2.....	24
1.3.3	Glutation transferaza P1.....	27
1.3.4	Glutation transferaza T1.....	29
1.4	Superoksid dizmutaza 2.....	30
1.4.1	Hromozomska lokalizacija gena i organizacija.....	31
1.5	Glutation peroksidaza 1.....	33
1.5.2	Proteinska struktura i funkcija GPX1.....	35
2	CILJEVI.....	37
3	PACIJENTI I METODE.....	39
3.1	Vrsta studije.....	40
3.2	Ispitanici.....	40
3.2.1	Etički kriterijumi.....	40
3.2.2	Anamnestički podaci.....	40
3.2.3	Kriterijumi za uključenje i isključenje.....	40
3.2.4	Klinički pregled.....	41
3.2.5	Uzimanje uzoraka.....	42
3.3	Određivanje <i>GSTM1</i> i <i>GSTT1</i> polimorfizama.....	42
3.4	Određivanje <i>GSTO1</i> polimorfizma.....	43
3.5	Određivanje <i>GSTO2</i> polimorfizma.....	43
3.6	Određivanje <i>GSTP1</i> polimorfizma.....	44
3.7	Određivanje <i>GPX1</i> polimorfizma.....	44
3.8	Određivanje <i>SOD2</i> polimorfizma.....	45
3.9	Statistička analiza.....	45
4	REZULTATI.....	46
4.1	Demografske i kliničke karakteristike pacijenata sa primarnim glaukomom otvorenog ugla i kontrola.....	47
4.2	Povezanost <i>GSTM1</i> i <i>GSTT1</i> gena sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.....	50
4.3	Povezanost polimorfizama <i>GSTO1</i> i <i>GSTO2</i> gena sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.....	50

4.4	Povezanost polimorfizma <i>GSTP1</i> gena sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla gena.....	51
4.5	Povezanost polimorfizama <i>GPXI</i> i <i>SOD2</i> gena sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.....	52
4.6	Udruženi efekat <i>GSTT1</i> i <i>GSTM1</i> genskih polimorfizama na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.....	53
4.7	Udruženi efekat <i>GSTO1</i> i <i>GSTO2</i> genskih polimorfizama na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.....	54
4.8	Udruženi efekat <i>GPXI</i> i <i>SOD2</i> genskih polimorfizama na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.....	55
	Tabela 9. Udruženi efekat <i>GPXI/SOD2</i> genskih polimorfizama na rizik za nastanak POAG-a...	55
5	DISKUSIJA .....	56
6	ZAKLJUČCI.....	62
7	LITERATURA.....	64
	SPISAK SKRAĆENICA .....	1
	Spisak objavljenih radova proizašlih kao rezultat istraživanja u okviru izrade doktorske teze:.....	2
	Biografija .....	3
	Izjava o autorstvu .....	4
	Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada .....	5
	Izjava o korišćenju .....	6

## **1 UVOD**

## 1.1 Glaukom

Glaukom obuhvata heterogenu grupu optičkih neuropatija koje karakteriše tipično strukturno oštećenje ganglijskih ćelija mrežnjače i njihovih vlakana praćeno odgovarajućim funkcionalnim ispadima u vidnom polju (Jonas i sar, 2017, Weinreb i sar, 2004).

Klasifikacija glaukoma prema Evropskom udruženju glaukomatologa, engl. *European Glaucoma Society* (EGS) (EGS, 2020):

### I. Glaukom kod dece:

Predstavlja retko oboljenje koje često za posledicu ima ozbiljno oštećenje vida i značajan uticaj na kvalitet života, kao i na dalji razvoj deteta. Obuhvata nekoliko kliničkih modaliteta:

- Primarni kongenitalni glaukom nastaje kao posledica disgeneze komornog ugla, a manifestuje se odmah po rođenju ili tokom sledećih nekoliko meseci. Neke od glavnih kliničkih karakteristika su: povećanje intraokularnog pritiska (IOP), uvećanje očne jabučice (buftalmus), zamućenje rožnjače uz prisutne pukotine Descemetove membrane – Haabove strije, a dominantni rani simptomi su fotofobija i suzenje.
- Kasni dečji glaukom otvorenog ugla se javlja u periodu od druge godine života do puberteta, označava se i kao rani juvenilni glaukom. Za razliku od primarnog kongenitalnog glaukoma kod ovog oblika uglavnom ne dolazi do uvećanja očne jabučice.
- Sekundarni dečji glaukom

Lečenje svih oblika glaukoma u pedijatrijskoj populaciji je zahtevno i u većini slučajeva je neophodan hirurški tretman, a sam ishod lečenja u velikoj meri zavisi od pravovremene dijagnoze.

### I. Glaukom otvorenog ugla, engl. *Open Angle Glaucoma* (OAG) (Slika 1a),

### II. Glaukom zbog zatvaranja ugla, engl. *Angle Closure Glaucoma* (ACG) (Slika 1b).



Slika 1. a) Glaukom otvorenog ugla b) Glaukom zbog zatvaranja ugla

Obe forme glaukoma, i glaukom otvorenog ugla i glaukom zbog zatvaranja ugla, se dele na primarni i na sekundarni. Pod primarnim glaukomom se podrazumeva odsustvo bilo kakvog jasnog uzroka oboljenja, dok su kod sekundarnih glaukoma prisutne druge abnormalnosti ili oboljenja oka koja uzrokuju povišenje IOP-a i nastanak oboljenja.

### Primarni glaukom zbog zatvaranja ugla

Glavna karakteristika primarnog glaukoma zbog zatvaranja ugla, engl. *Primary Angle Closure Glaucoma* (PACG) je anatomski zatvoren ugao prednje očne komore, definisan kao iridotrabekularni kontakt više od 180° pri gonioskopiji (EGS, 2020). Opstrukcija eliminacije očne vodice dovodi do porasta IOP-a i nastanka karakterističnih morfoloških i funkcionalnih oštećenja za glaukom. PACG nastaje kao rezultat kombinacije poremećaja u anatomskej strukturi određenih segmenata očne jabučice i fizioloških odgovora izazvanih endogenim ili egzogenim faktorima (Quigley, 2011). Glavni faktori rizika za PACG su kraća aksijalna dužina očne jabučice, anatomska disproporcija prednjeg segmenta oka i plića prednja očna komora. Uz ove značajni su i etnička pripadnost istočno azijskoj populaciji, naročito kineskoj, ženski pol i hipermetropija. Prethodno navedene karakteristike ovog tipa glaukoma omogućavaju identifikaciju osoba sa visokim rizikom za nastanak PACG. Pojedine zemlje sa velikom prevalencijom PACG sprovode skrining programe i omogućavaju preventivni tretman osobama sa visokim rizikom za zatvaranje ugla. Detekcija okludabilnog ugla je ključni element skrininga, a utvrđuje se gonioskopijom koja predstavlja zlatni standard. Na osnovu nalaza dobijenih gonioskopijom izvršena je i glavna klasifikacija PACG:

1. Suspektno primarno zatvaranje ugla – engl. *Primary angle closure suspect* (PACS) koga karakteriše iridotrabekularni kontakt u dva ili više kvadranta, normalan IOP, odsustvo perifernih prednjih sinehija i znakova oštećenja vidnog živca
2. Primarno zatvaranje ugla – engl. *Primary angle closure* (PAC) karakteriše takođe odsustvo glaukomske optičke neuropatije, ali uz prisutan iridotrabekularni kontakt uz povišen IOP i/ili periferne sinehija između endotela rožnjače i dužice
3. Primarni glaukom zbog zatvaranja ugla – engl. *Primary angle closure glaucoma* (PACG) gde su jasno prisutni znaci glaukomske optičke neuropatije (GON) kao posledica iridotrabekularnog kontakta i povišenog IOP-a

Kod tri četvrtine slučajeva PACG osnovni mehanizam nastanka predstavlja pupilarni blok, kod koga imamo opstrukciju protoka očne vodice iz zadnje u prednju očnu komoru na nivou zenice, a zatim i okluziju iridokornealnog ugla ispučavanjem korena dužice. Drugi mehanizmi odgovorni za nastanak PACG uključuju prisustvo „plateau iris“ konfiguracije, lentalne i retrolentalne anomalije. Za razliku od primarnog, sekundarni glaukom zbog zatvaranja ugla najčešće nastaje kao posledica uveitisa, neovaskularizacije dužice ili jatrogeno. Iako je klinička slika akutnog napada PACG jedna od najprepoznatljivijih karakteristika ovog tipa glaukoma, mnoge studije su pokazale da je tok bolesti PACG dominantno asimptomatski, dok se kod svega 25-40% obolelih ispoljava akutno (Weinreb i sar, 2014).

### Glaukom otvorenog ugla

Za razliku od primarnog glaukoma otvorenog ugla, sekundarni glaukom otvorenog ugla predstavlja heterogenu grupu oboljenja čija je glavna zajednička karakteristika povišen IOP. Sekundarni glaukom otvorenog ugla nastaje kao posledica drugih okularnih i ekstraokularnih oboljenja, povreda oka, ali može biti i povezan sa kortikosteroidnom terapijom ili drugim hirurškim intervencijama na oku (EGS, 2020). Neki od najčešćih formi sekundarnog glaukoma otvorenog ugla su pseudoeksfolijativni, pigmentni i uveitični. Pseudoeksfolijativni glaukom, poznat i kao kapsularni glaukom karakteriše prekomerno stvaranje i akumulacija pseudoeksfolijativnog fibrilarnog materijala u okularnim i mnogim ekstraokularnim tkivima (Zenkel i sar, 2014). Pojedini oblici sekundarnog glaukoma, među koje spada

i pseudoeksfolijativi glaukom, su rezistentniji na terapiju i lečenje ovih formi glaukoma predstavlja veći izazov u odnosu na primarni glaukom otvorenog ugla (Topouzis i sar, 2008).

## 1.2 Primarni glaukom otvorenog ugla

Najzastupljeniji oblik glaukoma u opštoj populaciji je primarni glaukom otvorenog ugla (engl. *Primary Open Angle Glaucoma* – POAG). POAG je hronično, progresivno, ireverzibilno oboljenje koje dovodi do gubitka neuroretinalnog oboda i istanjenja sloja retinalnih nervnih vlakana (engl. *Retinal Nerve Fiber Layer* – RNFL), kao i posledičnog oštećenja vidnog polja (EGS, 2020). Karakteriše ga otvoren iridokornealni ugao sa uobičajenim izgledom svih struktura, a glavni faktori rizika su IOP i starija životna dob.

U okviru POAG-a, u zavisnosti od visine IOP-a, razlikuju se dve forme oboljenja: primarni glaukom otvorenog ugla sa povišenim pritiskom (engl. *High Tension Glaucoma* – HTG) i primarni glaukom otvorenog ugla sa normalnim pritiskom (engl. *Normal Tension Glaucoma* - NTG). Ranije, NTG se smatrao zasebnim oboljenjem, međutim utvrđeno je da predstavlja samo formu POAG-a i ne izdvaja se kao poseban entitet.

### 1.2.1 Epidemiologija

Glaukom je vodeći uzročnik ireverzibilnog slepila širom sveta (Flaxman i sar, 2017, Jonas i sar, 2017). Iako je katarakta ostala među vodećim uzrocima slepila u starosnim grupama preko 40 godina, glaukom je prijavljen kao drugi vodeći uzrok slepila na globalnom nivou (Foster i sar, 2002).

U prethodnih 20 godina urađen je veliki broj populacionih studija na osnovu kojih je izvršena procena o broju obolelih od glaukoma. Podaci iz ovih studija su pokazali da veliki broj slučajeva glaukoma ostaje neotkriven, a samim tim i nelečen. Upravo se ova činjenica smatra jednim od glavnih razloga visokog stepena slepila kao posledice glaukoma. U razvijenim delovima sveta procenat neotkrivenog glaukoma iznosi oko 50% (Heijl i sar, 2013). Međutim, u nerazvijenim zemljama, u kojima je zdravstvena zaštita manje dostupna stanovništvu, taj broj se približava 90% (Budenz i sar, 2013, Rotchford i sar, 2003). Shodno ovim podacima, rizik od slepila uzrokovanog glaukomom je značajno veći u ovim regionima. U Evropi i Severnoj Americi, regionima koji se karakterišu boljim zdravstvenim sistemom i boljom zdravstvenom prosvetenošću, uzrocima kasnog i nedovoljnog otkrivanja obolelih smatra se odsustvo subjektivnih simptoma u ranoj fazi bolesti, kao i nepostojanje adekvatnog skrining testa.

Na osnovu podataka iz studije Tham-a i sar. procenjeno je da je 2020. godine ukupan broj obolelih od glaukoma u svetu iznosio 76,02 miliona, a da će za 20 godina od tada taj broj iznositi više od 111 miliona (Tham i sar, 2014). U ovoj studiji, kao i u drugim velikim epidemiološkim ispitivanjima, najviše je zastupljen primarni glaukom otvorenog ugla (Kapetanakis i sar, 2016, Tham i sar, 2014, Zhang i sar, 2021). Zhang i sar. su pokazali da je prevalencija POAG-a u populaciji starijoj od 40 godina 2,4% (95% CI 2.0% ~ 2.8%), a da ukupan broj obolelih u svetu iznosi 68,56 miliona (Zhang i sar, 2021). Epidemiološki podaci jasno pokazuju da glaukom pogađa sve populacije, ali su prisutne značajne varijacije između određenih zemalja i regiona. U istraživanju Zhanga i sar. najveća prevalencija POAG-a je zabeležena u Africi, 4,0% (95% CI 2.6 % ~ 6.1%), dok je najveći ukupan broj obolelih zabeležen u Aziji, koji iznosi 36,89 miliona (Zhang i sar, 2021). Azija je najnaseljeniji kontinent, koji čini više od 60% svetske populacije i zbog toga bez obzira na manju procenjenu prevalenciju POAG-a, apsolutni broj obolelih je najveći.

S obzirom da u Srbiji ne postoji zvaničan registar obolelih od glaukoma, precizni podaci o broju novoobolelih i ukupnom broju obolelih nisu poznati, međutim uzimajući u obzir globalnu stopu prevalencije i broj stanovnika, procenjuje se da se ukupan broj obolelih kreće između 60 000 i 100 000.

## 1.2.2 Etiologija i faktori rizika za nastanak glaukoma

Etiopatogeneza primarnog glaukoma otvorenog ugla je i dalje nedovoljno razjašnjena. Smatra se da je glaukom multifaktorijalno oboljenje, odnosno da nastaje sadejstvom genetskih, lokalnih i sistemskih faktora. Svi ovi faktori koji su prepoznati da utiču na nastanak oboljenja označavaju se kao faktori rizika, od kojih je povišen intraokularni pritisak najznačajniji (Gordon i sar, 2002).

Najveći značaj identifikacije faktora rizika je u pravovremenom prepoznavanju osoba sa povećanim rizikom od nastanka i progresije glaukomatoznog oštećenja vidnog živca i simptomatskog gubitka vida koji može značajno da utiče na kvalitet života pojedinca. Adekvatna procena faktora rizika je neophodna u kliničkoj praksi radi određivanja individualnog plana lečenja i praćenja pacijenata.

Faktori rizika za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla (EGS, 2020):

- Intraokularni pritisak
- Genetski faktori
- Rasa/Etnička pripadnost
- Životna dob
- Kratkovidost (miopija)
- Centralna debljina rožnjače (engl. *Central Corneal Thickness – CCT*)
- Hipotenzija
- Hipertenzija (HTA)
- Diabetes mellitus (DM)
- Opstruktivna „sleep“ apneja
- Migrena
- Raynaud-ov sindrom

U literaturi faktori rizika za glaukom su često navođeni bez jasne odrednice da li predstavljaju faktore rizika za nastanak ili progresiju oboljenja. Navedene faktore rizika: starost, IOP, CCT i hemoragije na disku, Evropsko udruženje glaukomatologa, u poslednjem izdanju vodiča za kliničku praksu izdvaja u posebnu grupu faktora rizika značajnih za progresiju oboljenja (EGS, 2020). Različiti uticaj ovih faktora je utvrđen na osnovu rezultata randomizovanih studija (Anderson, 2003, Leske i sar, 2003, Musch i sar, 2009, Nouri-Mahdavi i sar, 2004).

### 1.2.2.1 Intraokularni pritisak

Pojedine faktore je moguće identifikovati na osnovu anamnestičkih podataka, dok je za druge, kao što su IOP i CCT neophodno obaviti klinički pregled. Takođe, nemaju svi faktori rizika isti značaj. Intraokularni pritisak, pored toga što se uz starost smatra jednim od faktora rizika sa najvećim uticajem na nastanak i progresiju glaukoma, predstavlja i jedini faktor koji je moguće modifikovati i suština lečenja glaukoma se svodi na snižavanje IOP-a.

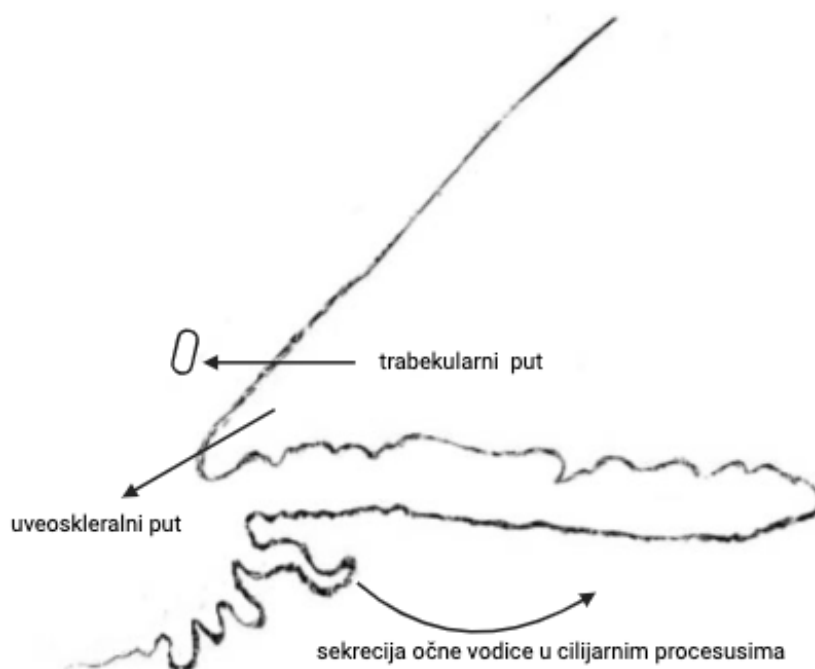
IOP je regulisan balansom između sekrecije i drenaže očne vodice (Brubaker, 1991). Očna vodica se proizvodi na nivou dvoslojnog epitela cilijarnih procesusa brzinom od 2,2-2,9  $\mu\text{L}/\text{min}$ , a sekrecija se smanjuje sa godinama (Brubaker, 1991). U fiziološkim uslovima homeostatski mehanizmi održavaju ravnotežu između sekrecije i oticanja očne vodice. Protok očne vodice je relativno konstantan sa manjim fiziološkim dnevnim varijacijama. Kod zdravih odraslih ljudi protok očne vodice je najveći u jutarnjim časovima, dok je minimalan protok zabeležen tokom noći. Brojne studije su pokazale da postoje normalne varijacije i spontane fluktuacije vrednosti IOP-a tokom kraćeg ili dužeg vremena. Fluktuacije IOP-a možemo podeliti na ultra kratke (koje nastaju tokom nekoliko sekundi ili minuta), kratkotrajne (prisutne tokom nekoliko sati ili dana) i dugotrajne (koje se dešavaju tokom meseci ili godina). Trenutno ne postoji metoda za kontinuirano merenje IOP-a pogodna za korišćenje u redovnoj kliničkoj praksi, međutim važno je imati u vidu postojanje ovih fluktuacija tokom praćenja pacijenata.

Najverovatniji uzroci varijacija vrednosti IOP-a su promene u dinamici produkcije očne vodice, visina episklernalnog venskog pritiska i otpor na nivou trabekuluma.

Postoje dva drenažna puta očne vodice, *konvencionalni ili trabekularni* i *nekonvencionalni ili uveoskleralni put*.

Konvencionalnim putem, očna vodica iz zadnje komore, gde nastaje, prolazi kroz pupilarni otvor u prednju komoru, a zatim kroz trabekulum ulazi u Šlemov kanal odakle kolektorskim sistemom i akvoznim venama odlazi u episklernalni venski sistem, a zatim u orbitalne vene i intrakranijalni kavernozi venski sistem.

Uveoskleralnim odvodnim putem, očna vodica kroz cilijarno telo izlazi iz prednje očne komore i odlazi u supracilijarni i suprahoroidalni prostor, a zatim kroz skleru u ekstraokularna tkiva. Smatra se da je konvencionalni put odvođenja očne vodice dominantan i da iznosi 90% (Fautsch i sar, 2006) ukupne drenaže, međutim pojedina istraživanja su pokazala da je značaj uveoskleralnog puta veći nego što se mislilo i da može da iznosi i 25-57% ukupnog protoka očne vodice (Toris i sar, 1999). Za razliku od konvencionalnog puta, uveoskleralni put je nezavisan od pritiska. Posebno veliki značaj u drenaži očne vodice uveoskleralni put ima u uslovima inflamacije okularnih struktura, jer ga dodatno stimulišu određeni prostaglandini (Toris i sar, 1993). Upravo na ovoj činjenici se bazira i upotreba analoga prostaglandina u lečenju glaukoma (Weinreb, 2002).



**Slika 2.** Fiziološki putevi drenaže očne vodice. Adaptirano iz: Weinreb, 2004.

Osnovni uzrok povišenja IOP-a kod glaukoma otvorenog ugla je povećanje otpora u zidu komornog ugla (Hughes i sar, 2003). Utvrđeno je da je mesto najvećeg otpora jukstakanalikularno vezivno tkivo, odnosno deo trabekuluma koji je u kontaktu sa unutrašnjim zidom Šlemovog kanala (Braunger i sar, 2015). Takođe, pokazano je da pušenje cigareta, hiperholesterolemija, dijabetes melitus i gojaznost putem svog uticaja na razvoj arterioskleroze, posredno utiču i na povećanje IOP-a (Wójcik-Gryciuk i sar, 2016). Normalne vrednosti intraokularnog pritiska iznose od 10 do 21 mmHg, odnosno kreću se u opsegu od 2 do 3 standardne devijacije iznad i ispod prosečne vrednosti. Istorijski gledano, duži vremenski period, povišen IOP iznad 21 mmHg, je smatran osnovnim uzrokom nastanka glaukoma.



Međutim, vremenom je utvrđeno postojanje glaukomne optičke neuropatije kod 30-40% osoba sa vrednostima IOP koje se kreću u normalnom opsegu. U kliničkoj praksi, iako se ovaj tip glaukoma često označava kao normotenzivni glaukom, on ne predstavlja odvojen entitet, nego se smatra podvrstom POAG-a. U istočno-azijskim zemljama, Japanu i Koreji, NTG je dominantan tip glaukoma, sa učestalošću od 92%, odnosno 77% (Iwase i sar, 2004; Kim i sar, 2011).

Takođe, postojanje okularne hipertenzije (OHT), kao zasebnog kliničkog entiteta, dodatno ukazuje na to da su i drugi faktori značajni za formiranje glaukomske optičke neuropatije, kao glavnog patološkog supstrata i obeležja primarnog glaukoma otvorenog ugla. Rezultati multicentrične, kliničke radomizovane studije (engl. *Ocular Hypertension Treatment Study – OHTS*) su pokazali da kod 90% ispitanika sa vrednostima intraokularnog pritiska iznad 21mmHg tokom perioda praćenja od 5 godina nije došlo do razvoja strukturnih ni funkcionalnih oštećenja karakterističnih za glaukom, a da je za period praćenja od 13 godina samo kod 22% ispitanika postavljena dijagnoza glaukoma (Gordon i sar, 2002; Kass i sar, 2002).

### 1.2.2.2 Genetski faktori

Genetska predispozicija za glaukom je davno primećena u određenim porodicama. Poznata je činjenica da je stepen rizika za nastanak glaukoma kod rođaka prvog stepena obolelih od glaukoma desetstruko veći u odnosu na rizik u opštoj populaciji koji se procenjuje na 2,3% (Wolfs i sar, 1998). Identifikovan je veliki broj gena i hromozomskih lokusa koji se povezuju sa nastankom glaukoma (Liu i sar, 2011). Sada je jasno da glaukom ima široku genetsku heterogenost i da različiti geni i genetske varijante izazivaju različite tipove glaukoma. Preko 20 hromozomskih lokusa je povezano sa nastankom POAG-a. Među ovim lokusima, mutacije tri gena (miocilin - MIOC, optineurin – OPTN i WDR 36) uzrokuju glaukom. Međutim, pokazano je da su ove mutacije odgovorne za nastanak samo 5-6% POAG. Miocilin je bio prvi gen identifikovan za POAG, a nalazi se na hromozomu 1k25, što odgovara lokusu GLC1A (Hewitt i sar, 2008). Mutacije u miocilin genu uzrokuju autozomno dominantni oblik bolesti, kao i juvenilni ili ranoodrasli oblik POAG koji je povezan sa visokim intraokularnim pritiskom POAG (Hewitt i sar, 2008). Njegov proteinski proizvod, miocilin, ranije je takođe bio poznat kao protein inducibilnog glukokortikoidnog odgovora trabekularne mreže (engl. *Trabecular Meshwork Inducible-Glucocorticoid Response Protein - TIGR*). MIOC gen se sastoji od tri egzona, a većina mutacija povezanih sa glaukomom nalazi se u trećem egzonu (Fingert i sar, 2002). Miocilin se, pored oka, nalazi i u većini tkiva u telu.

Optineurin je drugi otkriven gen u kojem su varijacije povezane sa autozomno dominantnim oblikom primarnog glaukoma otvorenog ugla (Swarup i sar, 2018). Ovaj oblik glaukoma se javlja u srednjem životnom dobu i često je povezan sa normotenzivnim glaukomom (Swarup i sar, 2018). Nalazi se na hromozomu 10p14 koji odgovara lokusu GLC1E. Optineurin se nalazi u trabekulumu, nepigmentnom epitelu cilijarnog tela, retini i brojnim drugim ekstraokularnim tkivima.

Treći otkriveni gen povezan sa primarnim glaukomom otvorenog ugla je WDR36 (Monemi i sar, 2005). Nalazi se na hromozomu 5q22.1 u GLC1G lokusu. Produkti ovog gena pronađeni su u različitim tkivima tela uključujući srce, placentu, jetru i bubrege, kao i u svim strukturama oka (Monemi i sar, 2005). Povezanost genetskih faktora sa primarnim glaukomom otvorenog ugla je izučavana i u mnogim studijama asocijacije u celokupnom genomu (engl. *Genom-wide association studies – GWAS*) (Bailey i sar, 2016; Bonnemaijer i sar, 2018; Liu i sar, 2011; Shiga i sar, 2018; Wiggs i sar, 2017; Youngblood i sar, 2019).

Gharahkhani i sar. su identifikovali 44 do tada nepoznatih genetskih lokusa povezanih sa POAG od ukupno detektovanih 127 lokusa u velikoj multietničkoj meta analizi (Gharahkhani i sar, 2021). Ipak, genetska mapa primarnog glaukoma otvorenog ugla je još uvek nepotpuna i potrebna je identifikacija dodatnih rizičnih lokusa, kao i dodatno razjašnjenje patofizioloških mehanizama kako bi se dijagnoza i lečenje glaukoma unapredilo.

### 1.2.2.3 Rasa/Etnička pripadnost

Prethodna istraživanja su pokazala statistički značajnu veću prevalenciju primarnog glaukoma otvorenog ugla, kao i pojavu u ranijem životnom dobu, u populacijama afričko i latino-američkog porekla u odnosu na pripadnike bele rase (Tham i sar, 2014). I dalje nisu poznati patofiziološki mehanizmi koji bi bili odgovorni za opisane razlike između pripadnika različitih etničkih grupa. Na osnovu dosadašnjih istraživanja smatra se da su za ove varijacije odgovorni genetski faktori u sadejstvu sa uticajima okoline. Nekoliko GWAS studija, koje su uključivale ispitanike afričke i latino-američke populacije, je identifikovalo multiple genetske varijante povezane sa povećanim rizikom za razvoj glaukoma (Collins i sar, 2018; Nannini i sar, 2018). Takođe, Siegfried i sar. u svom istraživanju su pokazali da je u populaciji afričko-američkog porekla prisutna veća koncentracija molekuskog kiseonika u prednjoj očnoj komori i potencijalno veća podložnost oštećenjima usled oksidativnog stresa i može se pretpostaviti da predstavlja jedan od razloga za veću učestalost POAG-a u ovoj populaciji u odnosu na pripadnike bele rase (Siegfried i sar, 2011). Različita prevalencija nije karakteristična samo za POAG. Naime, mnoge studije su utvrdile i različitu učestalost PACG, sa dominantno najvećom prevalencijom u azijskoj populaciji (Tham i sar, 2014).

### 1.2.2.4 Hipertenzija, hipotenzija i diabetes mellitus

Mnoge studije su pokazale da postoji značajna povezanost promena i oboljenja kardiovaskularnog sistema, naročito arterijske hipertenzije i hipotenzije, sa nastankom glaukoma. Međutim, i dalje nisu potpuno razjašnjeni svi mehanizmi na osnovu kojih promene vrednosti krvnog pritiska utiču na nastanak glaukoma. Naime, u određenim istraživanjima povišen krvni pritisak je označen kao faktor rizika za nastanak POAG, dok su druge studije pokazale da sistemska hipotenzija povećava rizik za razvoj glaukoma (Bae i sar, 2014; De Moraes i sar, 2018; Mitchell i s, 1996; Skrzypecki i sar, 2019; Zhao i sar, 2014). Patofiziološka osnova koja povezuje ove parametre sa nastankom glaukoma je smanjena perfuzija glave vidnog živca i posledična ishemička oštećenja (Leske, 2009). Perfuzioni pritisak predstavlja razliku u pritiscima između arterijske i venske cirkulacije. S obzirom na to da je u oku venski pritisak približno jednak IOP-u, okularni perfuzioni pritisak (OPP) predstavlja razliku između arterijskog krvnog pritiska i IOP-a (Costa i sar, 2014). Međutim, krvotok u oku ne zavisi samo od OPP, već podleže i sistemu autoregulacije, koji karakteriše sposobnost promene dijametra i tonusa krvnih sudova što dovodi do promene otpora protoku krvi (Coleman i sar, 2009). Veza između krvnog pritiska, OPP-a i autoregulacije je veoma kompleksna (Costa i sar, 2014). Naime, OPP je redukovan u uslovima sistemske hipotenzije ili povišenog IOP-a što će da dovede do smanjene perfuzije i hipoksičnih oštećenja retinalnih nervnih vlakana ukoliko su autoregulatorni mehanizmi disfunkcionalni (Flammer i sar, 2002). Čak i u uslovima očuvane autoregulacije, snižen OPP smanjuje obim kompenzatornih autoregulatornih mehanizama i povećava osetljivost na ishemiju (Schmidl i sar, 2011). S obzirom na to da je arterijski krvni pritisak komponenta OPP-a, može se pretpostaviti da povišen krvni pritisak dovodi do povećanja okularne perfuzije, međutim zbog dodatnih promena u perifernoj vaskularnoj mreži kod hipertenzije, dominantno vazokonstrikcije i arterioskleroze, povećan je i otpor protoku krvi (Costa i sar, 2014; Ramdas i sar, 2011).

Zhou i sar. u meta-analizi koja je obuhvatila studije slučajeva i kontrola, ali i prospektivne kohortne studije su pokazali da DM dovodi do povećanog rizika od nastanka POAG (Zhou i sar, 2014). Predloženo je nekoliko hipoteza o mogućim patofiziološkim mehanizmima koje objašnjavaju uticaj DM na rizik za razvoj POAG-a. Neke od njih se odnose na uticaj remodelovanja vezivnog tkiva u sastavu trabekuluma i lamine kribroze, odnosno glave vidnog živca, za koja je utvrđeno da su glavna mesta morfoloških promena u sklopu razvoja glaukomske neuropatije (Roberts i sar, 2009). Takođe, kod dijabetičke retinopatije prisutna je disfunkcija vaskularnih endotelnih ćelija i gubitak pericita koji su povezani sa hipoksijom (Song i sar, 2016). Dodatno, značajnu uogu ima i uticaj dugotrajne glikemije i lipidne disregulacije na povećana oštećenja nervnih vlakana (Kong i sar, 2009).

### 1.2.2.5 „Sleep“ apneja, migrena i Raynaud-ov sindrom

Nekoliko većih studija je ispitivalo vezu „sleep“ apneje sa razvojem glaukoma, međutim rezultati tih studija nisu bili saglasni (Bagabas i sar, 2019; Fraser, 2014; Ingold i sar, 2022; Shi i sar, 2015). U meta analizi Cheong i sar. u koju je uključeno 46 studija opstruktivna „sleep“ apneja je bila povezana sa skoro četverostruko većim rizikom za razvoj glaukoma (OR 3,66; 95% IP 1,70-7,90;  $I^2 = 98\%$ ,  $p < 0,01$ ) (Cheong i sar, 2023). Takođe, u ovoj studiji „sleep“ apneja je bila udružena sa ozbiljnijim glaukopskim oštećenjima. „Sleep“ apneju karakteriše snižen krvni protok, kao i snižen okularni perfuzioni pritisak i ishemija vidnog živca koji posledično mogu da dovodu do strukturnih oštećenja i razvoja glaukomske optičke neuropatije (Bilgin, 2014; Fraser, 2014). Imajući u vidu prisutnu ishemiju glave vidnog živca kod osoba sa „sleep“ apnejom, može se očekivati i brža progresija glaukopskih oštećenja obolelih od glaukoma kod kojih je prisutan ovaj respiratorni poremećaj, što je i pokazano u kliničkim studijama (Fan i sar, 2019).

Stanja povezana sa vazospazmom, kao što su migrena i Raynaud-ov sindrom, su takođe značajni faktori rizika za nastanak POAG, i to dominantno normotenzivnog glaukoma (Konieczka i sar, 2017; Xu i sar, 2018; Zhang i sar, 2020).

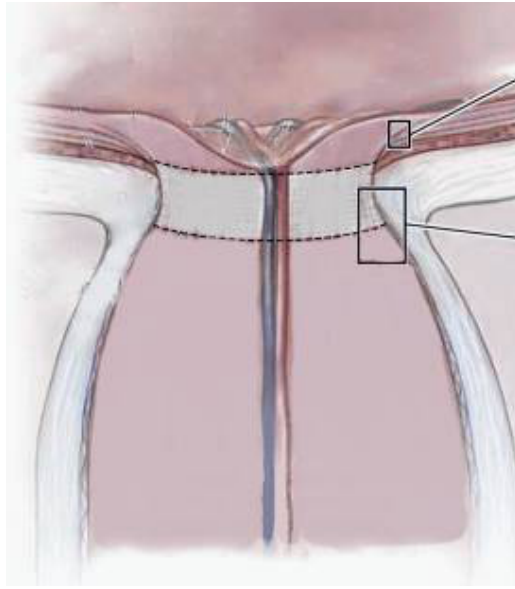
### 1.2.2.6 Miopija i CCT

Kratkovidost, odnosno miopija predstavlja jasno utvrđen faktor rizika za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla, koji ima poseban značaj, imajući u vidu poslednja istraživanja koja su pokazala veliki porast prevalencije miopije, kao i predviđanja da će do 2050. godine pet milijardi ljudi imati miopiju (Ha i sar, 2022; Marcus i sar, 2011). U studiji Ha i sar. objavljenoj 2022. godine pokazan je povećan rizik za razvoj glaukoma u svim podrupama ispitanika sa miopijom, uključujući nisku, umerenu i visoku miopiju (Ha i sar, 2022). Dodatno, istraživanje je pokazalo da se rizik za obolevanje od glaukoma povećava sa visinom refrakcione anomalije, s tim da povećanje rizika nije bilo linearno, odnosno primećen je strmiji rast rizika u grupama sa većim stepenom kratkovidosti (Ha, 2022). S obzirom na to da se visoka kratkovidost karakteriše većom aksijalnom dužinom očne jabučice i većim istanjenjem beonjače, pretpostavlja se da je glava vidnog živca podložnija kako mehaničkim, tako i vaskularnim oštećenjima i posledičnom razvoju GON (Ha i sar, 2022; Hsu i sar, 2015; Jonas i sar, 2020).

Odavno je poznata činjenica da biomehaničke osobine rožnjače mogu da utiču na izmerene vrednosti IOP-a. S obzirom na tu činjenicu, određivanje CCT-a predstavlja jedan od obaveznih koraka u dijagnostici pacijenata suspektnih na glaukom. Međutim, u nekoliko studija je pokazano da osobe sa tanjom centralnom rožnjačom imaju i povećan rizik za nastanak, ali i progresiju POAG (Gordon i sar, 2002). Konkretno, OHTS studija je pokazala da osobe sa CCT manjom od 555  $\mu\text{m}$  imaju trostruko veći rizik za razvoj glaukoma u petogodišnjem periodu u odnosu na osobe kod kojih je CCT veći od 588  $\mu\text{m}$ , takođe rezultati *European Glaucoma Prevention Study* (EGPS) su pokazali da svako smanjenje CCT za 40  $\mu\text{m}$  udvostručava rizik za nastanak glaukoma tokom 5 godina (Gordon i sar, 2002, Gordon i sar, 2007).

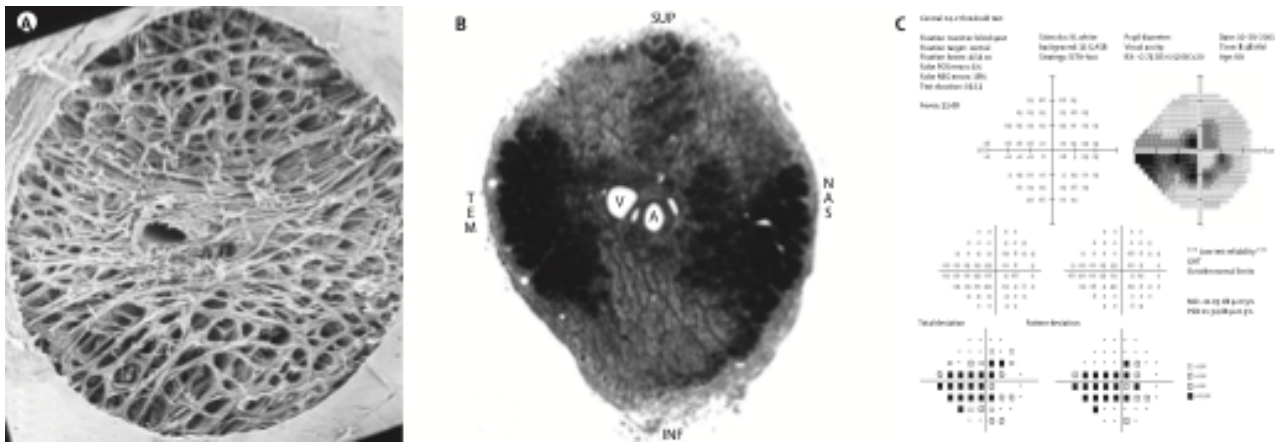
### 1.2.3 Patofiziologija nastanka glaukoma

Osnovni patomorfološki supstrat glaukoma predstavlja postojanje glaukomne optičke neuropatije nastale progresivnim gubitkom ganglijskih ćelija retine. Funkcionalni ispadi u vidnom polju odgovaraju oštećenju sloja nervnih vlakana i glave vidnog živca. Smatra se da inicijalno oštećenje nastaje upravo u predelu glave vidnog živca, odnosno na nivou lamine kribroze (lamina cribrosa), gde se aksoni ganglijskih ćelija grupišu, formiraju vidni živac i napuštaju očnu jabučicu.



Slika 3. Struktura glave vidnog živca. Adaptirano iz: Weinreb i sar. 2014.

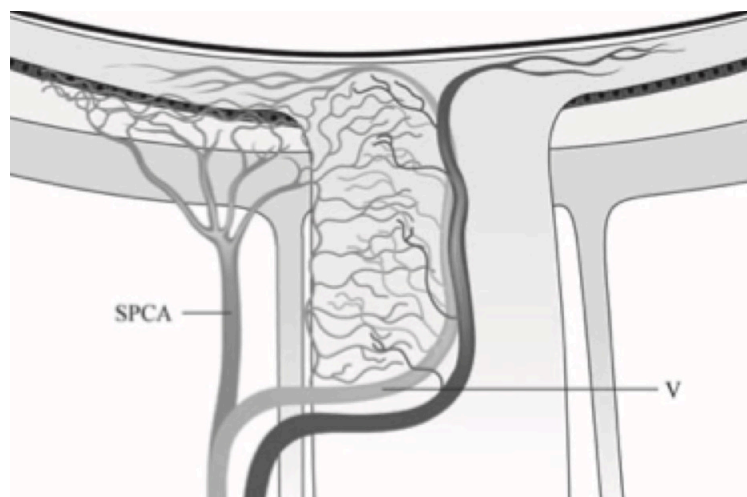
Vidni živac čini aferentni deo vidnog puta koji prenosi vizuelne i druge fotopične nadražaje od neurosenzorne retine preko centra u *corpus-u geniculatum laterale* (GCL) do primarnog vidnog korteksa u okcipitalnoj regiji. Vidni živac se prvenstveno sastoji od 1,2 do 1,5 miliona nervnih vlakana (aksona retinalnih ganglijskih ćelija), glijalnih ćelija, potpornog tkiva ekstracelularnog matriksa i vaskularnih elemenata. Snop aksonskih završetaka ganglijskih ćelija mrežnjače na glavi vidnog živca kreira neuroretinalnu ivicu koja ograničava "udubljenje" (*engl. cupping*), odnosno ekskavaciju glave vidnog živca u centralnom delu. Nervna vlakna ulaze u vidni živac iz mrežnjače po karakterističnom anatomskom uzorku. Vlakna koja dolaze iz periferne temporalne retine, pružaju se lučno oko makule i formiraju superiorni i inferiorni temporalni deo glave vidnog živca. Upravo ova vlakna su najosetljivija i prva stradaju u ranim fazama razvoja glaukomske optičke neuropatije. Vlakna koja potiču iz makularne regije čine oko 30% ukupnih nervnih vlakana i zauzimaju temporalni segment vidnog živca, dok vlakna iz nazalne polovine retine zauzimaju nazalni sektor vidnog živca. Ova vlakna imaju kraći i direktniji tok do glave vidnog živca i njihova oštećenja nastaju tek u uznapredovalim stadijumima glaukoma. Strukturna oštećenja su praćena i odgovarajućim funkcionalnim ispadima u vidnom polju, koja prvobitno takođe imaju karakterističan lučni oblik. Na osnovu prisutnih skotoma u vidnom polju moguće je i odrediti anatomsku lokalizaciju defekta nervnih vlakana. Naime, u slučaju prisustva lučnog skotoma u gornjoj polovini vidnog polja, oštećena su vlakna inferiornog dela periferne retine (Slika 4).



Slika 4. Strukturna i funkcionalna oštećenja vidnog živca. Izvor: Quigly, 2011.

Glavu vidnog živca čine četiri anatomski regiona određena u odnosu na položaj lamine kribroze: retinalni, prelaminarni, laminarni i retrolaminarni. Lamina kribroza je složena, kolagena i relativno elastična struktura koja se sastoji od fenestriranih lamela vezivnog tkiva koje omogućavaju prolaz nervnih vlakana kroz skleralni omotač. Naime, retinalni sloj je najpovršniji koji se pruža u kontinuitetu sa slojem nervnih vlakana retine, zatim dolazi prelaminarni sloj koji se nalazi u nivou peripapilarnog dela horoidee. Sledeći, laminarni sloj ima veliki značaj u patofiziologiji glaukoma, jer se smatra da promene u strukturi lamine kribroze dovode do blokade transporta nervnih impulsa i neurotrofičnih faktora unutar aksonskih završetaka ganglijskih ćelija retine uzrokujući njihovu degeneraciju. Dakle, u patofiziologiji glaukoma ne dolazi samo do oštećenja nervnog tkiva, već i vezivno tkivo postaje iskrivljeno sa zadnjim savijanjem lamine kribroze. Neizvesno je da li ova promena oblika izaziva ili proizilazi iz glaukomatoznog oštećenja, ali očigledno je da promene u vezivnom tkivu i remodelovanje ekstracelularnog matriksa u ovom regionu verovatno doprinose patofiziologiji GON (Weinreb i sar, 2004).

Vaskularizacija glave vidnog živca je specifična i potiče od grana oftalmične arterije (Slika 5). Centralna retinalna arterija, koja ulazi u očnu jabučicu kroz centar vidnog živca, snabdeva krvlju unutrašnje slojeve mrežnjače i šalje male grane samo do samih površnih slojeva glave vidnog živca (Hayreh, 1996). Ostali, veći deo glave vidnog živca je vaskularizovan od strane kratkih posteriornih cilijarnih arterija, koje takođe potiču od oftalmične arterije. Kratke posteriorne cilijarne arterije prodiru kroz skleru koja okružuje optički nerv i formiraju nepotpunu anastomozu poznatu kao Zinn-Hallerov prsten, unutar skleralnog kanala. Arteriole koje potiču iz ovog arterijskog prstena vaskularizuju različite regione glave vidnog živca i peripapilarne delove horoidee.



Slika 5. Vaskularizacija glave vidnog živca. Adaptirano iz: Chandler and Grants Glaucoma, 2021

U prošlosti dominantne su bile dve teorije o nastanku glaukoma, a to su *mehanička* i *vaskularna*.

Mehanička teorija pretpostavlja da je glaukomska optička neuropatija direktna posledica mehaničkog oštećenja lamine kribroze i aksona ganglijskih ćelija povišenim IOP-om, dok vaskularna teorija u prvi plan stavlja neadekvatnu vaskularizaciju glave vidnog živca i smanjen okularni perfuzioni pritisak (Flammer i sar, 2002; Grzybowski i sar, 2020; Mozaffarieh i sar, 2008; Yanagi i sar, 2011). I eksperimentalne i kliničke studije su dokazale ulogu IOP-a i prednosti terapije za snižavanje IOP-a kod glaukoma. Međutim, u pojedinim slučajevima dolazi do progresije morfoloških i funkcionalnih oštećenja uprkos terapijskom smanjenju IOP-a. Takođe, postojanje glaukoma sa vrednostima IOP-a u fiziološkom opsegu, kao i prisustvo povišenog IOP-a bez GON u okviru entiteta koji se označava kao okularna hipertenzija, ukazuje na to da su i drugi faktori uključeni u patogenezu GON-a. Vaskularne abnormalnosti, kao što su: migrena, Raynaud-ov fenomen i „sleep“ apneja, se češće javljaju kod osoba sa NTG i smatraju se faktorom rizika (Shields, 2008).

Osnova vaskularne teorije u nastanku glaukoma se zasniva na stavu da zbog povišenog IOP-a ili uticaja drugih faktora rizika dolazi do oslabljene perfuzije krvnih sudova retine, te posledične ishemije aksonskih završetaka ganglijskih ćelija i kompromitovanog protoka krvi kroz vaskularno korito retine (Flammer, 1994). Ovo dovodi do hipoksije i ishemije retinalnih ganglijskih ćelija i njihovih aksona. U toku hipoksije, stvoreni reaktivni oblici kiseonika (ROS) u mitohondrijama omogućavaju aktivaciju jednog transkripcionog regulatora, poznatog kao hipoksijom indukovani faktor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ , engl. "hypoxia inducible factor-1 alpha"), koji je neophodan za regulaciju transkripcije mnogih gena (Chandel i sar, 2000; Duranteau i sar, 1998). Ekspresija gena za HIF-1 $\alpha$  kao i visok nivo HIF-1 $\alpha$  otkriveni su u retini i disku optičkog nerva kod glaukomatoznih pacijenata (Almasieh i sar, 2012; Tezel i sar, 2004). Tačan uzrok smanjene perfuzije kod obolelih od glaukoma nije poznat, međutim predložena su tri potencijalna uzroka:

- povećan otpor protoku krvi,
- snižen perfuzioni pritisak,
- povećana viskoznost krvi.

Prisustvo hemoragije na optičkom disku je veoma jak indikator postojanja vaskularnih faktora rizika za nastanak glaukoma.

U više studija pokazano je da oksidativni stres, mitohondrijalna disfunkcija i ćelijsko starenje imaju značajnu ulogu u nastanku glaukomske neurodegeneracije (Eells, 2019; Osborne i sar, 2017; Pinazo-Durán i sar, 2014; Sreekumar i sar, 2020; Zhang i sar, 2015). Patofiziološki mehanizmi GON uključuju i ishemijsku (Harris i sar, 2005), ekscitotoksičnost (Lebrun-Julien i sar, 2009), metabolički stres (Vohra i sar, 2019), deprivaciju neurotrofina (Pease i sar, 2000) i neuroinflamaciju (Jiang i sar, 2020; Russo i sar, 2016; Williams i sar, 2017).

### 1.2.3.1 Oksidativni stres

U današnje vreme postoji opšti konsenzus da oksidativni stres ima značajnu ulogu u mnogim biohemijskim, fizičkim i molekularnim promenama tokom fiziološkog procesa starenja. Tokom starenja dolazi do proporcionalno sve veće akumulacije oksidativnih oštećenja biomolekula (lipida, proteina i nukleinskih kiselina), dok sa druge strane kapacitet antioksidantne zaštite organizma slabi (Golubev i sar, 2017). Smatra se da je postojanje ovako narušene homeostaze, odnosno oksidativnog stresa, jedan od ključnih preduslova za nastanak mnogobrojnih patoloških stanja, uključujući neurodegenerativna, maligna i kardiovaskularna oboljenja (Andersen, 2004; Potashkin i sar, 2006). Za nastanak disbalansa u redoks sistemu organizma odgovorna je povećana produkcija reaktivnih vrsta. Termin reaktivna vrsta obuhvata sve tipove supstanci visoke reaktivnosti koji čine klase reaktivnih molekula koji sadrže kiseonik, azot, hlor, brom, sumpor, ugljenik ili selen. Naziv klase zavisi od reaktivnog atoma koji sadrže, pa tako razlikujemo: reaktivne oblike kiseonika (ROS), reaktivne oblike azota (RNS), reaktivne oblike hlora (RClS), reaktivne oblike broma (RBrS), reaktivne oblike sumpora (RSS), reaktivne oblike ugljenika (RCS), reaktivne oblike selena (RSeS). Ovi molekuli se nalaze u dve forme (Tabela 1)(Sies i sar, 2017):

- slobodni radikali kao što su: superoksil radikal ( $O_2\cdot$ ), hidroksil radikal ( $OH\cdot$ ) ili nitroksil radikal ( $NO\cdot$ ),
- reaktivni neradikali kao što su: vodonik peroksid ( $H_2O_2$ ), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ), tiol (RSH) ili tiolat ( $RS^-$ ).

**Tabela 1.** Klasifikacija reaktivnih vrsta.

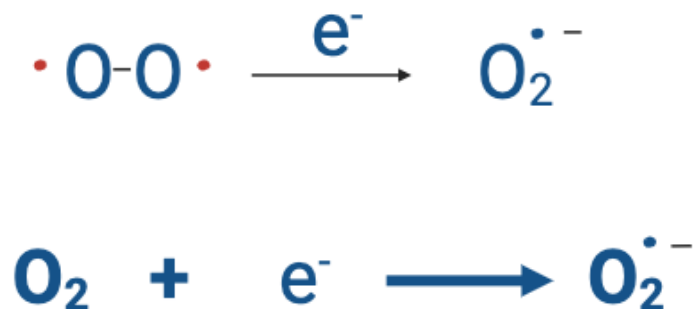
	<b>Radikali</b>	<b>Neradikali</b>
<b>ROS</b>	O <sub>2</sub> · superoksil	HOCl· hipohloritna kiselina
	OH· hidroksil	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> vodonik peroksid
	ROO· peroksil	O <sub>3</sub> ozon
	RO· alkoksil	<sup>1</sup> O <sub>2</sub> singlet kiseonik
	HOO· hidroperoksil	
<b>RNS</b>	NOO· azot dioksid radikal	ONOO- peroksininitrit
	NO· nitroksil radikal	NO+ nitrozilni katjon
<b>RCIS/RBrS</b>	Cl· atomski hlor	RNHCl hloramini
	Br· atomski brom	OBr <sup>-</sup> hipobromit
<b>RSS</b>	RS· til radikal	RSH tiol
		RS <sup>-</sup> tiolat
		RSSR disulfid
		RSO <sup>-</sup> sulfenat
		RSO <sub>2</sub> <sup>-</sup> sulfinat
		RSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> sulfonat
		H <sub>2</sub> S vodoniksulfid
<b>RCS</b>		Acetaldehid
		Akrolein
		Metil-glioksal
		4-Hidroksi-nonenal
		Ekscitirani karbonili
<b>RSeS</b>		Selenit
		Selenat
		Selenocistein
		Selenometionin

\*ROS-reaktivni oblici kiseonika (*engl. Reactive Oxygen Species*); RNS-reaktivni oblici azota (*engl. Reactive Nitrogen Species*); RCIS-reaktivni oblici hlora, (*engl. Reactive Chlorine Species*); RBrS-reaktivni oblici broma (*engl. Reactive Bromine Species*); RSS-reaktivni oblici sumpora (*engl. Reactive Sulfur Species*); RCC- reaktivni oblici ugljenika (*engl. Reactive Carbonyl Species*); RSeS- reaktivni oblici selena (*engl. Reactive Selenium Species*).

Slobodne radikale, čija je glavna osobina prisustvo nesparenog elektrona u poslednjoj orbitali, karakteriše veći stepen reaktivnosti i nestabilnosti u odnosu na neradikale. Pored reaktivnih oblika kiseonika, koji imaju dominantnu ulogu u redoks sistemu, značajan uticaj u procesima oksidativnog stresa imaju i reaktivni oblici azota, kao što su nitroksil radikal i peroksininitrit. Takođe, važni oksidansi u biološkim sistemima su i reaktivni oblici sumpora, ugljenika i selena (Sies i sar, 2017). Mnogi reaktivni oblici nastaju u normalnim fiziološkim uslovima. Kiseonički slobodni radikali nastaju kao međuproizvodi parcijalne redukcije molekulskog kiseonika u ćeliji. Elektronska struktura O<sub>2</sub>, sa dva nesparena elektrona u odvojenim orbitalama, favorizuje parcijalnu redukciju kiseonika sa po jednim



elektronom u svakom koraku. U prvom koraku redukcije molekuskog kiseonika nastaje superoksil radikal (Slika 6).



Slika 6. Parcijalna redukcija O<sub>2</sub> i formiranje superoksid anjona.

Slobodni radikali i reaktivni neradikali se kontrolisano stvaraju u toku normalne metaboličke aktivnosti ćelija i u malim količinama imaju ulogu signalnih molekula koji nastaju u različitim endogenim i egzogenim procesima (De Giusti i sar, 2013; Sies i sar, 2020). Jednu od najvažnijih bioloških uloga ostvaruju u aktiviranim fagocitima (neutrofilima, monocitima, makrofagima i eozinofilima) (Pérez-Figueroa i sar, 2021). U procesu fagocitoze kao posledica aktivacije membranske NADPH oksidaze nastaje superoksid anjon koji učestvuje u eliminaciji fagocitovanih čestica. U ovom procesu učestvuju i drugi reaktivni oblici kiseonika, prvenstveno vodonik peroksid koji nastaje iz superoksida dejstvom superoksid dizmutaze, ali i hipohloritna kiselina i hidroksil radikal (Taylor i sar, 2021). Dejstvom mijeloperoksidaze iz H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u fagocitnim vakuolama neutrofila nastaju hipohloritna i hipobromitna kiselina (Winterbourn, 2018). Vodonik peroksid i superoksil anjon su dva ključna signalna agensa u redoks sistemu generisana pod kontrolom faktora rasta, hemokina i više od 40 enzimskih sistema, koji dominantno uključuju NADPH oksidaze i mitohondrijski elektron transportni lanac (Sies i sar, 2020). Utvrđeno je da se vodonik peroksid, koji se smatra glavnim ROS u oksidoredukcionom sistemu (Winterbourn, 2018) intracelularno nalazi u niskoj koncentraciji u fiziološkim uslovima, dok uticaj različitih stresora, kao što su faktori rasta, hemokini ili fizički stresori mogu da dovedu po povećane produkcije ovog ROS-a (Parvez et al., 2018). U fiziološkoj koncentraciji koja se kreće u nanomolarnom opsegu, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kao signalni molekul reverzibilnom oksidacijom proteina, utiče na mnogobrojne ćelijske funkcije, uključujući proliferaciju, diferencijaciju, migraciju i angiogenezu (Zhang i sar, 2019).

Pored nabrojanih uloga, u fiziološkim uslovima slobodni radikali imaju i ulogu regulatornih molekula. Naime, superoksid radikal u brojnim ćelijama ima ulogu regulatora rasta, dok azot oksid, koji nastaje dejstvom enzima azot oksid sintaze, ima veoma značajnu ulogu u regulaciji tonusa krvnih sudova (Tejero i sar, 2019). Takođe, slobodni radikali su uključeni u metabolizam delovanja određenih enzima, kao što su prostaglandin sintaza i citohrom P450 (Hrycay i sar, 2015).

Endogeno nastanak slobodnih radikala indukuju procesi aktivacije ćelija imunskog sistema, inflamacija, infekcija, ishemija, stres, prekomerna fizička aktivnost, maligniteti, fiziološki procesi starenja (Nakamura i sar, 2021; Pham-Huy i sar, 2008; Taylor i sar, 2021; Zhang i sar, 2022). Intracelularno generisanje ROS dominantno se odvija dejstvom membranskih NADPH oksidaza i u mitohondrijama, ali i u endoplazmatskom retikulumu, peroksizomima i citosolu (Brand, 2016; Sies i sar, 2020). Prema poslednjim podacima iz literature membranske NADPH oksidaze i kompleksi elektron transportnog lanca mitohondrija su odgovorni za produkciju oko 85% ukupne celularne produkcije H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u mioblastima (Wong i sar, 2019). Takođe, ćelije mogu direktno da preuzmu iz ekstracelularne sredine

ROS poreklom iz egzogenih izvora ili da produkuju reaktivne oblike kao odgovor na štetne egzogene uticaje, na primer toksične efekte kseonibiotika ili radijacije (Chrysostomou i sar, 2013; Pinazo-Durán i sar, 2014; Tezel, 2006). Hiperprodukciju slobodnih radikala mogu favorizovati i drugi egzogeni faktori kao što su: višak slobodnih metala sa promenljivom valencom i višak i povećana koncentracija kiseonika.

Mnoga oftalmološka oboljenja uključujući kataraktu, bolesti prednje površine oka (*engl. Ocular Surface Disease – OSD*), senilnu degeneraciju makule, uveitise i retinopatije su povezana sa oksidativnim stresom (Datta i sar, 2017; Ivanov i sar, 2018; Nita i sar, 2016; Seen & , 2018; Stamenkovic i sar, 2014; Thompson i sar, 2022). Oksidativni stres, zbog neravnoteže između stvaranja slobodnih radikala i antioksidativne odbrane, može dovesti do lipidne peroksidacije ćelijske membrane i oštećenja DNK i proteina koji utiču na različite strukture oka. S obzirom na činjenicu da je centralni nervni sistem tkivo visoko zavisno od O<sub>2</sub>, minimalne promene u koncentraciji kiseonika dovodi do značajnih funkcionalnih oštećenja. Naime, postojanje disbalansa u redoks sistemu je čvrsto povezano za procese neurodegeneracije, uključujući hronična degenerativna oboljenja kao što su Alchajmerova, Parkinsonova, Huntingtonova bolest i amiotrofična lateralna skleroza (Sbodio i sar, 2019). Takođe, sve više dokaza ukazuje da je postojanje disproporcije između produkcije slobodnih radikala i antioksidantnih mehanizama jedan od važnih faktora povezan sa nastankom i progresijom glaukomske neurodegeneracije (Izzotti i sar, 2006; Saccà i sar, 2008; Zanon-Moreno i sar, 2008). Naime, pokazano je da oštećenje ćelijskih komponenti trabekuluma, uzrokovano toksičnom akumulacijom reaktivnih vrsta, dovodi do povećanja otpora u oticanju očne vodice kroz trabekulum. Poremećaj eliminacije očne vodice iz oka kao posledicu ima povišenje intraokularnog pritiska vodeći do nastanka karakterističnih glaukopskih promena (Saccà i sar, 2008). Slično CNS-u, retina predstavlja jedno od tkiva sa najvećim stepenom potrošnje kiseonika u humanom organizmu (Yu i sar, 2005). Intenzivna potrošnja kiseonika, kontinuirana ekspozicija svetlosnim zracima, visoka koncentracija polinezasićenih masnih kiselina i prisustvo fototsenzitivirajućih molekula doprinosi povećanoj produkciji oksidanasa u retini (Hanus i sar, 2015). Drugi značajan patofiziološki mehanizam u kome oksidansi imaju važnu ulogu je gubitak retinalnih ganglijskih ćelija i njihovih aksona koji uzrokuje glaukopsku optičku neuropatiju (Izzotti i sar, 2006). Istraživanja su pokazala da retinalne ganglijske ćelije umiru procesom apoptoze, kao i da slobodni radikali predstavljaju značajan faktor u ovom procesu (Fan Gaskin i sar, 2021; Tezel, 2006). Apoptoza predstavlja strogo regulisan proces programirane ćelijske smrti od ključne važnosti za normalan embriološki razvoj i tkivnu homeostazu (Bertheloot i sar, 2021). Apoptozu karakteriše fragmentacija nukleusa, kondenzacija hromatina i citoplazme uz očuvanu ćelijsku membranu koja rezultuje formiranjem apoptotskih tela. Različiti stimulusi mogu da indukuju apoptotski proces aktivacijom spoljašnjeg ili unutrašnjeg puta (He i sar, 2017). Spoljašnji put aktivacije je posredovan membranskim ćelijskim receptorima, dok aktivacija unutrašnjeg puta uključuje mitohondrije (Hanus i sar, 2015).

U studiji Cordeira i sar. apoptoza retinalnih ganglijskih ćelija je potvrđena kod okularne hipertenzije na animalnim modelima (Cordeiro i sar, 2004). Mitogen aktivirajuće protein kinaze (*engl. mitogen-activated protein kinases - MAPK*) su velika familija serin-treonin kinaza koje učestvuju u regulaciji mnogobrojnih ćelijskih procesa, uključujući i programiranu ćelijsku smrt (Cargnello i sar, 2011). Subfamilija MAPK, terminalna Jun kinaza (*engl. Jun-terminal kinase - JNK*), poznata i kao stresom aktivirane protein kinaze, aktivira transkripcione faktore odgovorne za transkripciju proapoptotskih gena i na taj način učestvuje u aktivaciji signalne kaskade koja rezultuje programiranom ćelijskom smrti (Almasieh i sar, 2012). Naime, mnoge studije kod obolelih od glaukoma u humanoj populaciji glaukoma, kao i na eksperimentalnim animalnim modelima glaukom su pokazale aktivaciju ovog signalnog puta (Levkovitch-Verbin et al., 2005; Tezel i sar, 2003; Yang i sar, 2007) .

U proapoptotskoj signalnoj kaskadi učestvuje i enzim ASK1 (*engl. apoptosis signal-regulating kinase*), koji aktivira JNK i p38 kao odgovor na različite stimulse, uključujući oksidativni stres i inflamatorne citokine (Almasieh i sar, 2012). Pokazano je da je ASK1 primarno eksprimirana u retinalnim ganglijskim ćelijama i da je značajan broj ovih neurona zaštićen od ishemičkih lezija kod eksperimentalnih životinja sa delecijom ASK1 gena (Harada i sar, 2010). Dodatno, primećen je i

smanjen stepen odumiranja retinalnih ganglijskih ćelija u animalnim modelima sa deficitom ovog enzima i deficitom glutamat-aspartat transportera (Harada i sar, 2010).

Nekoliko istraživačkih studija je izvestilo o značajno povišenim nivoima biomarkera oksidativnog stresa u očnoj vodici kod pacijenata sa POAG zajedno sa izmenjenom ekspresijom mnogobrojnih markera antioksidativne odbrane. Naime, dokazana je povećana aktivnost najvažnijih enzimskih antioksidantnih sistema (glutation peroksidaze – GPX i superoksid dismutaze - SOD), kao i povišena koncentracija markera lipidne peroksidacije (malondialdehida - MDA), u očnoj vodici obolelih od POAG (Ferreira i sar, 2009; Goyal i sar, 2014; Hernández-Martínez i sar, 2016). Takođe, Zanon-Moreno i sar., su testom reaktivnih supstanci malondialdehid-tiobarbiturne kiseline pokazali da je kod obolelih od POAG-a smanjen ukupan antioksidantni status u očnoj vodici praćen povećanim formiranjem slobodnih radikala (Zanon-Moreno i sar, 2008).

### 1.2.3.2 Antioksidantna zaštita

Biološki sistemi poseduju potentne antioksidantne odbrambene mehanizme. Antioksidantni zaštitni sistem uma ulogu u sprečavanju stvaranja slobodnih radikala, u njihovoj eliminaciji, kao i u popravci oštećenja nastalih u uslovima oksidativnog stresa. Biološki antioksidansi se mogu definisati kao supstance koje štite organizam od štetnih efekata oksidacije i tu svoju ulogu ostvaruju na nekoliko načina: smanjivanjem lokalne koncentracije kiseonika, sprečavanjem procesa inicijacije stvaranja slobodnih radikala, vezivanjem metalnih jona koji su katalizatori stvaranja ROS, razlaganjem peroksida kako se oni ne bi ponovo mogli prevesti u inicijalne radikale, prekidanjem lanca stvaranja novih slobodnih radikala (Sies, 2017).

Postoji više klasifikacija antioksidantnih sistema na: egzogene i endogene, liposolubilne i hidrosolubilne, intracelularne i ekstracelularne, kao i najčešće upotrebljavana klasifikacija na enzimske i neenzimske antioksidanse. Mnogobrojni enzimski sistemi kao što su glutacion peroksidaza, katalaza (CAT), superoksid dismutaza i glutacion transferaze (GST) ublažavaju nekontrolisanu produkciju reaktivnih vrsta kiseonika i posledična oksidativna oštećenja ćelija i makromolekula. Za ove enzime je karakteristično da se u ćeliji nalaze u relativno velikim količinama, uglavnom imaju specifičnu lokalizaciju u ćelijama i organima, aktivnosti im se često komplementarno poklapaju i mnogi za aktivnost zahtevaju prisustvo metala: bakra, cinka, mangana, gvožđa i sarena. Antioksidantni enzimi predstavljaju prvu liniju odbrane u eliminaciji primarnih proizvoda parcijalne redukcije molekulskog kiseonika tako što metabolišu ROS u manje toksična ili netoksična jedinjenja. Katalaza i glutacion peroksidaza katalizuju reakcije razlaganja vodonik peroksida, superoksid dismutaza prevodi superoksil radikal u H<sub>2</sub>O i O<sub>2</sub>, dok glutacion transferaze učestvuju u neutralizaciji različitih endogenih i egzogenih elektrofilnih supstrata. U blokiranju procesa u kojima učestvuju slobodni radikali i zaštiti organizma od oksidativnog stresa učestvuju i neenzimski odbrambeni sistemi koji u velikoj meri ostvaruju interakcije sa enzimskim antioksidansima. Veliki značaj imaju liposolubilni neenzimski antioksidansi koji štite ćelije od dejstva peroksil radikala i sprečavaju reakcije lipidne peroksidacije. Alfa-tokoferol i alfa-tokotrienol su oblici vitamina E, lipofilnih karakteristika, koji zbog svoje lokalizacije u membranama vrše ključnu ulogu u sprečavanju inicijalnog oštećenja ćelije dejstvom produkata oksidativnog stresa. Karotenoidi, takođe liposolubilni neenzimski antioksidansi, se u ćelijama nalaze u manjoj koncentraciji u odnosu na tokoferole, međutim izdvaja ih to da svoju antioksidantnu funkciju ostvaruju i pri niskom parcijalnom pritisku kiseonika. Najdominantniji hidrosolubilni antioksidans je askorbinska kiselina, koja svoju zaštitnu ulogu ostvaruje direktnom reakcijom sa slobodnim radikalima, ali i indirektno učestvujući u regeneraciji drugih antioksidanasa (npr. tokoferola). Pored prethodno navedenih, u antioksidantnoj zaštiti učestvuju i sistemi neproteinskih tiolskih antioksidanata i enzima povezanih sa njima, kao što su sistemi tioredoksina (TRX) i glutaciona (GSH) (Hayes i sar, 2000; Tezel, 2006).

Jedan od značajnih neproteinskih antioksidanata koji se nalazi u oku je redukovani glutacion (Nita i sar, 2016). Ovaj tripeptid, poznat i kao  $\gamma$ -L-glutamil-L-cisteinilglicin je najvažniji nisko molekularni antioksidans koji je ubikvitarno rasprostranjen u ćelijama eukariota. Glutacion je prvi put

opisan u literaturi još 1888. god. i od tada je bio predmet istraživanja mnogih naučnika, a njegova struktura je otkrivena četiri decenije kasnije (Aoyama, 2021, De Rey Pailhade, 1888). Čine ga tri amino kiseline: cistein, glicin i glutaminska aminokiselina, a proces biosinteze se odvija u dve sukcesivne faze katalizovane ATP-zavisnim enzimskim reakcijama. U prvoj fazi koju katališe enzim glutamat cistein ligaza (GCL) nastaje dipeptid  $\gamma$ -l-glutamyl-l-cistein od cisteina i glutaminske aminokiseline. Molekul glutationa nastaje u sledećoj fazi dejstvom enzima glutation sintetaze, kada se glicin vezuje za prethodno nastali dipeptid (Lu, 2013).

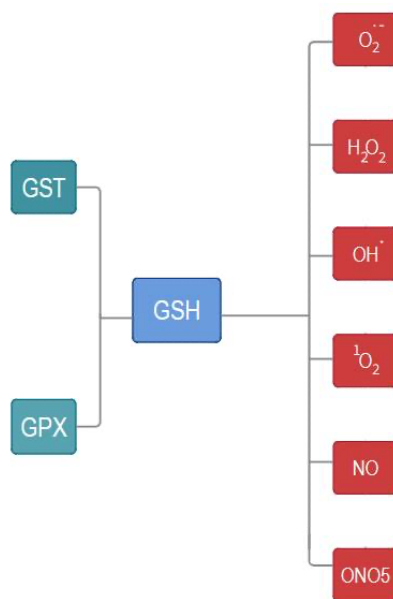
U fiziološkim uslovima sinteza redukovanog glutationa je ograničena ekspresijom i enzimskom aktivnošću GCL, kao količinom i dostupnošću prekursorskih aminokiseline (Lu, 2013). Međutim, u mnogim istraživanjima je pokazano da u stanjima povezanim sa disbalansom u redoks sistemu dolazi do intenzivnije enzimске aktivnosti i povećane ekspresije GCL što rezultuje i povećanom produkcijom glutationa (Fujimori i sar, 2004). Glutation postoji u dva oblika, kao redukovani glutation (GSH) i u formi oksidovanog disulfida (GSSG) (Kaplowitz i sar, 1985). U fiziološkim uslovima, u ćelijama je dominantno prisutan redukovani oblik glutationa, koji je od 10 do 100 puta zastupljeniji u odnosu na oksidovanu formu ovog jedinjenja. Za održavanje ove proporcije redukovanog i oksidovanog glutationa odgovoran je enzim glutation reduktaza, zahvaljujući kojoj su redoks parovi 2GSH/GSSG i NADP/NADPH u termodinamskoj ravnoteži (Diaz-Vivancos i sar, 2015). Naime, pored de novo sinteze glutationa, redukovani oblik glutationa može nastati iz oksidovanog disulfida dejstvom glutation reduktaze koja kao supstrat koristi NADPH (Lu, 2013).

Biosinteza glutationa se odvija u citoplazmi, koja predstavlja rezervoar za više od 80% glutationa, dok je ostatak raspoređen u mitohondrijama i endoplazmatskom retikulumu. Glutation je prisutan u ćelijama skoro svih tkiva u koncentraciji od 1-2mM, dok je jedino u hepatocitima koncentracija glutationa i desetostruko veća (Forman i sar, 2009). Funkcije glutationa u celularnom metabolizmu su mnogobrojne. Pored toga što učestvuje u antioksidantnoj zaštiti i održavanju redoks balansa, ima značajnu ulogu i u transportu i skladištenju cisteina, regulaciji signalnih puteva, ekspresiji gena i u ćelijskoj diferencijaciji i proliferaciji (Forman i sar, 2009).

Kao glavni ćelijski antioksidans, glutation može direktno ili indirektno, kao enzimski kofaktor, da neutrališe reaktivne oblike kiseonika i azota. Naime, u uslovima oksidativnog stresa dodavanjem jednog elektrona molekulskom kiseoniku, odnosno, parcijalnom redukcijom  $O_2$  nastaje superoksil anjon (Sies i sar, 2017). Ovaj proces se dominantno odvija u respiratornom mitohondrijskom lancu za transport elektrona, međutim superoksil radikal može nastati i u direktnoj reakciji određenih jedinjenja sa kiseonikom, kao i u procesu fagocitoze u ćelijama imunskog sistema (Pérez-Figueroa i sar, 2021). Superoksil radikal zbog svoje nerastvorljivosti u lipidima nema mogućnost difuzije daleko od mesta nastanka. Međutim, ovaj radikal ima sposobnost da reaguje sa drugim molekulima u ćeliji i na taj način dolazi do stvaranja novih slobodnih radikala. Novostvoreni radikali reaguju sa drugim neradikalnim molekulima i na taj način dolazi do lančane reakcije stvaranja slobodnih radikala koji mogu da oštete ćelijske elemente. Naime, u reakciji superoksila sa azot monoksidom (NO) formira se peroksinitritni jon ( $ONOO^-$ ) koji dalje u reakcijama lipidne peroksidacije oštećuje ćelijske strukture i lančano stvara nove reaktivne molekule (Sies, 2020).

Takođe, od superoksida nastaje i vodonik peroksid ( $H_2O_2$ ) pod dejstvom enzima superoksid dizmutaze (Sies, 2017). Za razliku od  $O_2^{\cdot-}$ , vodonik peroksid je liposolubiln što mu olakšava difuziju kroz membrane i omogućava da svoje štetne efekte ostvaruje i na udaljenim mestima od mesta formiranja ovog reaktivnog molekula. Redukcijom  $H_2O_2$  u prisustvu jona prelaznih metala (najčešće Fe i Cu) nastaje najreaktivniji slobodni kiseonični radikal, hidroksil radikal ( $\cdot OH$ ) (Koppenol i sar, 2019). Ova reakcija je poznata kao Fentonova reakcija. Hidroksi radikal karakteriše izuzetno velika elektoreaktivnost i sposobnost oštećenja ćelijskih makromolekula (DNK, proteina, ugljenih hidrata i lipida) (Sies i sar, 2020). Glutation ima značajnu ulogu u antioksidantnom sistemu zaštite organizma. Direktnom neenzimskom reakcijom glutationa sa slobodnim radikalima ( $NO$ ,  $^1O_2$ ,  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $\cdot OH$  i  $ONOO^-$ ) dolazi do njihove neutralizacije (Forman i sar, 2009). Ulogu antioksidansa, glutation ostvaruje i indirektno u procesima detoksikacije kao enzimski kofaktor glutation peroksidaze i glutation transferaza (Slika 7) (Aoyama, 2021). U ovim reakcijama redukovani oblik glutationa prelazi u

oksidovani disulfid (GSH u GSSG). Zbog toga reakcija regeneracije GSH, koju katalizuje glutathion reduktaza, ima značajno mesto u antioksidantnoj zaštiti (Couto i sar, 2016). S obzirom da je za aktivnost glutathion reduktaze neophodan NADPH, za ćeliju ima izuzetan značaj postojanje funkcionalnog enzimskog aparata koji katalizuje reakcije stvaranja NADPH. U odsustvu glutathiona oksidativna oštećenja makromolekula se nagomilavaju u ćeliji, jer se ROS stvaraju u brzim i ireverzibilnim reakcijama.



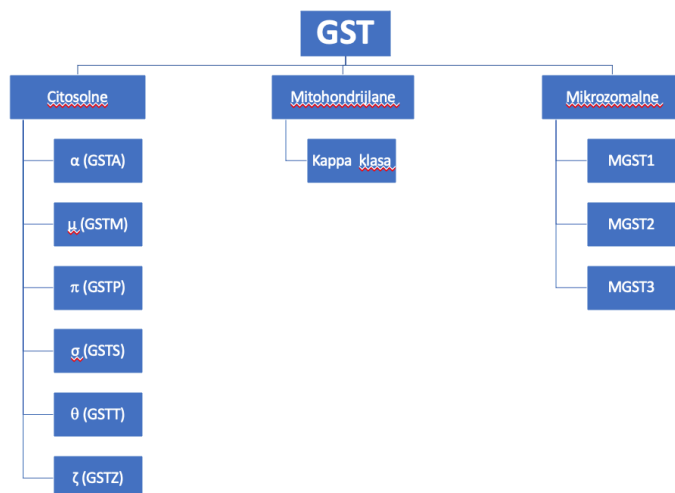
Slika 7. Antioksidantne funkcije glutationa. Glutathion ima ulogu direktnog antioksidansa u neenzimskoj reakciji sa NO,  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\cdot\text{OH}$  i  $\text{ONOO}^-$ . Kao enzimski kofaktor glutathion transferaza i glutathion peroksidaze glutathion indirektno ostvaruje antioksidantnu ulogu.

### 1.3 Glutathion transferaze

Glutathion transferaze predstavljaju grupu enzima sa mnogobrojnim funkcijama, od kojih je najpoznatija katalitička uloga u drugoj fazi konjugacije glutathiona sa različitim endogenim i egzogenim elektrofilnim supstratima (Hayes i sar, 2000). Pored ove, značajne i dosta izučavane uloge, najnoviji podaci iz literature su pokazali da ova superfamilija enzima poseduje i druge, nekatalitičke, funkcije. Kod ljudi, GST su podeljeni u najmanje tri glavne porodice proteina: citosolne, mitohondrijalne i mikrozomalne. Mikrozomalne GST su poznate i kao membranski proteini uključeni u metabolizam eikosanoida i glutathiona (engl. Membrane-Associated Proteins in Eicosanoid and Glutathione metabolism, MAPEG). Ova familija GST ima takođe sposobnost katalizacije konjugacije glutathiona sa ksenobiotičima iako se strukturno razlikuje od citosolnih GST (Hayes i sar, 2000). U humanojoj populaciji je do sada opisano sedam klasa citosolnih GST enzima (Hayes i sar, 2005).

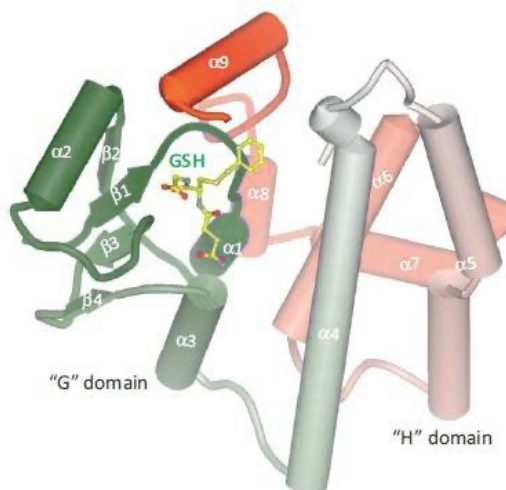
Enzimi koji pripadaju istoj klasi poseduju više od 40% sličnosti u redosledu aminokiselina, a svaka od klasa je označena sledećim slovima grčkog alfabeta:  $\alpha$  (GSTA),  $\mu$  (GSTM),  $\pi$  (GSTP),  $\sigma$  (GSTS),  $\theta$  (GSTT),  $\zeta$  (GSTZ) i  $\Omega$  (GSTO) (Hayes i sar, 2005; Wu i sar, 2012) (Slika 8). Pored varijacije između klasa postoji i izvesna genska heterogenost unutar svake klase nastala kao rezultat genskih

mutacija (Hayes i sar, 2000). Mnoge mutirane genske varijante imaju direktan uticaj na strukturu, funkciju i ekspresiju citosolnih GST (Board i sar, 2013).



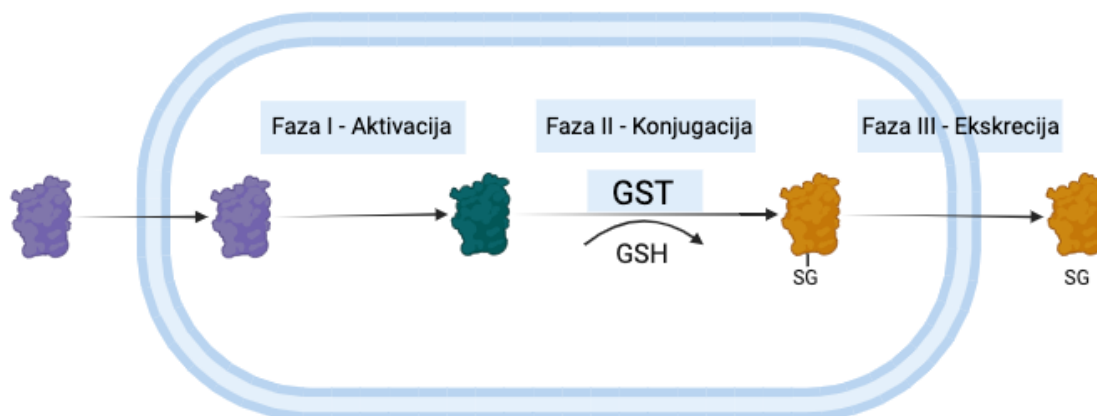
Slika 8 . Klasifikacija glutation transferaza. Prilagođeno prema (Wu i sar, 2012) .

Po strukturi sve citosolne GST su homo- ili heterodimeri. Pojedinačni GST protein je sastavljen od dve subjedinice: N-terminalnog domena i od C-terminalnog domena. N- terminalni domen, poznat i kao „G“ subjedinica, predstavlja vezno mesto glutationa, dok je C-terminalni domen, odnosno „H“ subjedinica, sastavljen isključivo od 5 ili 6 alfa heliksa ( $\alpha 4-8$  ili  $\alpha 4-9$ ) i služi za vezivanje hidrofobnih supstrata. Struktura G domena je visoko konzervirana u svim klasama, za razliku od veoma varijabilnog supstrat vezujućeg domena (Wu i sar, 2012).



Slika 8. Struktura „G“ i „H“ domena molekula glutation transferaze. Izvor (Wu i sar, 2012).

Dominantna uloga citosolnih glutathion transferaza je konjugacija redukovano glutathiona sa različitim ksenobiotičima koja se odvija u drugoj fazi detoksikacije. Naime, nakon ulaska u ćeliju toksični metaboliti pokreću reakcije detoksikacije. U fazi I pod dejstvom enzima kao što je citohrom P450 dolazi do aktivacije lipofilnih jedinjenja. Pre njihove ekskrecije iz ćelije koja se dešava u fazi III, aktivirani ksenobiotiči se konjuguju sa redukovanim glutathionom u reakcijama katalizovanim GST i prevode uglavnom u manje toksična i stabilnija jedinjenja (Hayes i sar, 2000) (Slika 9).



Slika 9. Detoksikacija ksenobiotika (prilagođeno prema Mazari i sar, 2023).

Osim konjugacije različitih egzogenih supstrata (hemijski kancerogeni, produkti zagađenja i razni antitumorski agensi), glutathion transferaze katalizuju i endogeno nastala toksična i reaktivna jedinjenja, uključujući i slobodne radikale (Hayes i sar, 2000). Važno je istaći, da nisu svi GSH konjugati manje toksični i bezbedni. Naime, podaci iz literature pokazuju da su određeni GSH konjugati reaktivniji od svojih prekursora (Guengerich, 2005; Kurtovic i sar, 2008). Konjugati GSH i cisplatina, dihlormetana, kao i mono- i dihaloalkani i polihalogenizovani alkeni su primer visoko reaktivnih elektrofilnih jedinjenja sa potencijalom za oštećenje makromolekula (Guengerich i sar, 2003; Wheeler i sar, 2001; Zhang i sar, 2021).

Pored najpoznatije uloge u procesu detoksikacije, GST familija enzima učestvuje i u regulaciji signalnih puteva, posttranslacionoj modifikaciji proteina, a ima i značajnu ulogu u rezistenciji na hemioterapijske lekove (Tew i sar, 2012).

Jedan od procesa za koji je pokazano da u njemu učestvuju GST jeste i glutathionilacija. Glutathionilacija predstavlja jedan od oblika posttranslacione obrade proteina koja utiče ne samo na strukturni, već i na funkcionalni integritet proteina. U ovom reverzibilnom procesu dolazi do konjugacije glutathiona sa cisteinskim reziduama akceptorskih proteina (Mazari i sar, 2023). Reakcije glutathionilacije i deglutathionilacije katališu enzimi iz grupe redoksina, a zavisne su od sveukupnog redoks statusa, gde sredina sa većom proporcijom oksidovanog u odnosu na redukovano glutathion favorizuje reakcije glutathionilacije, a sredina sa dominantno redukovanom formom GSH favorizuje proces deglutathionilacije (Gallogly i sar, 2007). Za nekoliko enzima iz familije GST je dokazano da učestvuju u reakcijama glutathionilacije. Naime, istraživanja su pokazala da GSTP1 učestvuje u katalizi procesa glutathionilacije, dok je u procesu deglutathionilacije dokazano učešće GSTO1-1 (Ye i sar, 2017).

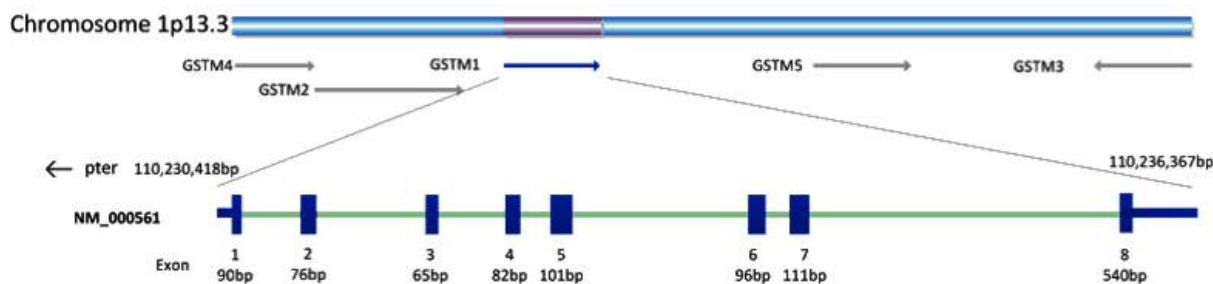
Iako je glutationilacija smatrana prvom linijom aktivacije antioksidativnog zaštitnog mehanizma, pokazano je da predstavlja važan način regulacije apoptotskih signalnih puteva modifikacijom transkripcionih faktora JNK i nuklearnog faktora kappa B (NF-κB), kao i inflamatornog odgovora modifikacijom interleukina 1β (IL-1β) (Xiong i sar, 2011). Takođe, utvrđeno je da reakcije glutationilacije učestvuju u kontroli niza drugih ćelijskih procesa uključujući homeostazu kalcijuma, hemotaksu, energetske metabolizam i glikolizu (Xiong i sar, 2011). Kao potvrda uloge u ovim procesima mogu se smatrati i rezultati istraživanja koji su pokazali da poremećaj regulacije glutationilacije učestvuje u patogenezi mnogih oboljenja, uključujući kardiovaskularne, neurološke i metaboličke poremećaje, razvoj katarakte i poremećeni razvoj embriona (Manevich i sar, 2005; Mazari i sar, 2023).

### 1.3.1 Glutation transferaza M1

#### 1.3.1.1 Hromozomska lokalizacija gena i organizacija

Gen koji kodira glutation transferaze M1 je lokalizovan na kratkom kraku hromozoma 1, na genskom lokusu 1p13.3 (Pearson i sar, 1993) (Slika 10). Čine ga 8 egzona približno ukupne veličine 21,8 kilobaza (kb). Ovaj gen čini deo klastera GST gena koji uključuju i *GSTM2*, *GSTM3*, *GSTM4* i *GSTM5* gene. Ovaj klaster karakteriše visoki stepen homologije sekvenci i evoluirao je kroz procese genske duplikacije. Struktura i organizacija gena su visoko konzervirane što ukazuje na funkcionalni značaj ovog gena u celularnim procesima.

*GSTM1* gen pripada u klasi familije glutation transferaza i javlja se u četiri alelska oblika: *GSTM1\*0*, *GSTM1\*A*, *GSTM1\*B* i *GSTM1\*1x2* (Board, 1981; Wu i sar, 2012).



Slika 10. Lokacija *GSTM1* gena na hromozomu 1; preuzeto iz Pejovic-Milovancevic i sar, 2010

*GSTM1\*0* (*GSTM1-nulti*) alel, najčešći genski polimorfizam ovog gena, nastaje delecijom genskog segmenta veličine 20-kb (Xu i sar, 1998). Homozigotna delecija *GSTM1* gena dovodi do odsustva funkcionalnog *GSTM1* proteina i osobe sa ovim genotipom nemaju funkcionalnu *GSTM1* enzimsku aktivnost. Učestalost *GSTM1-nultih* genotipa varira među etničkim grupama, kod bele rase se kreće od 34% do 58,3%, u azijskoj populaciji su opisane varijacije od 47,6% do 56,2%, u crnoj rasi od 17% do 46,7, dok je učestalost arapskoj populaciji između 44% i 56,3% (Di Pietro i sar, 2010; Wu i sar, 2012). Ova razlika u učestalosti među etničkim grupama može da doprinese različitoj podložnosti bolestima i osetljivosti na ksenobiotike među populacijama.

Genske varijante *GSTM1\*A* i *GSTM1\*B* nastaju kao posledica pojedinačnog nukleotidnog polimorfizma (SNP) u egzonu broj 7 (Seidegård i sar, 1988). Aleli *GSTM1\*A* i *GSTM1\*B* se međusobno razlikuju po zameni nukleotidne sekvence (citozin se menja guaninom u položaju 519 molekula DNK),

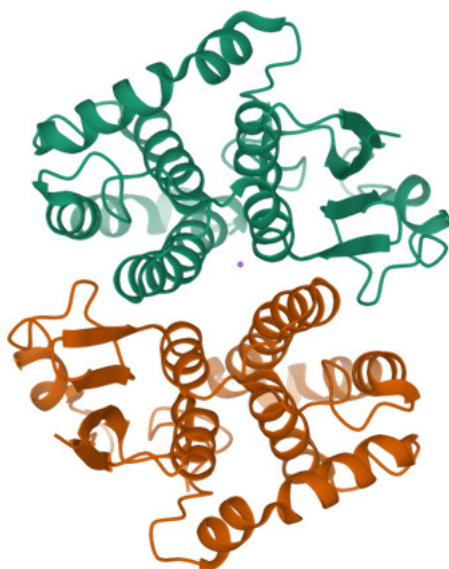


što dovodi do zamene asparagina lizinom u položaju 173 u formiranom enzimu (Di Pietro i sar, 2010). Uprkos prisutnoj mutaciji, nisu pokazane funkcionalne razlike između produkata *GSTM1*\*A i *GSTM1*\*B alela, te se ovi polimorfizmi kategorišu u jedan funkcionalni fenotip (Widersten i sar, 1991).

Duplikacija *GSTM1* gena, alelska varijanta *GSTM1*\*1x2, predstavlja najređi polimorfizam u okviru ove klase opisan kod stanovništva Saudijske Arabije (Price Evans i sar, 1996).

### 1.3.1.2 Proteinska struktura i funkcija

*GSTM1* enzim je citosolni protein koji je sačinjen od 218 aminokiselina molekularne težine 25kDa (Mannervik, 1985). Karakteriše ga homodimerna struktura, u kojoj svaki monomer sadrži dva različita vezna mesta: „G“ aktivno mesto sačinjeno od N- terminalnog  $\alpha/\beta$  domena i hidrofobno supstrat vezujuće „H“ mesto, koga čine isključivo  $\alpha$ -heliksi (Mannervik, 1985; Wu i sar, 2012). „G“ aktivno mesto vrši funkciju vezivanja molekula redukovano glutaciona i njegova struktura pokazuje visoki stepen homologije među različitim GST klasama. Za razliku od „G“ domena, varijabilnost „H“ domena omogućava vezivanje različitih elektrofilnih supstrata. GST enzim katalizuje nukleofilni atak glutaciona na elektrofilne centre supstrata i omogućava formiranje hidrosolubilnih, manje reaktivnih konjugata koji se potom u fazi eliminacije odstranjuju iz organizma. Neki od značajnijih supstrata ove klase GST enzima su aflatoksin B1 epoksid i benzo(a)piren-diol epoksid (BPDE)(Wu i sar, 2012).



Slika 11. Trodimenzionalna struktura *GSTM1* (Izvor: Protein data bank, <http://www.rcsb.org>)

Najčešće istraživani polimorfizmi pripadaju klasama  $\mu$  (*GSTM*) i  $\theta$  (*GSTT*). Mnoge studije su pokazale da *GSTM1* *multi* genotip doprinosi povećanoj individualnoj podložnosti uticaju oksidativnog stresa i faktora okoline (Hayes i sar, 2000).

Homozigotna delecija (*GSTM1* *multi*), koja rezultuje potpunim nedostatkom enzimске aktivnosti, je predmet proučavanja u mnogim eksperimentalnim i kliničkim studijama koje se bave primarnim glaukomom otvorenog ugla. Međutim rezultati ovih studija su nekonzistentni, čak i u nekim slučajevima i kontradiktorni (Abu-Amero i sar, 2008; Bamdad i sar, 2021; Barbosa i sar, 2012; Jansson i sar, 2003; Juronen i sar, 2000a, 2000b; Rocha i sar, 2011; Safa i sar, 2014; Ünal et al., 2007; Yildirim et al., 2005a)

U studiji Juronena i saradnika urađenoj u populaciji Estonaca, pokazano je da *GSTMI* aktivni genotip povećava rizik sa nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla, što je suprotno u odnosu na većinu drugih studija (Juronen i sar, 2000). Takođe, Unal i saradnici su dobili slične rezultate, odnosno učestalost *GSTMI* aktivnog genotipa je bila veća u grupi obolelih od glaukoma u odnosu na kontrolnu grupu (Ünal i sar, 2007).

Veći broj studija je pokazao korelaciju delecionog polimorfizma *GSTMI* sa incidencijom primarnog glaukoma otvorenog ugla (Abu-Amero i sar, 2008; Izzotti i sar, 2003; Rocha i sar, 2011; Safa i sar, 2014; Yildirim i sar, 2005). Pojedine studije ukazuju da *GSTMI* *multi* genotip ne predstavlja statistički značajan faktor rizika za nastanak ili progresiju glaukoma (Barbosa i sar, 2012; Jansson i sar, 2003). Povezujući polimorfizam *GSTMI* sa najznačajnijim faktorima rizika, Barbosa ukazuje da ne postoji statistički značajna korelacija između delecionog polimorfizma gena *GSTMI* i pozitivne porodične anamneze, pušenja ili zloupotrebe alkohola u grupi obolelih od primarnog glaukoma (Barbosa i sar, 2012)

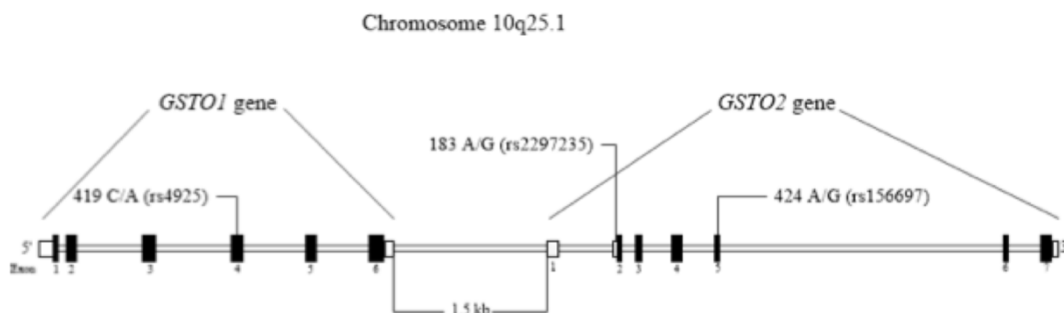
Različiti dizajni studija, eventualna pristrasnost kod izbora ispitanika, mali broj ispitanika i različite metodologije su neki od faktora koji se mogu smatrati odgovornim za nekonzistentnost dobijenih rezultata. Stoga su urađene i tri meta analize koje su uzele u obzir sve prethodno navedene studije (Huang i sar, 2013; Lu i sar, 2013; Yu i sar, 2013).

U meta analizu Huanga i saradnika je uključeno jedanaest studija dizajniranih po tipu studije preseka, od kojih je pet sprovedeno u populaciji belaca, dve u azijskoj populaciji, a četiri studije su izvedene u mešovitim etničkim grupama (Huang i sar, 2013). Rezultati ove studije su pokazali da nema statistički značajne korelacije između homozigotne delecije *GSTMI* gena i rizika za nastanak POAG (OR = 1,32; 95% CI, 0,84–2,05; p= 0,227). Takođe, i istraživanja Lu-a i saradnika, kao i Yu-a i saradnika su pokazala da *GSTMI* *multi* genotip ne predstavlja genetski faktor rizik (Lu i sar, 2013; Yu i sar, 2013). Međutim analizom *GSTMI* polimorfizama različitih etničkih grupa utvrđen je statistički značajno povećan rizik obolevanja od glaukoma u azijskoj populaciji u odnosu na populaciju belaca i mešovite grupe (Huang i sar, 2013; Lu i sar, 2013). Dodatno, utvrđena je razlika u zavisnosti od vrste uzorka korišćenog za izolaciju DNK. Naime, pokazana je korelacija *GSTMI* *multog* genotipa sa rizikom za nastanak POAG u studijama gde je genotipizacija vršena na uzorku DNK izolovanog iz tkiva trabekuluma, dok kod uzoraka iz periferne krvi ta veza nije utvrđena (Huang i sar, 2013).

### 1.3.2 Glutation transferaze O1 i O2

#### 1.3.2.1 Hromozomska lokalizacija gena i organizacija

Dva *GSTO* gena su identifikovana u humanoj populaciji, *GSTO1* i *GSTO2*. Oba gena su sastavljena od šest egzona i nalaze se na hromozomu broj 10 (10q24.3), a razdvaja iz segment veličine 7,5 kb (Slika 12). U oba gena je pokazano prisustvo polimorfizama, od kojih su dva najčešće izučavana polimorfizma *GSTO1*\*C419A (rs4925) i *GSTO2*\*A424G (rs156697). U polimorfizmu *GSTO1* rs4925, alanin je zamenjen aspartatom (\*Ala140Asp) koji utiče na *GSTO1* deglutinationilacionu aktivnost i do sada je bio povezan sa nekoliko neurodegenerativnih bolesti (Allen i sar, 2012). Naime, referentni alel *GSTO1*\*C ima veću deglutinationilaznu aktivnost i sniženu aktivnost u reakciji glutatinationilacije za razliku od alelske varijante *GSTO1*\*A (Menon i sar, 2013). U polimorfizmu *GSTO2* rs156697, asparagin je zamenjen aspartatom (\*Asn142Asp) što dovodi do niže ekspresije *GSTO2* gena kod nosilaca varijante *GSTO2*\*G alela (Allen i sar, 2012; Mukherjee i sar, 2006).



Slika 12. Lokacija *GSTO1* i *GSTO2* gena na hromozomu 10; preuzeto iz Radic i sar, 2018

### 1.3.2.2 Proteinska struktura i funkcija

*GSTO1* i *GSTO2* enzimi pripadaju poslednjoj identifikovanoj, omega klasi, citosolnih glutation transferaza (Board i sar, 2000). *GSTO1* je sačinjen od 241 aminokiseline, strukturno organizovan kao homodimer, koga čine dve istovetne subjedinice veličine 27,6 kDa. Drugi član ove klase, *GSTO2* enzim, karakteriše visok stepen poklapanja sekvence aminokiselina sa *GSTO1*, koji iznosi više od dve trećine od ukupno 243 aminokiselina (Board i sar, 2000; Whitbread i sar, 2005).

Kao i ostali pripadnici familije glutation transferaza, ovi proteini se sastoje od N terminalnog domena i C terminalnog domena, odnosno G i H subjedinice. Međutim, jedna od glavnih specifičnosti ove klase je prisustvo cisteina na poziciji 32 N-terminalnog domena, za razliku od alfa-, mi-, pi- i sigma klase GST, koje u aktivnom mestu imaju tirozin, i od tetra- i zeta- klase sa prisutnim serinom u aktivnom mestu (Board i sar, 2000). Prisustvo različite funkcionalne grupe u aktivnom mestu uzrokuje i različite katalitičke aktivnosti u odnosu na ostale predstavnike glutation transferaza. Takođe, još jedna strukturna karakteristika koju ne nalazimo kod drugih enzima iz familije GST je postojanje N terminalne ekstenzije sastavljene od 19 aminokiselina (Whitbread i sar, 2005). (Slika 13)

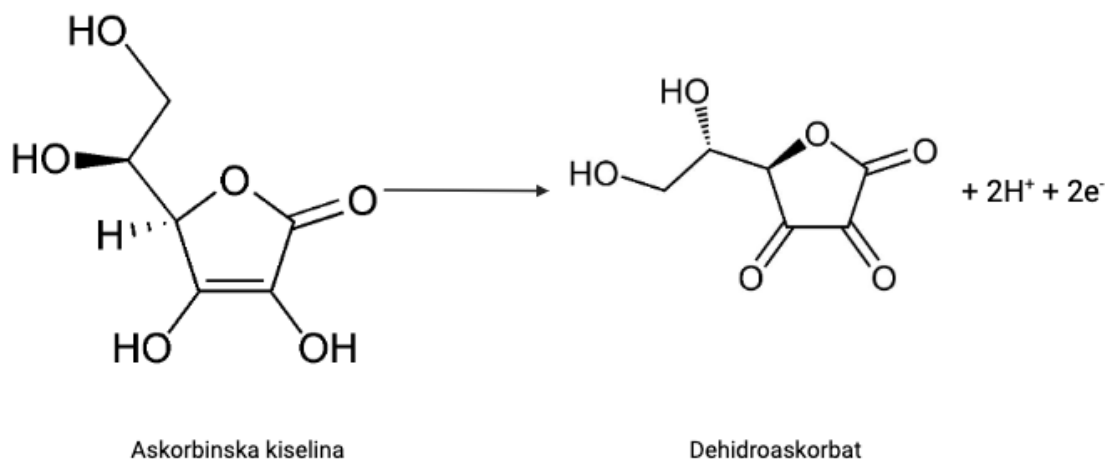


Slika 13. Trodimenzionalna struktura *GSTO1*. Izvor: Protein data bank, <http://www.rcsb.org>

Pored velikog stepena strukturne heterogenosti omega klase GST u odnosu na članove ostalih klasa GST, ovu klasu karakterišu različita supstratna specifičnost i funkcionalna aktivnost. Naime, GSTO1 i GSTO2 pokazuju slab afinitet ka uobičajenim supstratima karakterističnim za GST familiju, kao što je 1-hloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB). Štaviše, i ova dva enzima se međusobno razlikuju po selektivnosti za supstrate. Naime, GSTO1 pokazuje jači afinitet za veće supstrate, kao što je S-(4-nitrofenacil) glutation, za razliku od GSTO2 (Board i sar, 2008). Dominantne katalitičke uloge ovih enzima podrazumevaju glutation-zavisne tioltransferazne i dehidroaskorbat reduktazne aktivnosti (DHAR), ali imaju i značajnu ulogu u modulaciji kalcijumskih kanala, biotransformaciji arsena i aktivaciji proinflamatornog medijatora IL-1 $\beta$  (Schmuck i sar, 2005; Whitbread i sar, 2005; Zhou i sar, 2012).

Po svojoj funkciji, ali i strukturi N terminalnog domena, enzimi omega klase GST su jako slični glutaredoksinima (Grx). Pokazano je da GSTO1, slično kao i glutaredoksini, učestvuje u regulaciji procesa deglutationilacije. Međutim GSTO2, uprkos strukturnoj sličnosti sa GSTO1 i Grx, ne ispoljava ovu aktivnost (Menon i sar, 2013). S obzirom na to da glutationilacija i deglutationilacija predstavljaju jedan od načina regulacije apoptotskih i inflamatornih signalnih puteva, GSTO1 ima važnu ulogu u procesima apoptoze i u inflamaciji.

Omega klasa GST pokazuje značajnu dehidroaskorbat-reduktaznu (DHAR) aktivnost i ima važnu ulogu u metabolizmu askorbinske kiseline (Zhou i sar, 2012). Askorbinska kiselina (vitamin C) predstavlja najznačajniji neenzimski hidrosolubilni antioksidans prisutan u oku (Slika 14). Askorbinska kiselina svoju zaštitnu ulogu u uslovima oksidativnog stresa ostvaruje direktnim reakcijama sa slobodnim radikalima (superoksidnim, hidroksilnim anjonom, lipidnim hidroperoksidima), a takođe, učestvuje i u regeneraciji tokoferol iz tokoferil radikala (Carr i sar, 2017). Posebno se ističe antioksidantni značaj izoenzima GSTO2-2, jer je dokazano da ovaj enzim ispoljava najveću DHAR aktivnost u ćelijama sisara (Whitbread i sar, 2005).

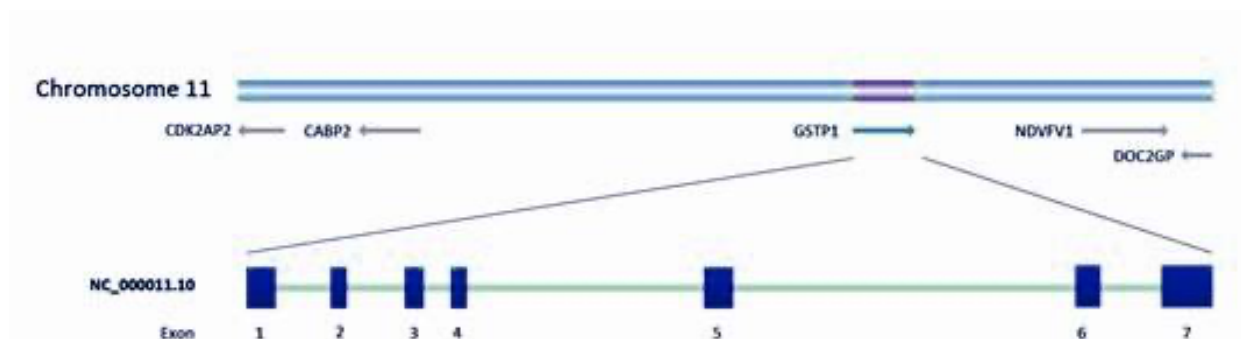


Slika 14. Oksidacija askorbinske kiseline

GSTO1 protein je prisutan u velikom broju tkiva, uključujući tkiva jetre, creva, srca, ovarijuma, pankreasa, prostate i slezine, što ukazuje da ima važne biološke funkcije (Whitbread i sar, 2005). *Northern blot* analizom tkiva pokazan je visok stepen ekspresije GSTO2 enzima u testisima, jetri, bubregu i skeletnim mišićima (Whitbread i sar, 2003, 2005).

### 1.3.3 Glutation transferaza P1

#### 1.3.3.1 Hromozomska lokalizacija gena i organizacija



Slika

15. Lokacija *GSTP1* gena na hromozomu 11; preuzeto iz Simic i sar, 2016

GST enzime klase pi kodiraju geni pozicionirani na hromozomu broj 11 (Slika 15). *GSTP1* gen je sačinjen od 9 egzona, a u literaturi su opisane dve česte funkcionalne varijante ovog gena nastale supstitucijom aminokiselina na poziciji 105 i 114. Naime, u prvoj varijanti aminokiselina na poziciji 105, izoleucin je zamenjena valinom, dok u drugoj varijanti umesto alanina na poziciji 114 se nalazi valin (Ali-Osman i sar, 1997). Kombinujući ove mutacije dobijamo četiri različita haplotipa (Watson i sar, 1998):

- *GSTP1*\*A: sa izoleucinom na poziciji 105 i alaninom na poziciji 114
- *GSTP1*\*B: sa supstitucijom izoleucina valinom na poziciji 105, i alaninom na poziciji 114,
- *GSTP1*\*C: valin na poziciji 105 i 114 (\*Val105+\*Val114) i
- *GSTP1*\*D: izoleucin na poziciji 105, a valin na poziciji 114.

Najviše pažnje istraživača je usmereno ka alelu *GSTP1*\*B koji u osnovi ima zamenu A (adenina) u G (guanin) na kodonu 105 (rs1695). To za posledicu ima zamenu aminokiseline izoleucina u valin (\**Ile105Val*)(Ali-Osman i sar, 1997) i izmenjenu katalitičku moć enzima. Značaj ovog polimorfizma najviše se ogleda u smanjenoj sveukupnoj katalitičkoj enzimskoj aktivnosti, ali i u povećanoj katalitičkoj sposobnosti detoksikacije poliaromatičnih ugljovodonika (PAH), dokazanih karcinogena koji se nalaze u hrani, produktima sagorevanja i u duvanskom dimu (Hu i sar, 1997). Mnoga istraživanja su pokazala da je alel *GSTP1*\*B visoko ekspimiran u tumorskim tkivima i da ima značajnu ulogu i u procesu kancerogeneze, kao i u osetljivosti na antitumorske lekove, te je povećana ekspresija *GSTP1*\*B polimorfizma povezivana sa lošijim terapijskim odgovorom na hemioterapiju (Henderson i sar, 2005) Takođe, istraživanja su potvrdila da odsustvo funkcionalnog *GSTP1* enzima doprinosi povećanoj produkciji slobodnih radikala, kao i oštećenjima DNK uzrokovanim oksidativnim stresom kod pacijenata sa hroničnim opstruktivnim plućnim oboljenjima i kataraktom (Chen i sar, 2017; Žuntar i sar, 2014).

Yu i saradnici su analizirali ovaj SNP polimorfizam, kao i njegovu vezu sa primarnim glaukomom otvorenog ugla (Yu i sar, 2013). Nekoliko studija rađenih pre istraživanja Yu i saradnika, nisu pronašle razlike u učestalosti genotipa *GSTP1*\*B između pacijenata sa primarnim glaukomom

otvorenog ugla i zdravih kontrola (Juronen i sar, 2000; Rocha i sar, 2011; Yildirim i sar, 2005). Međutim, udruživanjem ovih studija, Yu i saradnici otkrili su da je *GSTP1\*B* polimorfizam u značajnoj korelaciji sa povećanim rizikom od nastanka primarnog glaukoma otvorenog ugla kod belaca u recesivnom modelu, ali je statistička značajnost povezanosti bila na graničnom nivou (Yu i sar, 2013). Takođe, u istraživanju Liu i saradnika, detektovana je smanjena ekspresija GSTP1 proteina u očnoj vodici kod obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla, što je GSTP1 čini mogućim biomarkerom u patogenezi primarnog glaukoma otvorenog ugla (Liu i sar, 2021).

### 1.3.3.2 Proteinska struktura i funkcija

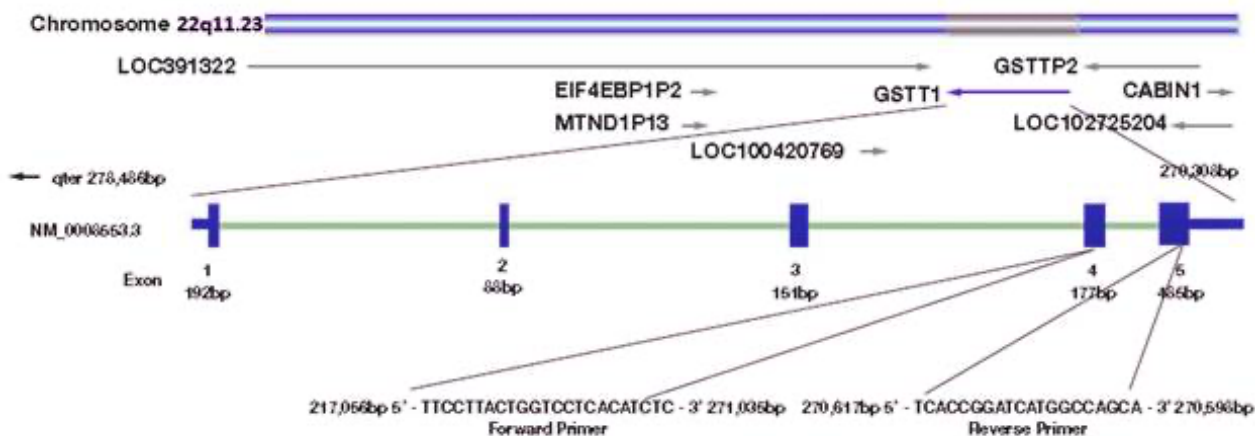
GSTP1, slično kao i ostali citosolni enzimi familije glutation transferaza, se nalazi u formi dimera. Nije poznato da li ova strukturna forma utiče na biološke funkcije enzima, međutim smatra se da doprinosi stabilnosti proteina (Wu i sar, 2012). U aktivnom mestu glutation vezujućeg domena kod GSTP1 enzima se nalazi tirozin i ovaj domen pokazuje malu varijaciju u strukturi u odnosu na ostale GST. H domen karakterišu i hidrofobne i hidrofilne osobine, za razliku od drugih klasa GST (Slika 16).



Slika 16. Trodimenzionalna struktura GSTP1 (Izvor: Protein data bank, <http://www.rcsb.org>)

### 1.3.4 Glutation transferaza T1

#### 1.3.4.1 Hromozomska lokalizacija gena i organizacija



Slika 17. Lokacija *GSTT1* gena na hromozomu 22; preuzeto iz Pejovic- Milovancevic i sar, 2016

Teta klasu GST enzima kodiraju dva gena *GSTT1* i *GSTT2* koji se nalaze na kratkom kraku hromozoma 22 međusobno odvojena nukleotidnom sekvencom od 50kb (Landi, 2000) (Slika 17).

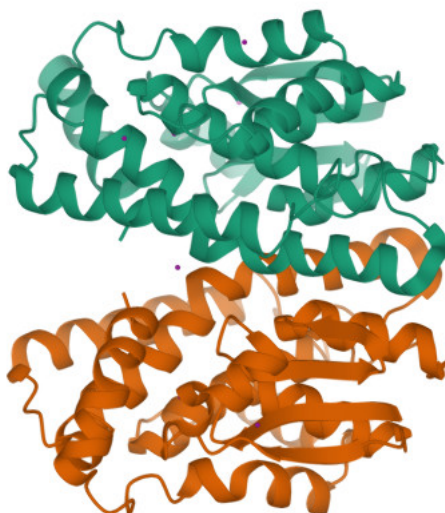
*GSTT1* gen je sačinjen od 5 egzona i pozicioniran na 22q11.23 (Slika 17). Slično kao i kod *GSTM1* gena, najčešći genski polimorfizam predstavlja delecija *GSTT1* gena. Homozigotni genotip, *GSTT1\*0* (*GSTT1-nulti*) karakteriše potpuno odsustvo enzimske aktivnosti (Wiencke i sar, 1995). Pojedina istraživanja su pokazala da je učestalost *GSTT1 nultog* genotipa trostruko veća u azijskoj populaciji u odnosu na belu rasu (Nelson i sar, 1995).

Kao rezultat pojedinačnog nukleotidnog polimorfizma u egzonu broj 3 nastaju varijante *GSTT1\*A* i *GSTT1\*B*. Kod izoforme kodirane alelom *GSTT1\*A* na poziciji 104 se nalazi treonin, dok se kod produkta *GSTT1\*B* varijante na istoj poziciji nalazi prolin (McIlwain i sar, 2006). Supstitucija ove dve aminokiseline rezultuje promenom konformacije enzima i dovodi do smanjene katalitičke aktivnosti kod nosioca ovih genskih varijanti (Alexandrie i sar, 2002).

#### 1.3.4.2 Proteinska struktura i funkcija

Smatra se da je teta klasa GST evolutivno najstarija od svih GST klasa i enzimi slični enzimima ove klase su pronađeni kod svih do sada ispitivanih organizama (Pemble i sar, 1992). (Slika 18). Uticaj polimorfizama *GSTT1*, izolovanih ili u kombinaciji sa drugim GST polimorfizmima, na nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla je ispitivan u više kliničkih studija (Abu-Amero i sar, 2008; Fan i sar, 2010; Juronen i sar, 2000; Rocha i sar, 2011; Safa i sar, 2014; Stamenkovic i sar; Ūnal i sar, 2007; Yildirim i sar, 2005). Abu-Amero i sar. u studiji sprovedenoj u arapskoj populaciji pokazali su da je *GSTT1* delecioni polimorfizam učestaliji u grupi obolelih od glaukoma u odnosu na kontrolnu grupu (Abu-Amero i sar, 2008). Slični rezultati su dobijeni i u studijama sprovedenim u Brazilu i Turskoj

(Rocha i sar, 2011; Ünal i sar, 2007). Za razliku od ovih studija, u istraživanjima Juronena i sar, Fan-a i sar, Safa-e i sar. kao Yildirim-a i sar. nije pokazana povezanost polimorfizama *GSTT1* gena primarnim glaukomom otvorenog ugla (Fan i sar, 2010; Juronen i sar, 2000; Safa i sar, 2014; Yildirim i sar, 2005).



Slika 18. Trodimenzionalna struktura GSTT1 (Izvor: Protein data bank, <http://www.rcsb.org>)

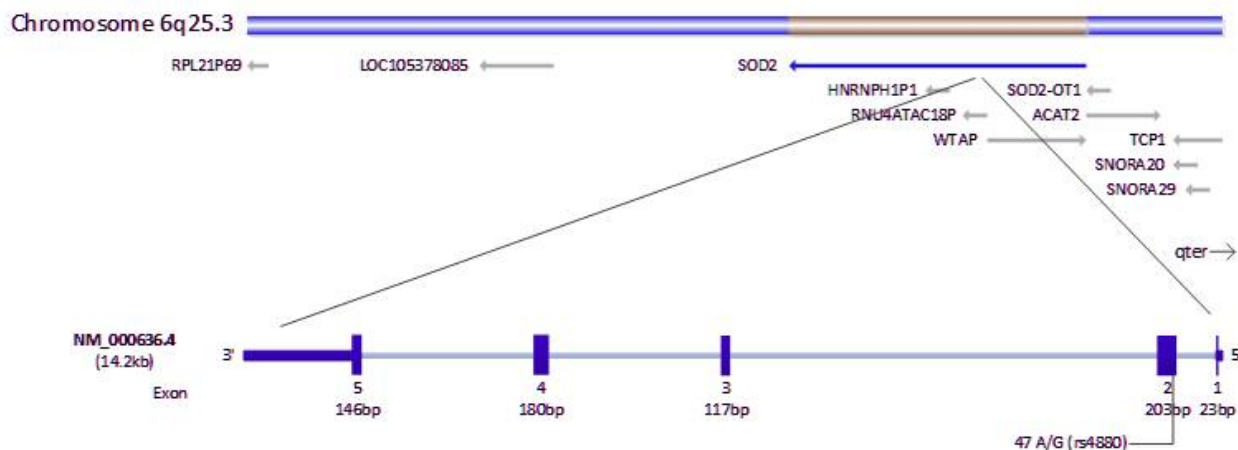
#### 1.4 Superoksid dizmutaza 2

Superoksid dizmutaza je jedan od ključnih enzima koji učestvuje u neutralizaciji štetnih slobodnih radikala i procesima zaštite organizma od oksidativnog stresa. Tri različite izoforme SOD su identifikovane i okarakterisane. Superoksid dizmutaza 1 (SOD1) se naziva i citosolna bakar-cink superoksid dismutaza (Cu/ZnSOD), jer u aktivnom mestu sadrži bakar i cink (Eleutherio i sar, 2021). Za razliku od SOD1, superoksid dizmutaza 2 (SOD2) se nalazi u mitohondrijama, a u aktivnom mestu sadrži mangan i označava se i kao MnSOD. Treća izoforma ovog enzima takođe sadrži bakar i cink, a svoju funkciju ostvaruje u ekstracelularnom prostoru (Miao i sar, 2009). SOD1 je relativno mali homodimerni metaloprotein, sastavljen od dve identične subjedinice ukupne veličine 32 kd (Trist i sar, 2021). Za razliku od druge dve izoforme ovog enzima nalazi se u visokoj koncentraciji u citosolu, gde ostvaruje svoju antioksidansnu ulogu. U literaturi su opisane mnoge asocijacije SOD1 sa različitim oboljenjima uključujući amiotrofičnu lateralnu sklerozu, Parkinsonovu bolest, srčanu slabost, kancer i diabetes mellitus (Muscogiuri i sar, 2013; Papa i sar, 2014; Rosen i sar, 1993; Trist i sar, 2017, 2021).



## 1.4.1 Hromozomska lokalizacija gena i organizacija

Gen koji kodira SOD se nalazi na hromozomu broj 6 (6q25) (Slika)(Wispe' i sar, 1989) (Slika 19).



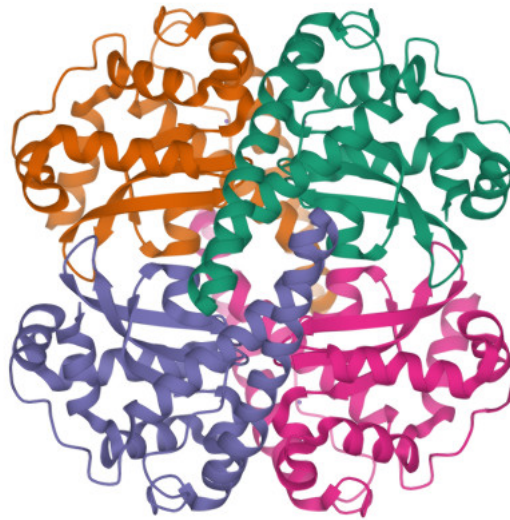
Slika 19. Lokacija gena superoksid dizmutaze 2 na hromozomu 6. Izvor: Jerotic i sar, 2019

Što se tiče tri postojeće SOD izoforme, gen *SOD2* ima nekoliko pojedinačnih nukleotidnih polimorfizama (SNP), među kojima je jedan od najčešće analiziranih *rs4880* (*\*T47C*). Ovaj SNP u genu *SOD2* izaziva supstituciju alanina u valin (*SOD2 Ala16Val*) (Rosenblum i sar, 1996). Utvrđeno je da pojedinci sa genotipom *SOD2\*CC* (*\*Ala16Ala*) imaju veću aktivnost SOD2 u poređenju sa onima sa genotipom *SOD2\*CT* (*\*Val16Ala*) ili *SOD2\*TT* (*\*Val16Val*) (Sutton i sar, 2003). Značaj ovog polimorfizma ogleda se u tome što utiče na strukturu i funkciju N terminalne sekvence u sklopu prekursorskog SOD2 proteina. Naime, SOD2 se sintetiše u vidu prekursorskog molekula koji u svom sastavu ima N terminalnu aminokiselinsku sekvencu koja omogućava transport ovog proteina u mitohondrije. Polimorfizam *SOD2 Ala16Val* rezultuje smanjenom sposobnošću transporta SOD2 prekursora u mitohondrijalni matriks i samim tim, dovodi i do smanjene antioksidantne zaštite (Sutton i sar, 2003). Još jedan od razloga za smanjenu aktivnost produkta genske varijante (*SOD2 Ala16Val*) je i smanjena stabilnost i brža degradacija iRNK, kao i manji stepen sinteze u odnosu na divlji tip alela (Sutton i sar, 2005).

### 1.4.1.1 Proteinska struktura i funkcija



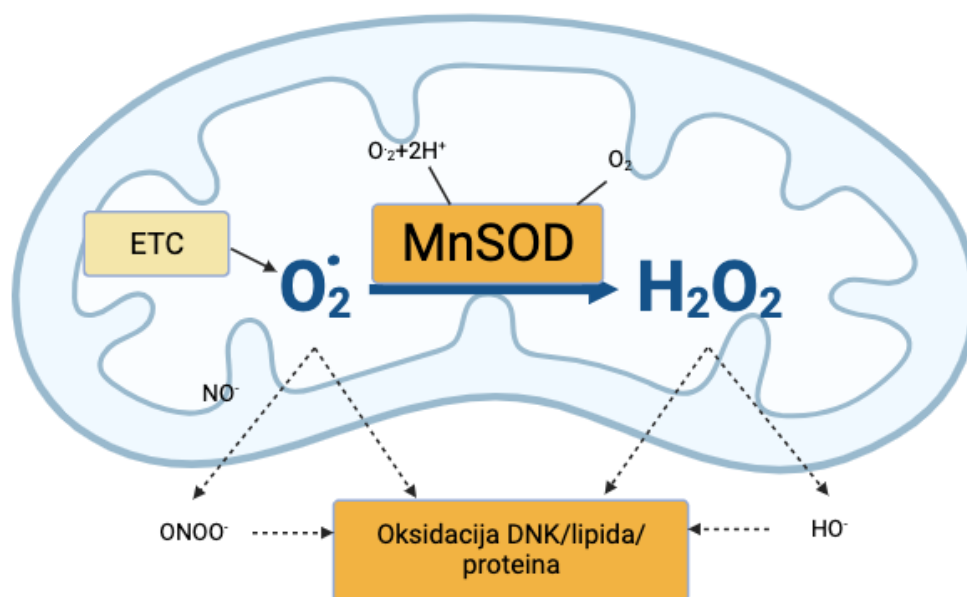
SOD2 je homotetramerni protein, kodiran nuklearnom genskom sekvencom DNK, koji se posttranslaciono transportuje u mitohondrije. Svaka subjedinica sadrži jon mangana ( $Mn^{2+}/Mn^{3+}$ ) kao kofaktor u aktivnom mestu (Valentino, 2022) (Slika 20).



Slika 20. Struktura superoksid dizmutaze 2 (MnSOD). (Izvor: Protein data bank, <http://www.rcsb.org>)

Naime, ćelijski kiseonični slobodni radikali endogeno dominantno nastaju u procesu mitohondrijalne oksidativne fosforilacije (Bae i sar, 2011; Ray i sar, 2012). Superoksid anjon i vodonik peroksid se smatraju fiziološki najrelevantnijim kiseoničnim slobodnim radikalima. Superoksid anjon se uglavnom generiše u kompleksima I i III mitohondrijalnog elektron transportnog lanca. Vodonik peroksid ( $H_2O_2$ ) nastaje dejstvom enzima superoksid dizmutaze, NADPH oksidaza 4 (NOX4), monoamino oksidaze i ksantin oksidaze unutar nekoliko različitih ćelijskih organela (endoplazmatski retikulum, mitohondrije i peroksizomi). Pored glutation peroksidaze, eliminaciju  $H_2O_2$  pretvaranjem u  $H_2O$  vrši i niz drugih antioksidativnih enzima kao što su katalaza, tioredoksin i peroksiredoksin (PRX) (Demir, 2020; Holley i sar, 2011; Lennicke i sar, 2021). S druge strane, SOD je najmoćniji čistač  $O_2\cdot^-$ , koji katališe dizmutaciju  $O_2\cdot^-$  u vodonik peroksid i molekularni kiseonik (Slika 21). MnSOD ima veliki značaj upravo zbog svoje uloge u neutralizaciji mitohondrijskog  $O_2\cdot^-$ , koji predstavlja glavni izvor ćelijskih kiseoničnih slobodnih radikala (Bresciani i sar, 2015). Promenjeni nivoi ekspresije MnSOD su otkriveni kod više bolesti i imaju širok uticaj na različite organe, praćene različitim patološkim promenama kao što su zapaljenje, fibroza, skleroza i degeneracija neurona (Liu i sar, 2022).





Slika 21. Dizmutacija superoksilnog anjona katalizovana MnSOD enzimom.

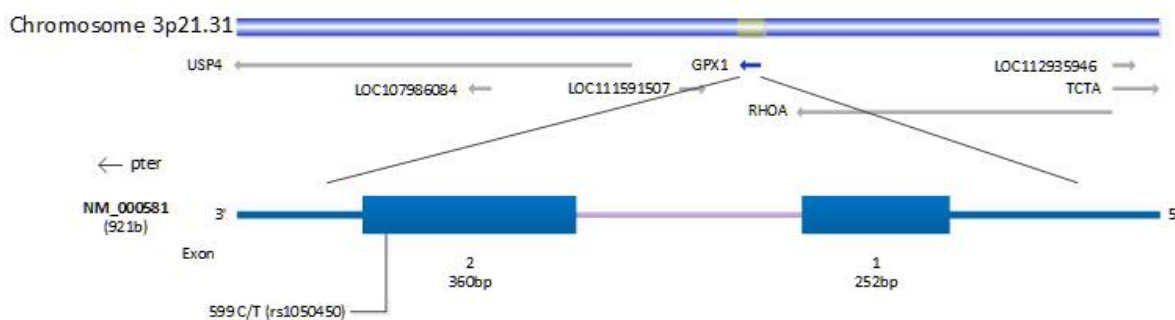
Oko predstavlja organ koji je izuzetno osetljiv na dejstvo oksidativnog stresa prvenstveno zbog izloženosti visokim količinama svetlosnih zraka, naročito ultravioletnog spektra, ali i zbog izloženosti uticaju hemijskih zagađivača životne sredine. Više studija je pokazalo uticaj disbalansa u redoks sistemu na razvoj i progresiju glaukoma (Izzotti i sar, 2006; Saccà i sar, 2008; Zanon-Moreno i sar, 2008). Takođe, određene studije su pokazale izmenjenu ekspresiju *MnSOD* gena u očnoj vodici kod osoba obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla (Bagnis i sar, 2012; Engin i sar, 2010). Do sada, svega nekoliko studija je istraživalo asocijaciju enzima MnSOD, kao i polimorfizama gena za *SOD2* sa glaukomom sa različitim rezultatima (Abu-Amero i sar, 2014; Celojevic i sar, 2014; Zhou i 2015).

## 1.5 Glutation peroksidaza 1

Jedan od najranije otkrivenih, ali i najviše proučavanih enzimskih sistema u redoks regulaciji čini sistem glutation peroksidaze. Takođe, citosolna glutation peroksidaza je prvi otkriveni selenoprotein kod kičmenjaka (Brigelius-Flohé i sar, 2020). Glutation peroksidaze čine enzimsku porodicu sastavljenu od različitih izoenzima koju karakteriše sposobnost inaktivacije visokoreaktivnih molekula reakcijama redukcije vodonik-peroksida i lipidnih hidroperoksida u kojima dolazi do oksidacije glutationa (Brigelius-Flohé i sar, 2020). Ovu heterogenu familiju enzima čine osam različitih molekula koje se strukturno dominantno razlikuju po aktivnom mestu, pet članova (GPX 1-4 i GPX 6) ima selenocistein (Sec), dok je kod ostala tri člana (GPX 5, 7 i 8) prisutan cistein (Cis). Članovi GPX familije nalaze se u različitim ćelijskim odeljcima i ostvaruju svoju ulogu u različitim tkivima. GPX1 je ubikvitarno prisutna u citosolu i mitohondrijama, GPX2 u gastrointestinalnom epitelu, GPX3 se nalazi ekstracelularno, u plazmi (Brigelius-Flohé i sar, 2013). GPX4 je prisutna u fosfolipidima i štiti ćelijske membrane od oštećenja posredovanih ROS. GPX5, koja za razliku od prethodno navedenih izoenzima u aktivnom mestu sadrži cistein, pronađena je u tkivu epididimisa, a GPX6 ostvaruje ulogu u olfaktornom epitelnom tkivu (Ghyselinck i sa, 1990; Kryukov i sar, 2003). Heterogenost izoenzima koji su u sastavu GPX

porodice manifestuje se i u različitim biohemijskim osobinama i funkcijama, kao i različitoj hromozomskoj poziciji genskih lokusa (Flohé i sar, 2022).

### 1.5.1.1 Hromozomska lokalizacija gena i organizacija



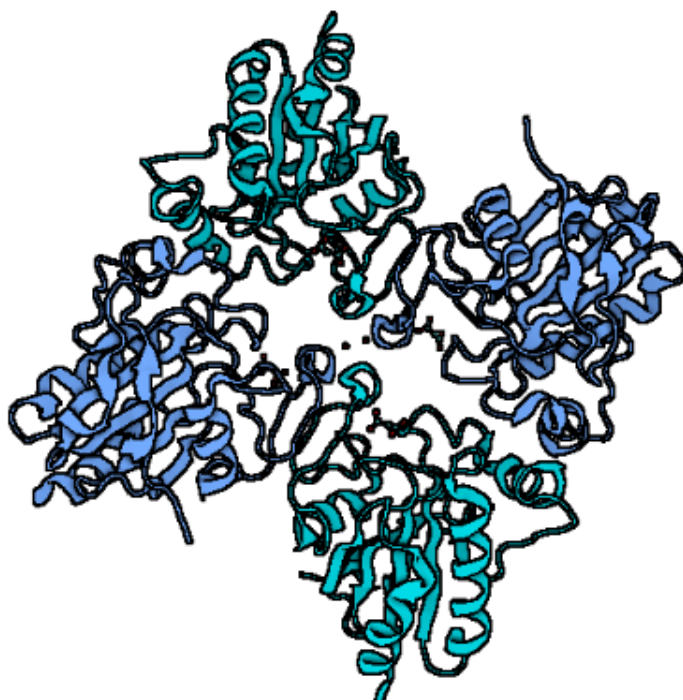
Slika 22. Lokacija *GPX1* gena na hromozomu 3. Izvor: Jerotic i sar, 2019.

*GPX1* gen, koji kodira najrasprostranjeniju izoformu glutation peroksidaze – GPX1 selenoprotein, nalazi se na hromozomu 3p21.31 (Slika 22). Čine ga dva egzona od ukupno 1178 baznih parova. Detektovano je i opisano nekoliko različitih polimorfizama *GPX1* gena. Jedan od široko analiziranih *GPX* polimorfizama je *GPX1 rs1050450* jednonukleotidni polimorfizam (*SNP*) (*GPX1\**C593T**), gde je citozin zamenjen timinom, dok je u enzimskoj izoformi amino kiselina prolin supstituisana leucinom (Lubos i sar, 2011). Polimorfizam *GPX1\**C593T** spada u funkcionalne polimorfizme koji menjaju ekspresiju iRNK i aktivnost enzima (Hamanishi i sar, 2004). Ovaj polimorfizam je bio predmet mnogih istraživanja povezanih sa onkogenezom zbog pretpostavke da narušava ravnotežu redoks sistema (Zhao i sar, 2022). Nosioce ovog polimorfizma karakteriše smanjena katalitička funkcija enzima, afinitet ka supstratu, kao i narušena strukturna stabilnost (Zeškova i sar, 2012). Takođe, istraživanjima u zdravoj populaciji je pokazano da muški nosioci homozigotnog polimorfizma ovog gena imaju nižu enzimsku aktivnost GPX1 (Bastaki i sar, 2006).

Mnoge studije su ispitivale udruženost *GPX* polimorfizama i drugih oboljenja uključujući i onkološka, vaskularna, ali i neurodegenerativna oboljenja kao što je Alchajmerova bolest (Rocha i sar, 2018; Zhao i sar, 2022). S obzirom na činjenicu da polimorfizam *GPX1\**C593T** karakteriše redukovana enzimaska aktivnost GPX1 i shodno tome doprinosi oštećenju tkiva posredovanog oksidativnim stresom, pretpostavlja se da ovaj polimorfizam može imati i značajnu ulogu u nastanku glaukomske optičke neuropatije. Autorima je poznata samo jedna studija koja je pokazala statistički značajnu asocijaciju između *GPX1\**C593T** polimorfizma i težine glaukoma. Naime, Atanasovska i sar. su pokazali da je učestalost mutirane genske varijante veća u uznapredovalim stadijumima POAG (19.3% ranom, 23.3% u umerenom i 39.3% u uznapredovalom glaukomu) (Atanasovska Velkovska i sar, n.d.).

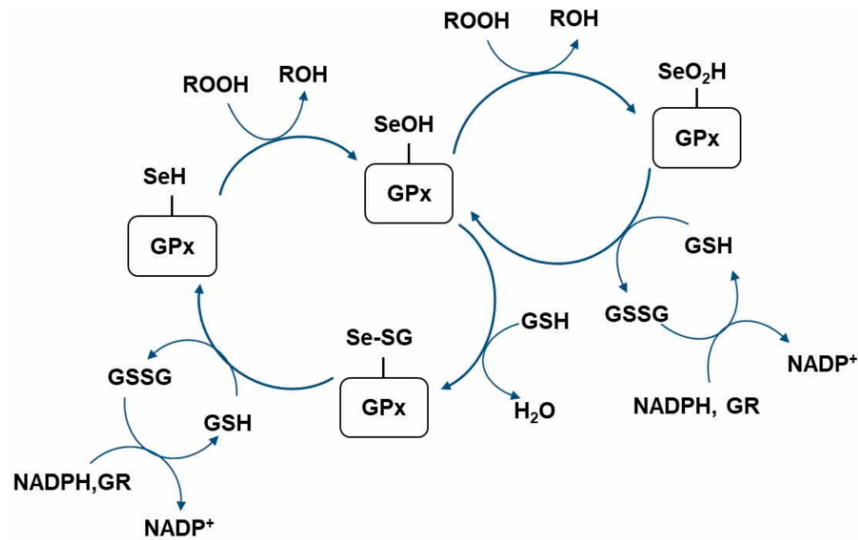
## 1.5.2 Proteinska struktura i funkcija GPX1

GPX1 je po strukturi homotetramer sa selenocisteinom u aktivnom mestu (Slika 23). Svaka subjedinica ima molekularnu težinu od 22-23kD i čine je 208 aminokiselina (Zhao i sar, 2022). Kao i druge glutation peroksidaze, GPX1 ima visoku očuvanu katalitičku tetradu sačinjenu od selenocisteina, glutamina (Gln), triptofana (Trp) i asparagina (Asp). (Zhao i sar, 2022). U ovom izoenzimu reaktivni selenocistein je okružen sa četiri molekula arginina (R 57, 103, 184, 185) i sa lizinom koji pripada susednoj subjedinici (K 91')(Brigelius-Flohé i sar, 2020). Smatra se da ovi rezidualni aminokiselinski ostaci vezuju glutation, što je potvrđeno strukturalnim i eksperimentalnim studijama (Flohé i sar, 2011). Ovih pet aminokiselina nisu prisutne u drugim članovima glutation peroksidaza i smatra se da je to i uzrok smanjenog afiniteta tih enzima za GSH.



Slika 23. Trodimenzionalna struktura glutation peroksidaze 1  
(Izvor: Protein data bank, <http://www.rcsb.org>) BIOrender

Neutralisanje superoksid anjona kao jednog od glavnih oblika ROS se dešava u dve faze. U prvoj fazi,  $O_2^{\cdot -}$  se redukuje do vodonik peroksida u reakciji koju katališu enzimi iz grupe SOD koji se nalaze u citosolu, mitohondrijama i ekstracelularno. GPX selenoproteini zatim redukuju vodonik peroksid, ali i druge reaktivne oblike kiseonika i azota nastale u situacijama oksidativnog stresa, kao što su lipidni hidroperoksidi i peroksinitriti. Enzimaska redukcija peroksida katalizovana pomoću GPX1 dovodi do intermedijarne modifikacije selenocisteina unutar aktivnog mesta, te se prateći reakciju sa peroksidom, aktivno mesto selenola (Se-H) transformiše u selensku kiselinu (Se-OH) (Slika 24) (Günzler i sar, 1974). Jedan GSH molekul redukuje Se-OH u intermedijarni glutationilisani selenol (Se-SG). Drugi GSH redukuje vezu Se-SG koja posledično obnavlja aktivno mesto i formira oksidovani glutation (GSSG) (Günzler i sar, 1974).



Slika 24. Redukcija peroksida pomoću GPX1. Izvor (Zhang i sar, 2020)

S obzirom da je glavni supstrat GPX,  $H_2O_2$ , poznat kao značajan signalni molekul, kao i na činjenicu da postoje dokazi i da peroksinitriti učestvuju u regulaciji signalnih puteva, regulatorna uloga GPX se ne može zanemariti (Brigelius-Flohé i sar, 2020). Glutation peroksidaze mogu da utiču na metaboličke regulatorne procese na različite načine:

- mogu kompetitivno da reaguju sa redoks regulisanim proteinima za hidroperoksidi koji se koriste kao signalni molekuli,
- mogu da onemoguće funkciju enzima koji zahtevaju hidroperoksidi da bi se aktivirali,
- mogu biti prolazno inaktivisani, čime se čuvaju hidroperoksidi za potrebe signalizacije,
- mogli bi da koriste hidroperoksidi za izgradnju Se-tioiliranih homo- ili heterodimera ili polimera (Brigelius-Flohé i sar, 2020).

## **2 CILJEVI**

1. Utvrditi da li postoji uticaj genskih polimorfizama glutation transferaza *GSTM1*, *GSTP1* (rs1695 i rs1138272), *GSTO1* (rs 4925), *GSTO2* (rs156697) i *GSTT1* na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.
2. Ispitati da li postoji udruženi uticaj genskih polimorfizama *GSTM1* i *GSTT1* na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.
3. Ispitati da li postoji udruženi uticaj genskih polimorfizama *GSTO1* i *GSTO2* na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.
4. Utvrditi da li postoji uticaj genskih polimorfizama *GPX1* 1 rs1050450 i *SOD2* rs4880 na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.
5. Ispitati da li postoji udruženi uticaj genskih polimorfizama *GPX1* rs1050450 i *SOD2* rs4880 na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.



### **3 PACIJENTI I METODE**

### 3.1 Vrsta studije

Studija je dizajnirana i izvedena po tipu studije slučajeva i kontrola.

### 3.2 Ispitanici

U studiju su uključena 102 pacijenta obolela od primarnog glaukoma otvorenog ugla od kojih je 45 ispitanika bilo muškog, a 57 ženskog pola. Kontrolnu grupu su činila 302 ispitanika odgovarajućeg pola i starosti. Uzorci kontrolne grupe su deo postojeće biobanke na Institutu za medicinsku i kliničku biohemiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Prosečna starost obolelih je iznosila  $72,47 \pm 8,30$ , dok je prosečna starost ispitanika u kontrolnoj grupi iznosila  $71,06 \pm 7,81$  godina. Svi pacijenti su lečeni na Klinici za očne bolesti „Prof. dr Ivan Stanković” Kliničko bolničkog centra Zvezdara u Beogradu.

#### 3.2.1 Etički kriterijumi

Istraživanje je sprovedeno u skladu sa normama istaknutim u Helsinškoj deklaraciji (verzija iz 2013. godine). Studiju je odobrio Etički komitet Kliničko bolničkog centra Zvezdara i Etički komitet Medicinskog fakulteta u Beogradu (rešenje broj: 2650/X-21), gde su istraživanja i obavljena. Svi ispitanici su potpisali informisani pristanak nakon što su upoznati sa protokolom istraživanja i dobrovoljno su učestvovali u studiji.

#### 3.2.2 Anamnestički podaci

Osnovni demografski i anamnestički podaci svih učesnika u istraživanju su prikupljeni strukturisanim upitnikom na osnovu koga su evidentirane i detaljne informacije o hipertenziji, dijabetesu i pušačkom statusu ispitanika uključujući dužinu trajanja pušačkog staža i broj popušanih cigareta. Za potrebe ove studije, kao pušači su označeni ispitanici koji su pušili cigarete svakodnevno tokom minimum šezdeset dana pre uključivanja u studiju. Gojaznim su se smatrali oni ispitanici čiji je indeks telesne mase (ITM) iznosi preko  $30\text{kg/m}^2$ . Uvidom u medicinsku dokumentaciju ispitanika utvrđeno je prisustvo drugih očnih i/ili sistemskih oboljenja, prvenstveno povišenog krvnog pritiska i dijabetesa. Takođe, na osnovu medicinske dokumentacije evidentirane su vrednosti intraokularnog pritiska ispitanika pre započinjanja antiglaukomske terapije i dužina korišćenja terapije.

#### 3.2.3 Kriterijumi za uključivanje i isključenje

U istraživanje su uključeni svi pacijenti sa klinički potvrđenom dijagnozom primarnog glaukoma otvorenog ugla koji su ispunjavali sledeće kriterijume:

- otvoren iridokornealni ugao pri gonioskopiji,
- ekskavacija glave vidnog živca karakteristična za primarni glaukom otvorenog ugla i
- tipični glaukomi ispadu u vidnom polju detektovani kompjuterizovanom perimetrijom.

Kriterijumi za isključenje iz studije su bili:

- prisustvo bilo kog drugog tipa glaukomske neuropatije uključujući glaukom zatvorenog ugla,
- sekundarni glaukom,
- svi tipovi glaukoma kod dece,
- prisustvo hronične inflamacije, kao i
- podaci o traumi oka.

Kontrolnu grupu su činili zdravi ispitanici bez prisustva prethodnih ili trenutnih oboljenja oka.

### 3.2.4 Klinički pregled

Nakon popunjavanja upitnika, svim ispitanicima je urađen detaljan oftalmološki pregled koji je obuhvatao sledeće segmente:

- određivanje najbolje korigovane vidne oštine, engl. *best corrected visual acuity* (BCVA),
- merenje intraokularnog pritiska,
- pregled prednjeg segmenta oka na biomikroskopu,
- pregled irido-kornealnog ugla gonioskopijom,
- pregled zadnjeg segmenta očne jabučice u midrijazi (sol. Tropicamid 1%),
- funkcionalna oštećenja, odnosno ispadi u vidnom polju su određeni metodom standardne automatizovane perimetrije (Humphrey Field Analyzer, Carl Zeiss Meditec, Jena, Germany, Swedish Interactive Testing Algorithm (SITA) standardna strategija).

Određivanje vidne oštine je vršeno korišćenjem optotipa po Snellenu. Standardnom metodom ispitivanja prvo je određivana nativna vidna oštrina na udaljenosti od 6m za svako oko ponaosob, potom najbolje korigovana vidna oštrina koja je izražena decimalnim brojem. Nakon određivanja najbolje korigovane vidne oštine, za svakog ispitanika određen je i zabeležen refrakcioni status. Kao emetropi su označeni ispitanici bez prisutne refrakcione anomalije, dok su ostali u zavisnosti od vrste registrovane refrakcione anomalije svrstani u kategorije miopije, hipermetropije ili astigmatizma.

Merenje intraokularnog pritiska je izvršeno aplanacionom metodom po Goldmann-u koja i dalje predstavlja najpouzdaniju metodu korišćenu u redovnoj kliničkoj praksi za precizno merenje IOP-a. Goldmann-ova aplanaciona metoda se zasniva na Imbert-Fick-ovom zakonu, a u upotrebi je od 1948. godine i predstavlja zlatni standard u merenju IOP-a (Goldmann i sar, 1957). Merenje se vrši uz pomoć biomiskoskopa koji u svom sastavu ima aplanacioni tonometar. Pacijentima je aplikovan lokalni anestetik sol. Tetracain 1%, a zatim je izvršeno bojenje prekornealnog suznog filma natrijum-fluoresceinom. Pri merenju IOP-a vrh prizme Goldmann-ovog tonometra aplanira centralni deo rožnjače površine 7.35mm<sup>2</sup>, a vrednost intraokularnog pritiska je direktno proporcionalna sili neophodnoj za aplanaciju. Posmatrano pod kobaltno plavim osvetljenjem, natrijum-fluorescein omogućava vidljivost polukružnih linija indukovanih aplanacijom rožnjače. Kada dobijemo adekvatnu aplanaciju, odnosno kada se polukružne linije dodiruju unutrašnjim ivicama, vrednost IOP-a izražena u mmHg se direktno očitava sa skale na aplanacionom tonometru.

Pregled prednjeg segmenta oka je izvršen na biomikroskopu standardnom metodom i obuhvatao je detaljan pregled i opis kapaka, trepavica, vežnjače, beonjače, rožnjače, prednje očne komore, dužice, pupilarnog otvora i sočiva.

Nakon aplikacije lokalnog anestetika (Sol. Tetracain 1%) izvršen je gonioskopski pregled iridokornealnog ugla. Stepent otvorenosti ugla gradiran je koristeći Schafferovu skalu, dok je stepent pigmentacije označen na osnovu sistema gradacije po Scheieju. U studiju su uključeni samo oboleli od primarnog glaukoma otvorenog ugla, bez prisutnih znakova okludabilnog ili zatvorenog iridokornealnog ugla.

Pregled zadnjeg segmenta očne jabučice je izvršen nakon postignute midrijaze indukovane topikalnom primenom sol. Tropicamid 1%. Pregled je izvršen indirektnom biomikroskopijom uz pomoć lupe *Volk Digital Wide Field*. Izvršena je detaljna analiza glave vidnog živca i svih ostalih parametara očnog dna (krvnih sudova, makule, srednje i kranje periferije retine).

### 3.2.5 Uzimanje uzoraka

Svim učesnicima su uzeti uzorci pune krvi (3ml) sa EDTA kao antikoagulansom na Klinici za očne bolesti, KBC Zvezdara. Izolacija DNK, kao i dalja analiza polimorfizama glutation transferaza, superoksid dizmutaze 2 i glutation peroksidaze 1 je obavljena na Institutu za medicinsku i kliničku biohemiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Izolacija DNK je izvršena pomoću QIAamp® DNA mini kita (QIAGEN Group) iz leukocita periferne krvi. Čelijske membrane leukocita su lizirane delovanjem deterdženta, dok su enzimskom digestijom proteinaze K uklonjeni proteini vezani za DNK. Dobijeni lizat se prenosio u QIAamp® mini spin kolonu sa silika-membranom koja selektivno vezuje DNK. Pomoću sadržaja soli i pH lizata se vršilo optimalno spajanje DNK sa silika-membranom, ali se takođe sprečavalo zadržavanje kontaminanata, koji mogu da inhibiraju PCR reakciju, na QIAamp® membrani. Zaostali kontaminanti su se uklanjali ispiranjem vezane DNK sa dva različita pufera iz QIAamp® DNA mini kita. DNK je na kraju eluirana sa kolone puferom (sastojci: 10mM tris HCl, 0,5 mM EDTA ph 9,0), uzorak je alikvotiran i čuvan na -20°C do izvođenja daljih analiza na Institutu za medicinsku i kliničku biohemiju. Za dokazivanje uspešnosti postupka izolacije DNK izvođena je horizontalna elektroforeza na 1% agaroznom gelu.

### 3.3 Određivanje *GSTM1* i *GSTT1* polimorfizama

Delecioni genski polimorfizmi *GSTM1* i *GSTT1* su određivani po modifikovanoj multipleks PCR metodi Abdel-Rahmana i saradnika (Abdel-Rahman i sar., 1996).

Fragmenti izolovane genomske DNK su umnoženi u PCR reakcionoj smeši, ukupne zapremine od 25 µl, koja je sadržala 7,5 pmol sledećih prajmera:

*GSTM1*: Forward 5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3'  
Reverse 5'-GTTGGGCTCAAATATACGGTGG-3'

*GSTT1*: Forward 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATC TC-3'  
Reverse 5'-TCACCGGATCATGGCCAG CA-3'

Kao interna pozitivna kontrola umnožen je *CYP1A1* gen korišćenjem sledećih prajmera:

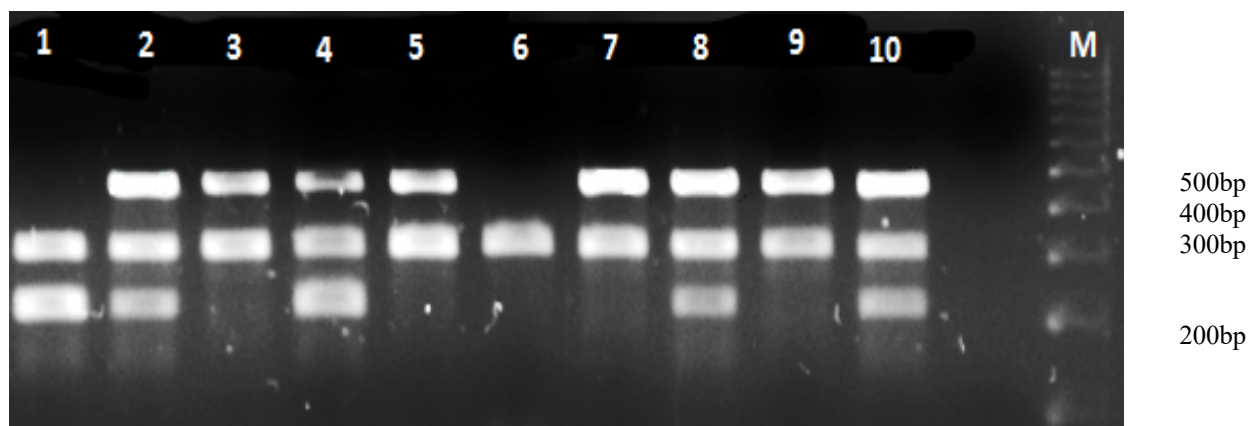
*CYP1A1*: Forward 5'-GAACTGCCACTTCAGCTGTCT-3'  
Reverse 5'- CAGCTGCATTTGGAAGTGCTC-3'

Genomska DNK uzorka (~50 ng) dodavana je u PCR reakcionu smešu, ukupne zapremine 25µl, u kojoj se nalazilo po 7,5 pmol svih prajmera i 12,5 µl PCR Master Mix (Fermentas, USA). PCR Master Mix je imao 0,005U/µl Taq DNK polimeraze, 4 mmol MgCl<sub>2</sub> i 0,4 mmol dNTP u reakcionom puferu.

Inicijalna denaturacija DNK uzorka je trajala 4 minuta na temperaturi od 94°C. Nakon toga je usledilo 30 ciklusa u kojima su se smenjivala tri koraka: denaturacija na 94°C (30 sekundi), pripajanje prajmera (engl. *annealing*) na 59°C (30 sekundi) i ekstenzija prajmera na 72°C (45 sekundi). Po završetku finalnog ciklusa usledila je poslednja ekstenzija u trajanju od 5 minuta na 72°C pre hlađenja.

Nakon PCR reakcije, pristupilo se utvrđivanju prisustva i veličine dobijenih PCR proizvoda pomoću elektroforeze na 2% agaroznom gelu. Sama elektroforeza je trajala 21 minut pri naponu od 125V (0,27A i 50W). Vizuelizacija PCR proizvoda izvođena je na UV kameri Chemidoc (Biorad, Hercules, California, USA) pomoću pomoću SYBR® Safe DNA Gel Stain (Invitrogen Corporation, Carlsbad, California, USA). U svakoj seriji uzoraka se nalazila pozitivna i negativna kontrola. Internu pozitivnu kontrolu je činio *CYP1A1* gen sa trakom veličine 312 baznih parova (bp). DNK uzorci sa

aktivnim *GSTM1* genotipom imali su prisutnu traku veličine 215 bp, dok je traka veličine 480 bp ukazivala na aktivan *GSTT1* genotip. Odsustvo traka od 215 bp i 480 bp je ukazivalo na deleciju gena za *GSTM1* (*GSTM1* nulti genotip), odnosno *GSTT1* (*GSTT1* nulti genotip) (Slika 24).



Slika 24. Analiza genskih varijanti *GSTM1* i *GSTT1* multipleks PCR metodom.

(Uočava se da je u svim trakama prisutna traka veličine 312 baznih parova (bp), odnosno CYP gen koji predstavlja internu pozitivnu kontrolu. Slovom M je označen marker molekularskih veličina (broj baznih parova). Trake 3, 5, 7, 9 pokazuju traku veličine 480 bp, odnosno prisustvo *GSTT1* aktivnog genotipa i odsustvo trake veličine 215 bp, odnosno *GSTM1* nulti genotip. Traka 6 ne poseduje traku veličine 480 bp, kao ni traku od 215 bp, odnosno pokazuje *GSTT1* nulti i *GSTM1* nulti genotip. Trake 2, 4, 8 poseduju trake i od 480 i od 215 bp, odnosno pokazuju prisustvo *GSTT1* i *GSTM1* aktivnog genotipa. Traka 1 pokazuje traku veličine 215 bp, odnosno prisustvo *GSTM1* aktivnog genotipa i odsustvo trake veličine 480 bp, odnosno *GSTT1* nulti genotip)

### 3.4 Određivanje *GSTO1* polimorfizma

Polimorfizam *GSTO1* Ala140Asp (rs 4925) je određivan korišćenjem Applied Biosystems TaqMan® Drug Metabolism Genotyping eseja (Life Technologies, Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA, Assay ID: C\_\_11309430\_30).

Koncentracija DNK je određena na GeneQuant pro (Biochrom, Cambridge, England) aparatu. Uzorci DNK, kao i pozitivna i negativna kontrola, su nanoseni na ploču sa 96 bunarčića tako da se da nakon uparavanja DNK na 65°C (Mastercycler gradient thermal cycler, Eppendorf, Hamburg, Germany) u svakom odgovarajućem bunarčiću našla ista količina DNK.

Reakciona mešavina sačinjena od PCR MasterMix-a (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) i fluorescentno obeležene probe je nanosena uz pomoć EppMotion robota (Eppendorf, Hamburg, Germany) dok je PCR amplifikacija i očitavanje fluorescence izvedeno metodom real time PCR-a (Mastercycler ep realplex, Eppendorf, Hamburg, Germany).

### 3.5 Određivanje *GSTO2* polimorfizma

Polimorfizam *GSTO2* Asn142Asp (rs156697) je određivan korišćenjem Applied Biosystems TaqMan® Drug Metabolism Genotyping eseja (Life Technologies, Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA, Assay ID: C\_3223136\_1).

Koncentracija DNK je određena na GeneQuant pro (Biochrom, Cambridge, England) aparatu. Uzorci DNK, kao i pozitivna i negativna kontrola, su nanoseni na ploču sa 96 bunarčića tako da se nakon uparavanja DNK na 65°C (Mastercycler gradient thermal cycler, Eppendorf, Hamburg, Germany) u svakom odgovarajućem bunarčiću našla ista količina DNK. Reakciona mešavina sačinjena od PCR MasterMix-a (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) i fluorescentno obeležene probe su nanosene uz pomoć EppMotion robota (Eppendorf, Hamburg, Germany) dok je PCR amplifikacija i očitavanje fluorescence izvedeno metodom real time PCR-a (Mastercycler ep realplex, Eppendorf, Hamburg, Germany).

### 3.6 Određivanje *GSTP1* polimorfizma

Polimorfizam *GSTP1* Ile105Val (rs1695) je određivan korišćenjem Applied Biosystems TaqMan® Drug Metabolism Genotyping eseja (Life Technologies, Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA, Assay ID: C\_3237198\_20).

Koncentracija DNK je određena na GeneQuant pro (Biochrom, Cambridge, England) aparatu. Uzorci DNK, kao i pozitivna i negativna kontrola, su nanošeni na ploču sa 96 bunarčića tako da se nakon uparavanja DNK na 65°C (Mastercycler gradient thermal cycler, Eppendorf, Hamburg, Germany) u svakom odgovarajućem bunarčiću našla ista količina DNK. Reakciona mešavina sačinjena od PCR MasterMix-a (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) i fluorescentno obeležene probe je nanosena uz pomoć EppMotion robota (Eppendorf, Hamburg, Germany) dok se PCR amplifikacija i očitavanje fluorescence izvodila metodom real time PCR-a (Mastercycler ep realplex, Eppendorf, Hamburg, Germany).

Polimorfizam *GSTP1* Ala114Val (rs1138272) je određivan korišćenjem Applied Biosystems TaqMan® Drug Metabolism Genotyping eseja (Life Technologies, Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA, Assay ID: C\_1049615\_20).

Koncentracija DNK je određena na GeneQuant pro (Biochrom, Cambridge, England) aparatu. Uzorci DNK, kao i pozitivna i negativna kontrola, su nanošeni na ploču sa 96 bunarčića tako da se nakon uparavanja DNK na 65°C (Mastercycler gradient thermal cycler, Eppendorf, Hamburg, Germany) u svakom odgovarajućem bunarčiću nađe ista količina DNK.

Reakciona mešavina sačinjena od PCR MasterMix-a (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) i fluorescentno obeležene probe je nanosena uz pomoć EppMotion robota (Eppendorf, Hamburg, Germany) dok se PCR amplifikacija i očitavanje fluorescence izvodilo metodom real time PCR-a, Mastercycler ep realplex (Eppendorf, Hamburg, Germany).

### 3.7 Određivanje *GPXI* polimorfizma

Polimorfizam *GPXI* Pro198Leu (rs1050450) je određivan korišćenjem Applied Biosystems TaqMan® Drug Metabolism Genotyping eseja (Life Technologies, Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA, Assay ID: C\_1623856).

Koncentracija DNK je određena na GeneQuant pro (Biochrom, Cambridge, England) aparatu. Uzorci DNK, kao i pozitivna i negativna kontrola, su nanošeni na ploču sa 96 bunarčića tako da se nakon uparavanja DNK na 65°C (Mastercycler gradient thermal cycler, Eppendorf, Hamburg, Germany) u svakom odgovarajućem bunarčiću nađe ista količina DNK.

Reakciona mešavina sačinjena od PCR MasterMix-a (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) i fluorescentno obeležene probe je nanosena uz pomoć EppMotion robota (Eppendorf, Hamburg, Germany) dok se PCR amplifikacija i očitavanje fluorescence izvodilo metodom real time PCR-a (Mastercycler ep realplex, Eppendorf, Hamburg, Germany).

### 3.8 Određivanje *SOD2* polimorfizma

Polimorfizam *SOD2* Ala16Val (rs4880) je određivan korišćenjem Applied Biosystems TaqMan® Drug Metabolism Genotyping eseja (Life Technologies, Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA, Assay ID: C\_870953\_10).

Koncentracija DNK je određena na GeneQuant pro (Biochrom, Cambridge, England) aparatu. Uzorci DNK, kao i pozitivna i negativna kontrola, su nanošeni na ploču sa 96 bunarčića tako da se da nakon uparavanja DNK na 65°C (Mastercycler gradient thermal cycler, Eppendorf, Hamburg, Germany) u svakom odgovarajućem bunarčiću nađe ista količina DNK.

Reakciona mešavina sačinjena od PCR MasterMix-a (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) i fluorescentno obeležene probe je nanosena uz pomoć EppMotion robota (Eppendorf, Hamburg, Germany) dok se PCR amplifikacija i očitavanje fluorescence izvodilo metodom real time PCR-a (Mastercycler ep realplex, Eppendorf, Hamburg, Germany).

### 3.9 Statistička analiza

Statistička deskripcija prikupljenih podataka i analiza dobijenih rezultata urađeni su pomoću statističkog programa SPSS (engl. *Statistical Package for the Social Sciences*, verzija 17.0; SPSS Inc, Čikago, Illinois, SAD). Normalnost raspodele podataka je proverena Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Statistička značajnost razlike između grupe bolesnika sa glaukomom i kontrolne grupe je ispitivana Studentovim t-testom za kontinuirane varijable sa normalnom raspodelom, dok je  $\chi^2$  test upotrebljen za kategorijalne varijable. Statistička analiza je uključivala, pored deskriptivne statistike, procenu da li se odgovarajući genotipovi nalaze u Hardi-Vajnbergovom ekvilibrijumu i primenu  $\chi^2$  testa za determinisanje značajnosti razlike u frekvenciji dobijenih genotipova između pripadnika studijske i kontrolne grupe. Postojanje značajnosti razlike učestalosti pojedinih genotipova, u studijskoj i kontrolnoj grupi, procenjivano je univarijantnom logističkom regresionom analizom na osnovu veličine i značajnosti odnosa šansi (engl. *odds ratio*, OR) sa intervalom poverenja od 95% (engl. *confidence interval*, CI). Zbog distribucije naših podataka i prethodnog znanja o glaukomu, OR smo korigovali u odnosu na pol, starost, pušenje, indeks telesne mase (ITM), povišeni krvni pritisak i dijabetes zbog potencijalnog efekta u multivarijantnom logističkom regresionom modelu.

## **4    REZULTATI**



U sprovedenoj studiji određivani su genski polimorfizmi *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *GSTO1*, *GSTO2* i analiziran je njihov efekat na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla. Pored toga, identifikovani su ispitanici u grupi obolelih i kontrolnoj grupi sa poznatim faktorima rizika (hipertenzija, dijabetes i pušenje), te je ispitan udruženi efekat genskih polimorfizama *GSTM1*, *GSTP1*, *GSTO1*, *GSTO2*, *GSTT1* i navedenih faktora rizika na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla. Dalje, određivani su genski polimorfizmi *GPXI* i *SOD2* i ispitan je njihov uticaj na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla. Takođe, ispitan je i udruženi uticaj navedenih genskih polimorfizama i potvrđenih faktora rizika, odnosno hipertenzije, dijabetesa i pušenja, na razvoj ovog tipa glaukoma.

#### 4.1 Demografske i kliničke karakteristike pacijenata sa primarnim glaukomom otvorenog ugla i kontrola

Odabrane demografske i kliničke karakteristike pacijenata obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla i odgovarajuće kontrolne grupe su predstavljene u Tabeli 2. U POAG grupi je bilo 102 pacijenta, od kojih 45 muškog, a 57 ženskog pola, dok je u kontrolnoj grupi bilo 302 ispitanika, 143 muškarca i 159 žena. Prosečna starost u grupi obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla je iznosila  $72,47 \pm 8,30$ , a u kontrolnoj grupi  $71,06 \pm 7,8$ . Nije uočena statistička značajnost u pogledu starosti, pola, indeksa telesne mase (ITM) i prevalencije pušenja među učesnicima. Procenat ispitanika koji su imali dijabetes ili arterijsku hipertenziju je bio statistički značajno veći u grupi pacijenata obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla u odnosu na kontrole ( $p < 0.001$ ) (Tabela 2).

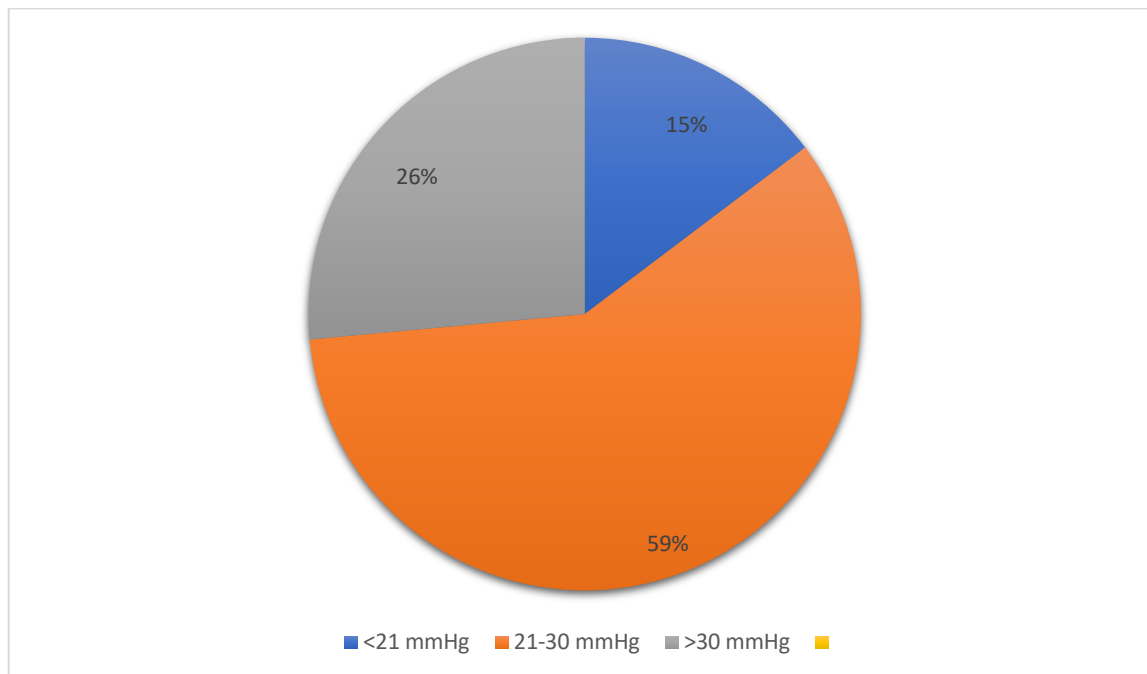
Prema podacima prikazanim u Tabeli 2 svi rezultati su korigovani u odnosu na hipertenziju i diabetes mellitus. Pored ove dve varijable rezultati su korigovani i u odnosu na pol, starost, indeks telesne mase i pušenje.

**Tabela 2.** Demografske i kliničke karakteristike POAG pacijenta i odgovarajućih kontrola

Varijabla	Kontrole	POAG pacijenti	p
Starost (godine) †	$71,06 \pm 7,81$	$72,47 \pm 8,30$	0,120
Pol (n‡, %)			
Muški	143 (47,4)	45 (44,1)	0,571
Ženski	159 (52,6)	57 (55,9)	
Indeks telesne mase ( $\text{kg/m}^2$ ) †	$26,29 \pm 4,25$	$26,17 \pm 3,24$	0,760
Pušenje (n, %)			
Ne	159 (53,5)	55 (53,9)	0,946
Da	138 (46,5)	47 (46,1)	
Hipertenzija (n, %)			
Ne	190 (67,1)	19 (19,0)	<0,001
Da	93 (32,9)	81 (81,0)	
Diabetes mellitus (n, %)			
Ne	198 (88,0)	73 (72,3)	<0,001
Da	27 (12,0)	28 (27,7)	

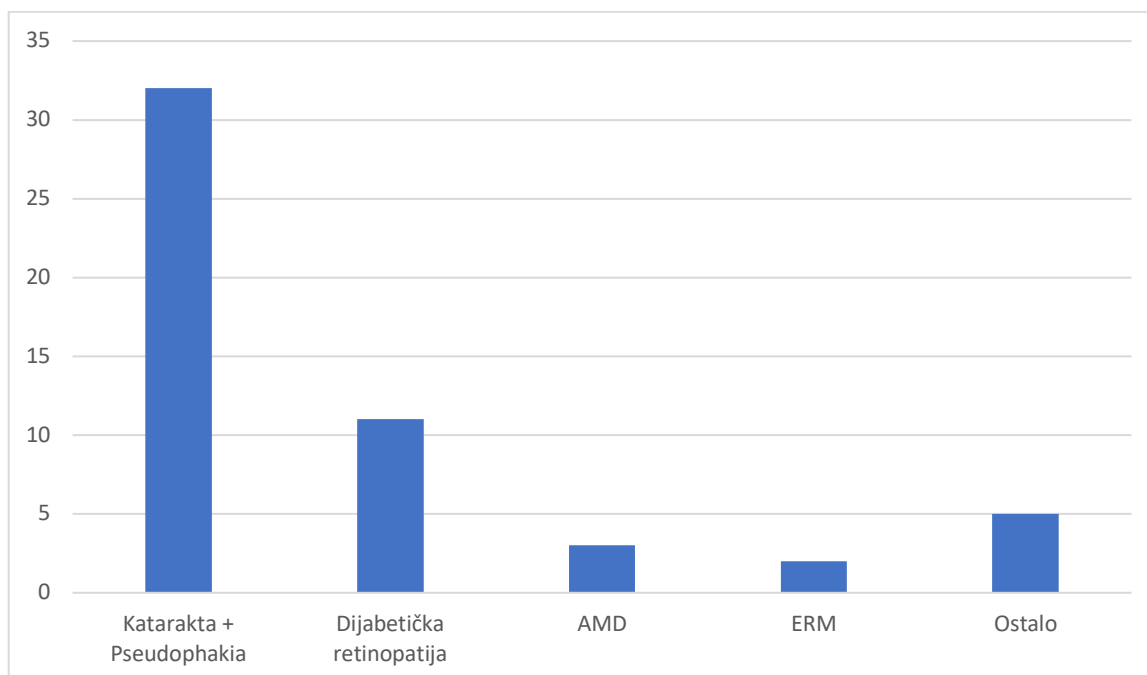
†prosečna vrednost  $\pm$  standardna devijacija (SD), ‡n, broj ispitanika,

Svim pacijentima obolelim od primarnog glaukoma otvorenog ugla su na osnovu medicinske dokumentacije evidentirane vrednosti intraokularnog pritiska pre započinjanja antiglaukomske terapije. Pacijenti su dalje podeljeni u tri grupe. Oni koji su imali intraokularni pritisak ispod 21 mmHg (n=15), pacijenti koji su imali intraokularni pritisak veći od 21 mmHg, ali niži od 30 mmHg (n=60) i oni koji su imali pritisak veći od 30 mmHg (n=27) (Slika 25).



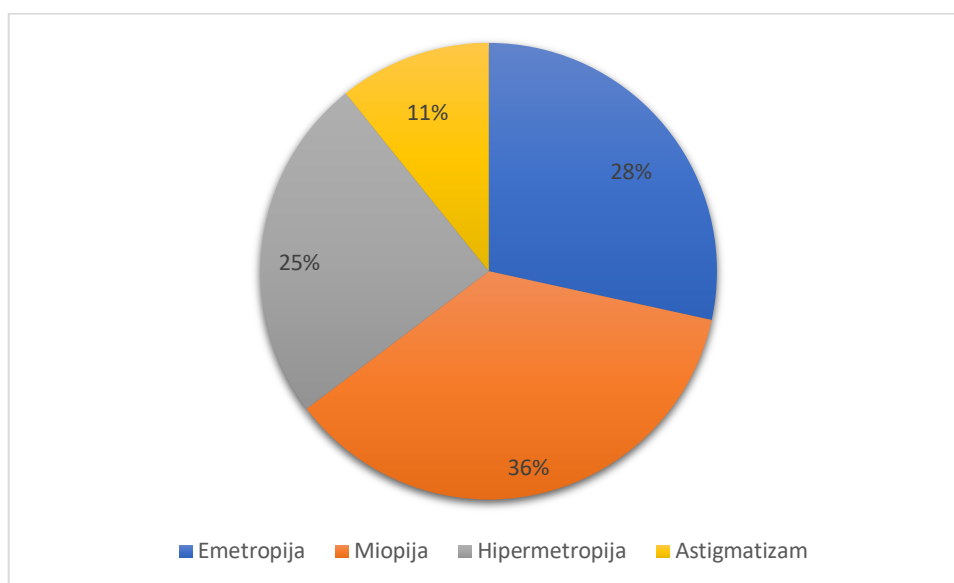
Slika 25. Procentualna zastupljenost bolesnika obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla prema vrednostima intraokularnog pritiska.

U grupi obolelih od POAG-a, 53 ispitanika je imalo udružena oftalmološka oboljenja. Najčešće udruženo očno oboljenje je bila katarakta. Kod 18 ispitanika katarakta je bila prisutna na oba oka, kod 8 ispitanika na jednom oku je bila urađena operacija katarakte (pseudophakia), dok je kod 6 ispitanika bila urađenu operacija katarakte obostrano. Sledeće udruženo oboljenje po učestalosti je dijabetička retinopatija (n=11), potom senilna degeneracija makule (AMD, n=3) i epiretinalna membrana (n=2). Takođe, po jedan ispitanik je imao Graves-ovu orbitopatiju, pterygium internum, Fuchs-ovu distrofiju, keratoconjunctivitis sicca i strabizam (Slika 26).



Slika 26. Distribucija udruženih oftalmoloških oboljenja kod pacijenata obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla.

Svim pacijentima iz grupe obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla određivan je refrakcioni status. Dobijeni rezultati su pokazali postojanje jedne od refrakcionih anomalija kod 73 pacijenta, dok su 29 pacijenata bili emetropi. Miopija, odnosno kratkovidost je bila najzastupljenija refrakciona anomalija, prisutna kod 37 pacijenata. Broj pacijenata sa hipermetropijom je iznosio 25, dok je astigmatizam detektovan kod 11 obolelih od POAG-a (Slika 27).



Slika 27. Procentualna distribucija učestalosti refrakcionih anomalija (miopije, hipermetropije i astigmatizma) kod bolesnika obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla

## 4.2 Povezanost *GSTM1* i *GSTT1* gena sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla

U tabeli 3 prikazane su učestalosti polimorfizama *GSTT1* i *GSTM1* gena u grupi obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla (POAG) i u kontrolnoj grupi. Kao aktivni genotip je označeno prisustvo bar jednog alela *GSTT1* ili *GSTM1* gena. Što se tiče *GSTT1* gena, aktivni genotip je bio statistički značajno zastupljeniji u grupi POAG pacijenata (84,5%) u odnosu na kontrolnu grupu ispitanika u kojoj je učestalost ovog genotipa iznosila (74,3%). Takođe, ispitanici koji su bili nosioci *GSTT1* aktivnog genotipa su imali dvostruko veći rizik za obolevanje od glaukomske optičke neuropatije u odnosu na ispitanike nosioce nultog *GSTT1* genotipa (OR=1,92, 95%CI=1,02-3,64, p=0,044) (Tabela 3).

Iako je učestalost *GSTM1* nultog genotipa bila veća u grupi obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla (52,6%) u odnosu na odgovarajuće kontrole (50,0%), prisutna razlika nije bila statistički značajna (OR=1,15, 95%, CI=0,71-1,89, p=0,569). Takođe, ispitanici nosioci *GSTM1* aktivnog i *GSTM1* nultog genotipa nisu se razlikovali po riziku za obolevanje od primarnog glaukoma otvorenog ugla.

**Tabela 3.** Povezanost delecionih *GSTM1* i *GSTT1* polimorfizama sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.

Varijabla	Kontrole (n <sup>§</sup> , %)	POAG pacijenti (n, %)	OR <sup>†</sup> (95% CI <sup>‡</sup> )	p*
<i>GSTT1</i>				
Nulti	52 (25,7)	15 (15,5)	1,00 (referentna grupa)	
Aktivni	150 (74,3)	82 (84,5)	1,92 (1,02-3,64)	0,044
<i>GSTM1</i>				
Aktivni	101 (50,0)	46 (47,4)	1,00 (referentna grupa)	
Nulti	101 (50,0)	51 (52,6)	1,15 (0,1-1,89)	0,569

<sup>†</sup>OR (engl. *odds ratio*), odnos šansi prethodne izloženosti kod slučajeva (prisutan događaj od interesa) i kontrola (odsutan događaj od interesa),

<sup>‡</sup>CI (engl. *confidence interval*), interval poverenja,

<sup>§</sup>n, broj ispitanika,

p < 0,005 je smatrano statistički značajnom razlikom,

\*p vrednost i OR su dobijeni na osnovu modela logističke regresije korigovanim u odnosu na starost i pol

## 4.3 Povezanost polimorfizama *GSTO1* i *GSTO2* gena sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla

U tabeli 4 su prikazane distribucije različitih genotipova *GSTO1* i *GSTO2* gena u grupi obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla i u kontrolnoj grupi. Najčešće prisutan alel je označen kao referentni, a nosioci ovog polimorfizma su pripadali referentnoj grupi. U grupi obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla učestalost genotipova *GSTO1* gena je iznosila, *GSTO1*\*CC 41,2%, *GSTO1*\*CA 43,3% i *GSTO1*\*AA 15,5%, dok je u kontrolnoj grupi *GSTO1*\*CC genotip imalo 41,1% ispitanika, genotip *GSTO1*\*CA je bio prisutan kod 49,3% učesnika, a *GSTO1*\*AA je imalo 9,6% ispitanika. Iako je u ovom istraživanju primećena veća zastupljenost homozigotnih nosilaca varijantnog alela (*GSTO1*\*AA) u POAG grupi u odnosu na kontrolnu grupu, nije pokazana statistički značajna

povezanost između polimorfizama *GSTO1* gena sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla (OR=1,43, 95%CI=0,60-3,42, p=0,418).

U grupi obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla učestalost genotipova *GSTO2* gena je iznosila, *GSTO2*\*AA 44,3%, *GSTO2*\*AG 41,2% i *GSTO2*\*GG 14,4%, dok je u kontrolnoj grupi *GSTO2*\*AA genotip imalo 46,1% ispitanika, genotip *GSTO2*\*AG je bio prisutan kod 45,7% učesnika, a *GSTO2*\*GG je imalo 8,2% ispitanika. Rezultati istraživanja povezanosti polimorfizama *GSTO2* pokazali su da nosioci *GSTO2*\*GG genotipa imaju dvostruko veći rizik za nastanak POAG-a, međutim ovaj rezultat nije bio statistički značajan (OR=2,15; 95%CI=0,92-5,04; p=0,077) (Tabela 4).

**Tabela 4.** Povezanost *GSTO1* rs4925 i *GSTO2* rs156697 polimorfizama sa rizikom za nastanak POAG-a

Varijabla	Kontrole (n <sup>§</sup> , %)	POAG pacijenti (n, %)	OR <sup>†</sup> (95% CI <sup>‡</sup> )	p*
<i>GSTO1</i> rs4925				
CC	120 (41,1)	40 (41,2)	1,00 (referentna grupa)	
CA	144 (49,3)	42 (43,3)	0,64 (0,35-1,18)	0,150
AA	28 (9,6)	15 (15,5)	1,43 (0,60-3,42)	0,418
CC+CA	264 (90,4)	82 (84,5)	1,00 (referentna grupa)	
AA	28 (9,6)	15 (15,5)	1,85 (0,82-4,14)	0,137
<i>GSTO2</i> rs156697				
AA	129 (46,1)	43 (44,3)	1,00 (referentna grupa)	
AG	128 (45,7)	40 (41,2)	0,95 (0,52-1,72)	0,855
GG	23 (8,2)	14 (14,4)	2,09 (0,85-5,15)	0,108
AA+AG	257 (91,8)	83 (85,6)	1,00 (referentna grupa)	
GG	23 (8,2)	14 (14,4)	2,15 (0,92-5,04)	0,077

<sup>†</sup>OR (engl. odds ratio), odnos šansi prethodne izloženosti kod slučajeva (prisutan događaj od interesa) i kontrola (odsutan događaj od interesa),

<sup>‡</sup>CI (engl. confidence interval), interval poverenja,

<sup>§</sup>n, broj ispitanika,

p < 0,005 je smatrano statistički značajnom razlikom,

\*p vrednost i OR su dobijeni na osnovu modela logističke regresije korigovanim u odnosu na starost, pol, indeks telesne mase, pušenje, hipertenziju i dijabetes

#### 4.4 Povezanost polimorfizma *GSTP1* gena sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla gena

U tabeli 5 je prikazana distribucija *GSTP1* genotipova kod pacijenata obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla, kao i u kontrolnoj grupi. Što se tiče *GSTP1* rs1695 polimorfizma, u obe grupe najčešće je bio zastupljen *GSTP1*\*AA genotip, kod obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla učestalost je iznosila 48,0%, a kod ispitanika u kontrolnoj grupi 46,6%. Sledeći po učestalosti je bio genotip *GSTP1*\*AG, sa učestalošću od 41,2% kod POAG pacijenata i 39,4% kod odgovarajućih kontrola. Najmanju učestalost su imali homozigotni nosioci varijantnog *GSTP1*\*GG genotipa (POAG grupa 10,8%, kontrolna grupa 14,0%). U ovom istraživanju nije pokazana statistički značajna povezanost *GSTP1* rs1695 gena sa nastankom primarnog glaukoma otvorenog ugla (OR=1,36; 95%CI=0,75-2,44; p=0,468) (Tabela 5).

Homozigotni oblik *GSTPI*\*CC varijante *GSTPI* rs1138272 je bio najzastupljeniji i u grupi obolelih i u kontrolnoj grupi, sa učestalošću 89,2% i 85,5%. Učestalost genotipa *GSTPI*\*CT u POAG grupi je iznosila 10,8%, dok je u kontrolnoj grupi učestalost bila 14,1%. Genotip *GSTPI*\*CT je bio prisutan samo kod jednog ispitanika u kontrolnoj grupi, dok u grupi obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla nije dokazan. Nije pokazana statistička povezanost polimorfizma *GSTPI* rs1138272 na rizik za nastanak POAG-a (OR=0,81; 95%CI=0,39-1,69; p=0,570) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Povezanost *GSTPI* rs1695 i *GSTPI* rs1138272 polimorfizma sa rizikom za nastanak POAG-a.

Varijabla	Kontrole (n <sup>§</sup> , %)	POAG pacijenti (n, %)	OR <sup>†</sup> (95% CI <sup>‡</sup> )	p*
<i>GSTPI</i> rs1695				
AA	130 (46,6)	49 (48,0)	1,00(referentna grupa)	
AG	110 (39,4)	42 (41,2)	1,36 (0,75-2,44)	0,309
GG	39 (14,0)	11 (10,8)	1,39 (0,57-3,38)	0,468
AA+AG	240 (86,0)	91 (89,2)	1,00 (referentna grupa)	
GG	39 (14,0)	11 (10,8)	1,22 (0,52-2,83)	0,651
<i>GSTPI</i> rs1138272				
CC	224 (85,5)	91 (89,2)	1,00 (referentna grupa)	
CT	37 (14,1)	11 (10,8)	0,81 (0,39-1,69)	0,570
TT	1 (0,4)	0 (0,0)	/	/

<sup>†</sup>OR (engl. odds ratio), odnos šansi prethodne izloženosti kod slučajeva (prisutan događaj od interesa) i kontrola (odsutan događaj od interesa),

<sup>‡</sup>CI (engl. confidence interval), interval poverenja,

<sup>§</sup>n, broj ispitanika,

p < 0,005 je smatrano statistički značajnom razlikom

\*p vrednost i OR su dobijeni na osnovu modela logističke regresije korigovanim u odnosu na starost, pol, indeks telesne mase, pušenje, hipertenziju i diabetes mellitus.

#### 4.5 Povezanost polimorfizama *GPXI* i *SOD2* gena sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla

U tabeli 6 je prikazana distribucija genotipova *GPXI* i *SOD2* gena u studijskoj i u kontrolnoj grupi. Naime, učestalost *GPXI*\*CC genotipa, koji je označen kao referentni, je manja u grupi obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla nego kod odgovarajućih kontrola (38,5% POAG, 48,7% kontrolna grupa). U POAG grupi je bila veća učestalost i heterozigotnih, *GPXI*\*CT, i homozigotnih, *GPXI*\*TT, nosilaca varijantnog alela. Nije bilo statistički značajne povezanosti *GPXI* gena i rizika za nastanak POAG-a iako su nosioci *GPXI*\*TT genotipa imali 2,2 puta veći rizik za razvoj glaukomske neuropatije od pojedinaca kojima je potvrđen *GPXI*\*CC genotip (OR=2,20, 95%CI=0,88-5,54, p=0,093).

Za razliku od *GPXI* gena, kod *SOD2* gena, heterozigotni nosioci varijantnog polimorfizma *SOD2*\*TC su imali više nego dvostruko veći rizik za nastanak POAG-a u odnosu na homozigotne nosioce referentnog *SOD2* genotipa, *SOD2*\*CC (OR=2,11, 95%CI=1,09-4,09, p=0,026). U studijskoj i

u kontrolnoj grupi najzastupljeniji je *SOD2*\*TC genotip (57,0% POAG grupa, 47,0% kontrolna grupa), dok je najmanju učestalost imao *SOD2*\*TT genotip (18,3% POAG grupa, 21,3% kontrolna grupa) (Tabela 6).

**Tabela 6.** Povezanost *GPX1 rs1050450* i *SOD2 rs4880* polimorfizama sa rizikom za nastanak POAG-a

Varijabla	Kontrole (n <sup>§</sup> , %)	POAG pacijenti (n, %)	OR <sup>†</sup> (95% CI <sup>‡</sup> )	p*
<i>GPX1 rs1050450</i>				
CC	132 (48,7)	37 (38,5)	1,00 (referentna grupa)	
CT	117 (43,2)	45 (46,9)	1,24 (0,68-2,27)	0,481
TT	22 (8,1)	14 (14,6)	2,20 (0,88-5,54)	0,093
CC+CT	249 (91,9)	82 (85,4)	1,00 (referentna grupa)	
TT	22 (8,1)	14 (14,6)	1,95 (0,82-4,61)	0,129
<i>SOD2 rs4880</i>				
CC	91 (31,7)	23 (24,7)	1,00 (referentna grupa)	
TC	135 (47,0)	53 (57,0)	2,11 (1,09-4,09)	0,026
TT	61 (21,3)	17 (18,3)	1,50 (0,66-3,44)	0,329
CC	91 (31,7)	23 (24,7)	1,00 (referentna grupa)	
TC+TT	196 (68,3)	70 (75,3)	1,92 (1,03-3,58)	0,041

<sup>†</sup>OR (engl. odds ratio), odnos šansi prethodne izloženosti kod slučajeva (obolelih) i kontrola,

<sup>‡</sup>CI (engl. confidence interval), interval poverenja,

<sup>§</sup>n, broj ispitanika,

p < 0,005 je smatrano statistički značajnom razlikom,

\*p vrednost i OR su dobijeni na osnovu modela logističke regresije korigovanim u odnosu na starost, pol, indeks telesne mase, pušenje, hipertenziju i diabetes mellitus.

#### 4.6 Udruženi efekat *GSTT1* i *GSTM1* genskih polimorfizama na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla

U tabeli 7 prikazana je distribucija genotipova kombinovanih polimorfizama *GSTT1* i *GSTM1* gena. I u kontrolnoj grupi i u grupi obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla najviše je bilo onih koji su bili istovremeni nosioci oba aktivna genotipa (*GSTT1*-aktivni/*GSTM1*-aktivni). U POAG grupi takvih ispitanika je bilo 44,3%, a u kontrolnoj grupi 39,1%. Analizom pojedinačnih polimorfizama pokazano da nosioci *GSTT1* aktivnog genotipa imaju veći rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla (OR=1,92, 95%CI=1,02-3,64, p=0,044), dok se u kombinaciji sa *GSTM1* nultim genotipom rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla više nego dvostruko povećao (OR=4,36, 95%CI=1,21-15,65, p=0,024).

**Tabela 7.** Udruženi efekat *GSTM1* i *GSTT1* polimorfizama na rizik za nastanak POAG-a

Varijabla	Kontrole (n <sup>§</sup> , %)	POAG pacijenti (n, %)	OR <sup>†</sup> (95% CI <sup>‡</sup> )	p*
<i>GSTT1/GSTM1</i>				
<i>GSTT1-nulti/GSTM1-aktivni</i>	22 (10,9)	3 (3,1)	1,00 (referentna grupa)	
<i>GSTT1-nulti/GSTM1-nulti</i>	30 (14,9)	12 (12,4)	3,11 (0,77-12,45)	0,110
<i>GSTT1-aktivni/GSTM1-aktivni</i>	79 (39,1)	43 (44,3)	4,14 (1,16-14,74)	0,028
<i>GSTT1-aktivni/GSTM1-nulti</i>	71 (35,1)	39 (40,2)	4,36 (1,21-15,65)	0,024

<sup>†</sup>OR (engl. *odds ratio*), odnos šansi prethodne izloženosti kod slučajeva (prisutan događaj od interesa) i kontrola (odsutan događaj od interesa),

<sup>‡</sup>CI (engl. *confidence interval*), interval poverenja,

<sup>§</sup>n, broj ispitanika,

p < 0,005 je smatrano statistički značajnom razlikom,

\*p vrednost i OR su dobijeni na osnovu modela logističke regresije korigovanim u odnosu na starost i pol

#### 4.7 Udruženi efekat *GSTO1* i *GSTO2* genskih polimorfizama na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla

Uzimajući u obzir činjenicu da se oba gena *GSTO1* i *GSTO2* nalaze na istom hromozomu i da su međusobno blisko pozicionirani, odnosno da ih razdvaja kratak segment veličine 1,5 kb, ispitivan je udruženi efekat polimorfizama ova dva gena, *GSTO1* rs4925 i *GSTO2* rs156697. Ispitanici koji su u svom genskom materijalu imali bar jedan referentni alel *GSTO1* (*GSTO1\*CC*, *GSTO1\*CA*) i *GSTO2* gena (*GSTO2\*AA* i *GSTO2\*AG*) su označeni kao referentna grupa. Rezultati ovog istraživanja su pokazali da homozigotni nosioci polimorfizama oba gena (*GSTO1\*AA/GSTO2\*GG*) imaju statistički značajno povećan rizik za obolevanje od primarnog glaukoma otvorenog ugla (OR=8,21, 95%CI=2,17-31,04, p=0,002) (Tabela 8).

**Tabela 8.** Udruženi efekat *GSTO1/GSTO2* genskih polimorfizama na rizik za nastanak POAG-a.

Varijabla	Kontrole (n <sup>§</sup> , %)	POAG pacijenti (n, %)	OR <sup>†</sup> (95% CI <sup>‡</sup> )	p*
<i>GSTO1/GSTO2</i>				
CC+CA/AA+AG	231 (85,6)	80 (82,5)	1,00 (referentna grupa)	
CC+CA/GG	13 (4,8)	2 (2,1)	0,42 (0,08-2,12)	0,291
AA/AA+AG	18 (6,7)	3 (3,1)	0,44 (0,11-1,73)	0,240
AA/GG	8 (3,00)	12 (12,4)	8,21 (2,17-31,04)	0,002

<sup>†</sup>OR (engl. *odds ratio*), odnos šansi prethodne izloženosti kod slučajeva (obolelih) i kontrola,

<sup>‡</sup>CI (engl. *confidence interval*), interval poverenja,

<sup>§</sup>n, broj ispitanika,

p < 0,005 je smatrano statistički značajnom razlikom

\*p vrednost i OR su dobiveni na osnovu modela logističke regresije korigovanim u odnosu na starost, pol indeks telesne mase, pušenje, hipertenziju i diabetes mellitus



#### 4.8 Udruženi efekat *GPXI* i *SOD2* genskih polimorfizama na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla

U ovoj studiji procenjivan je i udruženi efekat *GPXI* i *SOD2* genskih polimorfizama na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla. Istovremeni nosioci varijantnog *GPXI*\*TT i referentnog *SOD2*\*CC su bili pod značajno većim rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla (OR=6,66, 95%CI=1,75-25,36, p=0,005).

**Tabela 9.** Udruženi efekat *GPXI/SOD2* genskih polimorfizama na rizik za nastanak POAG-a.

Varijabla	Kontrole (n <sup>§</sup> , %)	POAG pacijenti (n, %)	OR <sup>†</sup> (95% CI <sup>‡</sup> )	p*
<i>GPXI/SOD2</i>				
CC+CT/CC	77 (29,4)	14 (15,4)	1,00 (referentna grupa)	
CC+CT/TT+TC	163 (62,2)	64 (70,3)	2,81 (1,36-5,79)	0,005
TT/CC	6 (2,3)	9 (9,9)	6,66 (1,75-25,36)	0,005
TT/TT+TC	16 (6,1)	4 (4,4)	1,94 (0,47-7,98)	0,357

<sup>†</sup>OR (engl. odds ratio), odnos šansi prethodne izloženosti kod slučajeva (obolelih) i kontrola,

<sup>‡</sup>CI (engl. confidence interval), interval poverenja,

<sup>§</sup>n, broj ispitanika,

p < 0,005 je smatrano statistički značajnom razlikom

\*p vrednost i OR su dobiveni na osnovu modela logističke regresije korigovanim u odnosu na starost, pol, indeks telesne mase, pušenje, hipertenziju i diabetes mellitus

## **5 DISKUSIJA**

Rezultati ove studije su pokazali da prisustvo *GSTT1* aktivnog genotipa doprinosi značajno većem riziku za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla, dok se u kombinaciji sa *GSTM1* nultim genotipom rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla više od dvostruko povećava. Nije pokazana statistički značajna povezanost između polimorfizma *GSTO1* gena i nastanka POAG-a, kao i ni između *GSTO2* polimorfizma, iako su nosioci *GSTO2\*GG* genotipa imali dvostruko veći rizik za nastanak POAG-a, ali bez statističke značajnosti. S druge strane, rezultati istraživanja povezanosti udruženih efekata genskih polimorfizama *GSTO1* i *GSTO2* i rizika za nastanak POAG-a su pokazali da homozigotni nosioci varijantnih oblika oba gena (*GSTO1\*AA/GSTO2\*GG*) imaju osam puta veći rizik za oboljevanje od primarnog glaukoma otvorenog ugla. U ovom istraživanju, nije uočena statistički značajna povezanost *GPXI* polimorfizma i rizika za nastanak POAG-a iako su nosioci *GPXI\*TT* genotipa imali 2,2 puta veću šansu za oboljevanje od glaukomske optičke neuropatije od pojedinaca kojima je potvrđen *GPXI\*CC* genotip, ali bez dostizanja praga značajnosti. Što se tiče *SOD2* polimorfizma nosioci heterozigotnog *SOD2\*TC* genotipa imali su više nego dvostruko veći rizik za nastanak POAG-a u odnosu na homozigotne nosioce referentnog *SOD2\*CC* genotipa. Dalje, istovremeni nosioci varijantnog *GPXI\*TT* i referentnog *SOD2\*CC* genotipa su bili pod značajno većim rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.

Učešće oksidativnog stresa i slobodnih kiseoničnih radikala u patofiziologiji i progresiji primarnog glaukoma otvorenog ugla je podržano sve većim brojem dokaza u literaturi (Aslan i sar, 2008; Ghanem i sar, 2010; Saccà i sar, 2007; Wójcik-Gryciuk i sar, 2016; Zanon-Moreno i sar, 2008). Povećana produkcija biomarkera oksidativnog stresa, disfunkcija/aktivacija glijalnih ćelija, aktivacija NF- $\kappa$ B, i regulacija proinflamatornih citokina su procesi povezani sa razvojem primarnog glaukoma otvorenog ugla (Vernazza i sar, 2020). Pojačano formiranje slobodnih kiseoničnih radikala uprkos antioksidativnim odbrambenim mehanizmima, može dovesti do oštećenja DNK i proteina u ćeliji, lipidne peroksidacije ćelijske membrane, što može imati uticaj na različite strukture oka (Fan Gaskin i sar, 2021). Pretpostavlja se da oksidativni stres dovodi do oštećenja ganglijskih ćelija retine (RGC) i na taj način direktno učestvuje u nastanku neuropatije vidnog živca karakteristične za glaukom (Nita i sar, 2016). Pored toga, slobodni kiseonični radikali mogu ugroziti integritet trabekularne mreže uzrokujući posledično povećanje intraokularnog pritiska, jednog od ključnih faktora rizika za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla (Saccà i sar, 2007). Ovakav štetan efekat bi se potencijalno mogao smanjiti delovanjem antioksidanata, ali je potrebno sprovesti dalje studije kako bi se ispitala dugoročna efikasnost i bezbednost različitih antioksidanata i njihove kombinacije u potrazi za onima koji su imaju adekvatan efekat (Garcia-Medina i sar, 2020).

GST su familija polimorfnih enzima koji služe kao ćelijski čuvari u borbi protiv oksidativnog stresa (Hayes i sar, 2005). Osim uloge koju imaju u detoksikaciji, ovi enzimi su uključeni i u nekoliko drugih važnih procesa kao što su prenos signala u ćeliji, posttranslacione modifikacije i rezistencija na hemioterapijske lekove (Tew i sar, 2011). Na primer, pi i mi klase GST moduliraju signalni put mitogenom aktivirane protein kinaze (MAPK), koji reguliše ćelijski odgovor na stres, proliferaciju i apoptozu putem direktnih interakcija sa c-Jun N-terminalnom kinazom 1 (engl. *Jun-terminal kinase 1 - JNK1*) i regulatornom kinazom 1 apoptotskog signala (engl. Apoptosis signal-regulating kinase 1 - ASK1) (Tew i sar, 2011). Aktivacijom JNK dolazi do fosforilacije multiplih nuklearnih supstrata kao što su transkripcioni faktor c-Jun, aktivirajući transkripcioni faktor 2 (ATF2), p53 i drugi, što rezultuje alteracijama u ćelijskom ciklusu, reparaciji DNK i/ili aktivaciji apoptoze (Davis, 2000). Glutation transferaze se takođe smatraju modulatorima ovih procesa zbog svoje interakcije sa JNK. Naime, GSTP1-1, formirajući kompleks sa JNK, sprečava aktivnost ovog enzima i posledičnu aktivaciju signalnih puteva. Na ovaj način se u fiziološkim uslovima obezbeđuje minimalna bazalna aktivnost JNK, međutim u uslovima oksidativnog stresa dolazi do disocijacije kompleksa GSTP1-1 i JNK i aktivacije kinazne aktivnosti. GSTP1-1 je uključen i u regulaciju aktivnosti nuklearnog faktora kappa B (NF- $\kappa$ B), transkripcionog faktora koji stimuliše aktivaciju proinflamatornih signalnih kaskada (Jones i sar, 2016). Takođe, i drugi GST izoenzimi mogu da učestvuju u regulaciji signalnih puteva posredovanih MAPK. ASK1 je enzim čija aktivacija prethodi aktivaciji JNK i predstavlja inicijalni deo proapoptotske signalne kaskade. GSTM1-1 formira kompleks sa ASK1 na sličan način kao GSTP1-1 i JNK što rezultuje

inhibicijom ovog enzima (Almasieh i sar, 2012). Nedavni nalazi snažno sugerišu da je apoptoza retinalnih ganglijskih ćelija jedan od glavnih događaja u patogenezi i progresiji primarnog glaukoma otvorenog ugla, sa posebnim naglaskom na aktivaciju apoptotskog puta posredovanog ASK1 (Katome i sar, 2013). S druge strane, delecija ASK1 gena sprečava smrt retinalnih ganglijskih ćelija, kao i ishemiju mrežnjače i oštećenja vidnog živca kao što je prikazano u različitim eksperimentalnim modelima glaukoma (Katome i sar, 2013). Verovatni molekularni mehanizam koji leži u osnovi uloge GSTM1 u pogoršanju bolesti može biti nekatalitička regulatorna uloga GSTM1 u signalnoj kaskadi propoptotskog ASK1-MAPK kinaznog puta. Nekoliko studija je pokazalo da, nezavisno od enzimske aktivnosti transferaze, GSTM1 protein može regulisati aktivnost ASK1 protein-protein interakcijom. Dakle, pod nestimulisanim uslovima, GSTM1-1 suprimira ASK1 posredovanu aktivaciju signalne kaskade JNK/protein kinaze aktivirane stresom (JNK/SAPK) i inhibira apoptotsku ćelijsku smrt zavisnu od ASK1. Naprotiv, različiti stresori, kao što su slobodni radikali, mogu indukovati disocijaciju proteinskog kompleksa GSTM1:ASK1, što posledično pokreće ASK1-posredovan apoptotski signalni put (Cho i sar, 2001). Poznato je da familija glutathion transferaza učestvuju i u reakcijama S-glutathionilacije proteina, a pokazalo se da su brojni proteini supstrati za GST posredovanu S-glutathionilaciju proteina uključujući protein disulfid izomerazu (engl. *protein disulfide isomerase* - PDI), p53 i peroksiredoksin-VI (Prdk-VI) (Kalinina i sar, 2023; Singh i sar, 2021; Townsend i sar, 2009). Prekomerna ekspresija GST, posebno GSTP1-1, se često smatra mogućim mehanizmom rezistencije tumorskih ćelija na lekove (Singh i sar, 2021; Theodossiou i sar, 2017). Dakle, GST postaju važna terapijska meta, a GST inhibitori mogu imati potencijalnu kliničku primenu u rezistenciji tumorskih ćelija na lekove (Townsend i sar, 2005).

Pored ranije pobrojanih razlika između različitih klasa glutathion transferaza, postoji i značajna genetska heterogenost među klasama usled genskih delecija i duplikacija, kao i polimorfizama jednog nukleotida u kodirajućim i nekodirajućim regionima. U velikoj većini slučajeva, navedeni polimorfizmi opisan kod svih citosolnih glutathion transferaza imaju značajne funkcionalne posledice i dovode se u vezu sa pojavom različitih malignih i nemalignih bolesti (Board i sar, 2013).

U našoj studiji *GSTM1* nulti genotip je bio češći u grupi pacijenata sa glaukomom, ali bez statističke značajnosti u poređenju sa zdravim kontrolama, što je u saglasnosti sa nekoliko drugih istraživanja (Barbosa i sar, 2012; Jansson i sar, 2003; Juronen i sar, 2000, Fan i sar, 2010). S druge strane, povezanost *GSTM1* nultog genotipa sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla je opisana u brazilskoj (Rocha i sar, 2011; Silva i sar, 2014), italijanskoj (Izzotti i sar, 2010), turskoj (Yildirim i sar, 2005) i grčkoj (Lavaris i sar, 2016) populaciji. Kao što je već navedeno, različiti stresori, kao što su slobodni radikali, mogu indukovati disocijaciju proteinskog kompleksa GSTM1:ASK1, što posledično pokreće ASK1-posredovan apoptotski signalni put (Cho i sar, 2001). Na taj način se može pretpostaviti da je kod nosilaca *GSTM1* nultog genotipa obolelih od primarnog glaukoma otvorenog ugla prisutna intenzivnija apoptoza retinalnih ganglijskih ćelija, čak i nakon tretmana antioksidansima. Za razliku od ovih istraživanja, značaj *GSTM1* aktivnog genotipa u nastanku primarnog glaukoma otvorenog ugla je opisan u estonskoj (Juronen i sar, 2000) i turskoj populaciji (Ünal i sar, 2007). Sva ova istraživanja podržavaju pretpostavku o *GSTM1* genu kao faktoru rizika za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.

Što se tiče polimorfizama *GSTT1* gena, u ovom radu je pokazano da su nosioci *GSTT1* aktivnog genotipa pod značajno većim rizikom od razvoja primarnog glaukoma otvorenog ugla. Naime, prisustvo *GSTT1* aktivnog genotipa je bilo povezano sa skoro dvostruko većim rizikom za razvoj primarnog glaukoma otvorenog ugla što je u skladu sa rezultatima istraživanja sprovedenog u brazilskoj populaciji (Rocha i sar, 2011), dok su istraživači u nekoliko drugih studija otkrili povezanost *GSTT1* nultog genotipa i razvoja ovog tipa glaukoma (Abu-Amero i sar, 2008; Ünal i sar, 2007). U studijama kineske (Fan i sar, 2010), meksičke (Buentello-Volante i sar, 2013), estonske (Juronen i sar, 2000) i turske populacije (Yildirim i sar, 2005) nije pronađena povezanost između *GSTT1* polimorfizma i rizika za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla. Osim povezanosti pojedinačnih polimorfizama, u ovom istraživanju ispitivan je i udruženi efekat *GSTM1* i *GSTT1* polimorfizama na rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla. Rezultati ove studije su pokazali više od četverostruko veći rizik od nastanka primarnog glaukoma otvorenog ugla kod ispitanika koji su istovremeni nosioci *GSTM1* nultog i *GSTT1*

aktivnog genotipa što je u saglasnosti su sa studijom Rocha i saradnika (Rocha i sar, 2011). U svojoj studiji, Rocha i sar. su još pokazali i povezanost *GSTM1* nultog genotipa sa višim nivoima intraokularnog pritiska, izraženijim oštećenjem glave vidnog živca i ispadima u vidnom polju. Na osnovu toga da produženi oksidativni stres može doprineti povećanju intraokularnog pritiska (Saccà i sar, 2007), naši rezultati o povećanom riziku kod nosilaca kombinacije *GSTM1* nultog i *GSTT1* aktivnog genotipa ukazuju da oksidativna oštećenja mogu značajno uticati na patofiziologiju primarnog glaukoma otvorenog ugla. Prema tome, određivanje *GSTM1* i *GSTT1* polimorfizma potencijalno može biti vredan indikator za procenu rizika za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.

Iako su glutathion transferaze omega (GSTO) jedna od klasa superfamilije citosolnih GST, imaju drugačije supstrate u odnosu na druge GST klase i imaju izvesne strukturne karakteristike različite u odnosu na ostale članove GST superfamilije enzima. Za razliku od ostalih klasa koje u aktivnom mestu enzima imaju aminokiseline serin ili tirozin, funkcionalna grupa u aktivnom mestu GSTO klase je aminokiselina cistein (Whitbread i sar, 2005). Zbog prisustva funkcionalne grupe cisteina u aktivnom mestu, GSTO ispoljavaju niz specifičnih aktivnosti, uključujući tioltransferaznu aktivnost koja ima važnu ulogu u reakcijama glutathionilacije proteina, što je karakteristično prvenstveno za GSTO1-1 izoenzime (Menon, 2013). Osim uloge koju imaju u procesu glutathionilacije, glutathion transferase omega učestvuju i u biotransformaciji arsena, a ispoljavaju i dehidroksiaskorbat-reduktaznu (DHAR) aktivnost čime štite ćeliju od štetnih efekata delovanja slobodnih radikala. Štaviše, smatra se da u ćelijama sisara najveću dehidroksiaskorbat-reduktaznu aktivnost imaju GSTO2-2 enzimi (Zhou i sar, 2012). Pored toga, GSTO1-1 još učestvuje i u aktivaciji proinflamatornog citokina, interleukina-1 $\beta$  i modulaciji rijanodinskih receptora (Whitbread i sar, 2005).

Rezultati dobijeni u ovoj studiji pokazali su da su nosioci varijantnog *GSTO1*\*AA genotipa i varijantnog *GSTO2*\*GG pod povećanim rizikom za razvoj primarnog glaukoma otvorenog ugla. Pokazalo se da glutathion transferaze klase omega uklanjaju slobodne radikale očuvanjem redukovano oblika askorbinske kiseline (dehidroaskorbat-reduktazna aktivnost) (Schmuck i sar, 2005; Whitbread i sar, 2005). U ovoj studiji varijantni *GSTO2*\*GG genotip je bio povezan sa povećanim rizikom od razvoja primarnog glaukoma otvorenog ugla što je bilo na granici statističke značajnosti. GSTO2 je enzim sa najvećom dehidroaskorbat-reduktaznom aktivnošću u ćelijama sisara (Zhou i sar, 2012). U polimorfizmu *GSTO2* rs156697, varijantni alel *GSTO2*\*G dovodi do niže ekspresije *GSTO2* gena (Allen i sar, 2012). Allen i sar. su pokazali da su nivoi ekspresije GSTO2 smanjeni u mozgu pacijenata sa Alchajmerovom bolešću (Allen i sar, 2012). Zanimljivo je da mozak ima jednu od najvećih koncentracija askorbinske kiseline u telu (Harrison i sar, 2009). Osim u mozgu, visoki nivoi askorbata se nalaze i u očnoj vodici, u koncentracijama koje su 20 puta veće od koncentracija u krvi (Varma i sar, 2011). U očnoj vodici askorbinska kiselina (AA) ima suštinsku ulogu u uklanjanju hidroksilnih i superoksidnih anjonskih radikala (Varma i sar, 2011). Askorbinska kiselina se aktivno transportuje u očnu vodicu u oksidovanom obliku kao dehidroaskorbinska kiselina, a zatim se pretvara u manje difuzionu askorbinsku kiselinu pomoću enzima sa dehidroaskorbat reduktaznom aktivnošću. Na taj način, askorbinska kiselina sprečava oštećenje katjonskih pumpi sočiva izazvano UV zračenjem i smanjuje fotoperoksidaciju membrane (Kannan i sar, 2001). U jednom od naših prethodnih istraživanja, pokazali smo da su nosioci najmanje jednog varijantnog *GSTO2*\*G alela u kombinaciji sa pušenjem ili profesionalnim izlaganjem ultraljubičastom zračenju bili pod značajno većim rizikom da obole od senilne katarakte (Stamenkovic i sar, 2014). Slično katarakti, u primarnom glaukomu otvorenog ugla, dehidroaskorbat reduktazna aktivnost GSTO2 može biti važna u antioksidantnoj odbrani ganglijskih ćelija retine i za očuvanje integriteta trabekularne mreže zbog štetnog dejstva slobodnih kiseoničnih radikala.

Posedovanje cisteina u aktivnom mestu (Whitbread i sar, 2005) obezbedilo je omega klasi glutathion transferaza čitav niz specifičnih aktivnosti koje nisu povezane sa drugim GST (Board i sar, 2016). Konkretno, referentni alel, *GSTO1*\*C, ima veću deglutathionilacionu aktivnost i nižu aktivnost glutathionilacije za razliku od varijantnog alela, *GSTO1*\*A (Menon i sar, 2013). Nekoliko istraživačkih studija sugeriše da je glutathionilacija proteina, kao važna posttranslaciona modifikacija, fiziološki relevantan mehanizam za kontrolu stepena aktivacije NF-kB (Lin i sar, 2012). Ako je ova pretpostavka

ispravna, onda je varijantni alel *GSTO1*\*A sa glutationilacionom aktivnošću verovatno odgovoran za inaktivaciju NF- $\kappa$ B i povećan nivo apoptoze u odgovoru na oksidativni stres u ganglijskim ćelijama mrežnjače. S obzirom na međusobnu udaljenost *GSTO1* i *GSTO2* gena od samo 7,5 kb, analizirali smo i kombinovani efekta ovih polimorfizama u proceni rizika za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla. Rezultati ovog istraživanja su pokazali da je rizik od nastanka primarnog glaukoma otvorenog ugla bio 8 puta veći kod osoba koje su bile istovremeni nosioci i varijantnog *GSTO1* i varijantnog *GSTO2* genotipa. Značajno je naglasiti i da u dostupnoj literaturi nema podataka o povezanosti polimorfizama gena koji kodiraju glutation transferazu omega 1 i omega 2 i primarnog glaukom otvorenog ugla.

Pored polimorfizama glutation transferaza, u našem istraživanju, ispitivana je i veza između primarnog glaukoma otvorenog ugla i polimorfizama superoksid dizmutaze 2 (SOD2) i glutation peroksidaze 1 (GPX1), enzimi koji učestvuju u neutralizaciji slobodnih radikala i procesima zaštite organizma od oksidativnog stresa. SOD2 je homotetramerni protein koji se nalazi u mitohondrijama i sadrži jon mangana ( $Mn^{2+}/Mn^{3+}$ ) kao kofaktor u aktivnom mestu (Valentino, 2022). MnSOD ima veliki značaj upravo zbog svoje uloge u neutralizaciji mitohondrijskog  $O_2\cdot$ , koji predstavlja glavni izvor ćelijskih kiseoničnih slobodnih radikala. SOD2 katališe dizmutaciju  $O_2\cdot$  u vodonik peroksid i molekularni kiseonik (Bresciani i sar, 2015). GPX je porodica seleno-zavisnih enzima koji katališe redukciju vodonik peroksida i organskih hidroperoksida (Lubos i sar, 2011). S druge strane, GPX1 je ubikvitarno prisutna u citosolu i mitohondrijama i vrši eliminaciju  $H_2O_2$  pretvaranjem u  $H_2O$  (Brigelius-Flohé i sar, 2013).

Naši rezultati su pokazali da su nosioci varijantnog *GPX1*\*TT genotipa bili pod povećanim rizikom za razvoj primarnog glaukoma otvorenog ugla, ali bez statističke značajnosti. Malinowska i sar. su u svom istraživanju pokazali da su nosioci *GPX1*\*TT genotipa bili pod 4 puta većim rizikom da obole od primarnog glaukoma otvorenog ugla (Malinowska i sar, 2016). Nedavno su Velkovska i sar. istraživali povezanost *GPX1* rs1050450 polimorfizma i primarnog glaukoma otvorenog ugla u populaciji pacijenata u Sloveniji. Ono što su pokazali jeste da je polimorfizam *GPX1* rs1050450 povezan sa stadijumom primarnog glaukoma otvorenog ugla, nižim intraokularnim pritiskom i većim vertikalnim prečnikom ekskavacije glave vidnog živca (c/d) (Atanasovska Velkovska i sar, 2021). Zbog činjenice da varijantni *GPX1*\*TT genotip karakteriše niža enzimska aktivnost (Hamanishi i sar, 2004; Ravn-Haren i sar, 2006) povećan rizik za razvoj primarnog glaukoma otvorenog ugla može se pripisati smanjenoj dostupnosti GPX1, čime se smanjuje intracelularni odgovor na oksidativni stres.

Drugi antioksidativni enzim, superoksid dizmutaza, katališe konverziju superoksidnog anjona u vodonik peroksid i molekularni kiseonik (Miriya i sar, 2012). U našem istraživanju, nosioci heterozigotnog *SOD2*\*TC genotipa imali su više nego dvostruko veći rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla u odnosu na homozigotne nosioce referentnog *SOD2*\*CC genotipa. Nekoliko istraživačkih studija pokazalo je da osobe sa *SOD2*\*CC (\*Ala16Ala) genotipom imaju veću aktivnost SOD2 u poređenju sa onima sa genotipom *SOD2*\*TC (\*Val16Ala) ili *SOD2*\*TT (\*Val16Val) (Shimoda-Matsubayashi i sar, 1996; Sutton i sar, 2003). Naime, *SOD2*\*T alel (kodira aminokiselinu valin) rezultira smanjenom ekspresijom iRNK, nestabilnom iRNK, poremećenim transportom SOD enzima u mitohondrije i smanjenim potencijalom za neutralizaciju superoksid anjona (Shimoda-Matsubayashi i sar, 1996; Sutton i sar, 2003). Nedavnim istraživanjima *SOD2* rs4880 polimorfizma koje su izvele grupe Čelojević i sar. i Lavaris i sar. nije uočena povezanost između *SOD2* polimorfizma i rizika za razvoj primarnog glaukoma otvorenog ugla (Čelojević i sar, 2014; Lavaris i sar, 2016). Nasuprot tome, Zhou i sar. su pokazali postojanje povezanosti polimorfizma SOD2 sa primarnim glaukom otvorenog ugla, što sugerise potencijalno značajnu ulogu superoksid dizmutaze 2 u razvoju primarnog glaukoma otvorenog ugla u kineskoj populaciji (Zhou i sar, 2015). Abu-Amero i sar. su isti polimorfizam ispitivali kod pacijenata sa primarnim glaukomom zatvorenog ugla (PACG) iz Saudijske Arabije i označili *SOD2* gen kao potencijalni marker težine primarnog glaukoma zatvorenog ugla (Abu-Amero i sar, 2014). U našoj studiji pokazan je 6 puta veći rizik za razvoj primarnog glaukoma kod osoba koji su bili istovremeni nosioci *SOD2*\*CC genotipa sa višom enzimskom aktivnošću superoksid dizmutaze i *GPX1*\*TT genotipa sa nižom aktivnošću glutation peroksidaze. Veća aktivnost enzima SOD2 i niža aktivnost GPX1 mogu dovesti do povećane proizvodnje  $H_2O_2$  delovanjem SOD2 i smanjene neutralizacije usled niže aktivnosti

GPX1. Akumulacija  $H_2O_2$ , kao redoks signalnog molekula, može dalje da izazove apoptozu u retinalnim ganglijskim ćelijama (Di Marzo i sar, 2018), a pretpostavlja se da je apoptoza jedan od glavnih događaja u patogenezi i progresiji primarnog glaukoma otvorenog ugla (Katome i sar, 2013).

Tokom poslednje decenije mnogobrojne studije su istraživale potencijalne nove terapijske modalitete kod obeljelih od glaukoma. S obzirom na mnoštvo dokaza o ulozi poremećaja homeostaze redoks sistema u patogenezi glaukoma, veliki broj studija je bio baziran na suplementaciji antioksidansima. Neki od najčešće ispitivanih antioksidanasa su vitamini A, E, B, C, koenzim Q, resveratrol, alfa lipoična kiselina, kao i ekstrakti Ginko biloba-e i zelenog čaja (Cao i sar, 2020; Cybulska-Heinrich i sar, 2012; Das, 1989; Davis i sar, 2017; Hsu i sar, 2015; Inman i sar, 2013; Williams i sar, 2017; Xu i sar, 2014; Yang i sar, 2019). Naime, studije na glaukomatoznim animalnim modelima su pokazale da antioksidansi mogu da pomognu u regulaciji IOP-a, kao i da smanje stepen apoptoze retinalnih ganglijskih ćelija (Garcia-Medina i sar, 2020). Međutim, rezultati istraživanja uloge antioksidanasa u lečenju i prevenciji glaukoma u humanoj populaciji su i dalje nedovoljno jasni, zbog ekstremne heterogenosti u metodologiji i dizajnu studija (Scuteri i sar, 2020). Takođe, fokus istraživanja savremenih studija je udruženo dejstvo nekoliko različitih antioksidanasa (Angeloni i sar, 2020).

U zaključku, rezultati ovog istraživanja sugerišu da polimorfizmi *GST*, *GPX1* i *SOD2* moduliraju rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla. Pošto je primarni glaukom otvorenog ugla takvo oboljenje kod kog su rana dijagnoza i lečenje od velike važnosti, razvoj dijagnostičkih testova koji bi poslužili prepoznavanju onih osoba koji su u riziku od razvoja glaukoma je veoma značajan. S obzirom na veliki broj gena koji su otkriveni, naše razumevanje njihove uloge u nastanku i razvoju primarnog glaukoma otvorenog ugla predstavlja naučni izazov. Buduća istraživanja treba usmeriti na određivanje redoks profila očne vodice, čime bi se potvrdili rezultati povezanost istraživanih polimorfizama sa redoks profilom u primarnom glaukomu otvorenog ugla. Konačna svrha istraživanja bila bi identifikacija kompletnog seta gena koji bi mogli da imaju ulogu u patogenezi i progresiji glaukomu i da se razviju, ne samo dijagnostički, već i prognostički testovi. Ono što je takođe važno, kako navode Zukerman i saradnici, jeste nastaviti sa otkrivanjem molekularnog mehanizma glaukoma (Zukerman i sar, 2021). Poboljšanjem našeg znanja o genetici glaukoma i povezanosti između podataka o individualnom fenotipu i genotipu, kao i osnovnih mehanizama, bili bismo u poziciji da proširimo sisteme skrininga, dijagnoze i terapije glaukomom i kako bi se postignla individualna medicinska praksa i razvila ciljna personalizovana terapiju. Ovakav pristup bi potencijalno obezbedio način da se identifikuju oni koji su podložniji razvoju primarnog glaukoma otvorenog ugla i uveo rano lečenje pre nego što se razviju trajna oštećenja vidnog živca i slepilo.

## **6 ZAKLJUČCI**



Na osnovu svega navedenog, mogu se izvesti sledeći zaključci:

- *GSTM1* i *GSTP1* polimorfizmi nisu imali modifikujući efekat na rizik za oboljevanje od primarnog glaukoma otvorenog ugla.
  - Nosioци *GSTT1* aktivnog genotipa su imali dvostruko veći rizik za oboljevanje od glaukomske optičke neuropatije u odnosu na nosioce nultog *GSTT1* genotipa. Sličan modulirajući efekat *GSTT1* aktivnog genotipa dobijen je i u kombinaciji sa *GSTM1* nultim genotipom.
  - Iako individualni efekat *GSTO1* i *GSTO2* polimorfizma u riziku za nastanak POAG-nije pokazan, homozigotni nosioци varijantnih alela oba gena (*GSTO1*\*AA/*GSTO2*\*GG) su pokazali osam puta veći rizik za oboljevanje.
  - Nije bilo statistički značajne povezanosti *GPXI* gena i rizika za nastanak POAG-a
  - Za razliku od *GPXI* gena, heterozigotni nosioци varijantnog *SOD2*\*TC genotipa su imali dvostruko veći rizik za nastanak POAG-a u odnosu na homozigotne nosioce referentnog *SOD2* genotipa, *SOD2*\*CC.
  - Kombinovani efekat varijantnog *GPXI*\*TT i referentnog *SOD2*\*CC genotipa je značajno modulirao rizik za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.
- 
- Na osnovu gore navedenih zaključaka može se uočiti da su polimorfizmi *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTO1*, *GSTO2*, *GPXI* i *SOD2* gena, pojedničano i u kombinaciji, povezani sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla.

## **7 LITERATURA**

- Abu-Amero, K. K., Kondkar, A. A., Mousa, A., Osman, E. A., & Al-Obeidan, S. A. (2014). Association of Mn-SOD mutation (c.47T > C) with various POAG clinical indices. *Ophthalmic Genetics*, 35(2), 85–90. <https://doi.org/10.3109/13816810.2013.796390>
- Abu-Amero, K. K., Morales, J., Mohamed, G. H., Osman, M. N., & Bosley, T. M. (2008). Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms<sup>SEP</sup> in Arab glaucoma patients. *Molecular Vision*, 14, 425. [/pmc/articles/PMC2268859/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17111111/)
- Alexandrie, A. K., Rannug, A., Juronen, E., Tasa, G., & Warholm, M. (2002). Detection and characterization of a novel functional polymorphism in the GSTT1 gene. *Pharmacogenetics*, 12(8), 613–619. <https://doi.org/10.1097/00008571-200211000-00005>
- Ali-Osman, F., Akande, O., Antoun, G., Mao, J. X., & Buolamwini, J. (1997). Molecular cloning, characterization, and expression in Escherichia coli of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *The Journal of Biological Chemistry*, 272(15), 10004–10012. <https://doi.org/10.1074/JBC.272.15.10004>
- Allen, M., Zou, F., Chai, H. S., Younkin, C. S., Miles, R., Nair, A. A., Crook, J. E., Pankratz, V. S., Carrasquillo, M. M., Rowley, C. N., Nguyen, T., Ma, L., Malphrus, K. G., Bisceglia, G., Ortolaza, A. I., Palusak, R., Middha, S., Maharjan, S., Georgescu, C., ... Ertekin-Taner, N. (2012). Glutathione S-transferase omega genes in Alzheimer and Parkinson disease risk, age-at-diagnosis and brain gene expression: an association study with mechanistic implications. *Molecular Neurodegeneration*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/1750-1326-7-13>
- Almasieh, M., Wilson, A. M., Morquette, B., Cueva Vargas, J. L., & Di Polo, A. (2012). The molecular basis of retinal ganglion cell death in glaucoma. *Progress in Retinal and Eye Research*, 31(2), 152–181. <https://doi.org/10.1016/J.PRETEYERES.2011.11.002>
- Andersen, J. K. (2004). Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence? *Nature Medicine*, 10 Suppl(7), S18. <https://doi.org/10.1038/NRN1434>
- Anderson, D. R. (2003). Collaborative normal tension glaucoma study. *Current Opinion in Ophthalmology*, 14(2), 86–90. <https://doi.org/10.1097/00055735-200304000-00006>
- Angeloni, C., Businaro, R., & Vauzour, D. (2020). The role of diet in preventing and reducing cognitive decline. *Current Opinion in Psychiatry*, 33(4), 432–438. <https://doi.org/10.1097/YCO.0000000000000605>
- Aoyama, K. (2021). Glutathione in the Brain. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 22. <https://doi.org/10.3390/IJMS22095010>
- Aslan, M., Cort, A., & Yucel, I. (2008). Oxidative and nitrative stress markers in glaucoma. *Free Radical Biology & Medicine*, 45(4), 367–376. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2008.04.026>
- Atanasovska Velkovska, M., Goričar, K., & Cvenkel, B. (n.d.). *Association of Genetic Polymorphisms in Oxidative Stress and Inflammation Pathways with Glaucoma Risk and Phenotype*.
- Bae, H. W., Lee, N., Lee, H. S., Hong, S., Seong, G. J., & Kim, C. Y. (2014). Systemic Hypertension as a Risk Factor for Open-Angle Glaucoma: A Meta-Analysis of Population-Based Studies. *PLoS ONE*, 9(9). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0108226>
- Bae, Y. S., Oh, H., Rhee, S. G., & Yoo, Y. Do. (2011). Regulation of reactive oxygen species generation in cell signaling. *Molecules and Cells*, 32(6), 491–509. <https://doi.org/10.1007/S10059-011-0276-3>
- Bagabas, N., Ghazali, W., Mukhtar, M., AlQassas, I., Merdad, R., Maniyar, A., Almarzouki, N., Afreen, H., Badeeb, O., & Wali, S. (2019). Prevalence of Glaucoma in Patients with Obstructive Sleep Apnea. *Journal of Epidemiology and Global Health*, 9(3), 198–203. <https://doi.org/10.2991/JEGH.K.190816.001>
- Bagnis, A., Izzotti, A., Centofanti, M., & Saccà, S. C. (2012). Aqueous humor oxidative stress proteomic levels in primary open angle glaucoma. *Experimental Eye Research*, 103, 55–62. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2012.07.011>

- Bailey, J. N. C., Loomis, S. J., Kang, J. H., Allingham, R. R., Gharahkhani, P., Khor, C. C., Burdon, K. P., Aschard, H., Chasman, D. I., Igo, R. P., Hysi, P. G., Glastonbury, C. A., Ashley-Koch, A., Brilliant, M., Brown, A. A., Budenz, D. L., Buil, A., Cheng, C. Y., Choi, H., ... Wiggs, J. L. (2016). Genome-wide association analysis identifies TXNRD2, ATXN2 and FOXC1 as susceptibility loci for primary open-angle glaucoma. *Nature Genetics*, *48*(2), 189–194. <https://doi.org/10.1038/NG.3482>
- Bamdad, S., Sanie-Jahromi, F., Alamolhoda, M., Masihpour, N., & Karimi, M. H. (2021). Glutathione S-Transferase Omega-2 and Transforming Growth Factor- $\beta$  1 Polymorphisms in Iranian Glaucoma Patients. *Journal of Ophthalmology*, *2021*. <https://doi.org/10.1155/2021/1061650>
- Barbosa, A. M., Moura, K. K. V. O., Frare, A. B., Costa, N. B., & Silva, R. E. (2012). GSTM1 polymorphism in patients with primary open-angle glaucoma. *Genetics and Molecular Research : GMR*, *11*(3), 3256–3262. <https://doi.org/10.4238/2012.SEPTEMBER.12.8>
- Bastaki, M., Huen, K., Manzanillo, P., Chande, N., Chen, C., Balmes, J. R., Tager, I. B., & Holland, N. (2006). Genotype-activity relationship for Mn-superoxide dismutase, glutathione peroxidase 1 and catalase in humans. *Pharmacogenetics and Genomics*, *16*(4), 279–286. <https://doi.org/10.1097/01.FPC.0000199498.08725.9C>
- Bertheloot, D., Latz, E., & Franklin, B. S. (2021). Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. *Cellular and Molecular Immunology*, *18*(5), 1106. <https://doi.org/10.1038/S41423-020-00630-3>
- Bilgin, G. (2014). Normal-tension glaucoma and obstructive sleep apnea syndrome: a prospective study. *BMC Ophthalmology*, *14*(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2415-14-27>
- Board, P. G. (1981). Gene deletion and partial deficiency of the glutathione S-transferase (ligandin) system in man. *FEBS Letters*, *135*(1), 12–14. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(81\)80933-7](https://doi.org/10.1016/0014-5793(81)80933-7)
- Board, P. G., Coggan, M., Cappello, J., Zhou, H., Oakley, A. J., & Anders, M. W. (2008). S-(4-Nitrophenacyl)glutathione is a specific substrate for glutathione transferase omega 1-1. *Analytical Biochemistry*, *374*(1), 25–30. <https://doi.org/10.1016/J.AB.2007.09.029>
- Board, P. G., Coggan, M., Chelvanayagam, G., Eastal, S., Jermin, L. S., Schulte, G. K., Danley, D. E., Hoth, L. R., Griffor, M. C., Kamath, A. V., Rosner, M. H., Chrnyk, B. A., Perregaux, D. E., Gabel, C. A., Geoghegan, K. F., & Pandit, J. (2000). Identification, characterization, and crystal structure of the Omega class glutathione transferases. *The Journal of Biological Chemistry*, *275*(32), 24798–24806. <https://doi.org/10.1074/JBC.M001706200>
- Board, P. G., & Menon, D. (2013). Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1830*(5), 3267–3288. <https://doi.org/10.1016/J.BBAGEN.2012.11.019>
- Board, P. G., & Menon, D. (2016). Structure, function and disease relevance of Omega-class glutathione transferases. *Archives of Toxicology*, *90*(5), 1049–1067. <https://doi.org/10.1007/S00204-016-1691-1>
- Bonnemaijer, P. W. M., Iglesias, A. I., Nadkarni, G. N., Sanywa, A. J., Hassan, H. G., Cook, C., Simcoe, M., Taylor, K. D., Schurmann, C., Belbin, G. M., Kenny, E. E., Bottinger, E. P., van de Laar, S., Williams, S. E. I., Akafo, S. K., Ashaye, A. O., Zangwill, L. M., Girkin, C. A., Ng, M. C. Y., ... Klaver, C. C. W. (2018). Genome-wide association study of primary open-angle glaucoma in continental and admixed African populations. *Human Genetics*, *137*(10), 847–862. <https://doi.org/10.1007/s00439-018-1943-7>
- Brand, M. D. (2016). Mitochondrial generation of superoxide and hydrogen peroxide as the source of mitochondrial redox signaling. *Free Radical Biology & Medicine*, *100*, 14–31. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2016.04.001>
- Braunger, B. M., Fuchshofer, R., & Tamm, E. R. (2015). The aqueous humor outflow pathways in glaucoma: A unifying concept of disease mechanisms and causative treatment. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics : Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.*, *95*(Pt B), 173–181. <https://doi.org/10.1016/J.EJPB.2015.04.029>

- Bresciani, G., da Cruz, I. B. M., & González-Gallego, J. (2015). Manganese superoxide dismutase and oxidative stress modulation. *Advances in Clinical Chemistry*, *68*, 87–130. <https://doi.org/10.1016/BS.ACC.2014.11.001>
- Brigelius-Flohé, R., & Flohé, L. (2020). Regulatory Phenomena in the Glutathione Peroxidase Superfamily. *Antioxidants & Redox Signaling*, *33*(7), 498–516. <https://doi.org/10.1089/ARS.2019.7905>
- Brigelius-Flohé, R., & Maiorino, M. (2013). Glutathione peroxidases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, *1830*(5), 3289–3303. <https://doi.org/10.1016/J.BBAGEN.2012.11.020>
- Brubaker, R. F. (1991). Flow of aqueous humor in humans [The Friedenwald Lecture]. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, *32*(13), 3145–3166. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1748546/>
- Budenz, D. L., Barton, K., Whiteside-De Vos, J., Schiffman, J., Bandi, J., Nolan, W., Herndon, L., Kim, H., Hay-Smith, G., & Tielsch, J. M. (2013). Prevalence of glaucoma in an urban West African population: the Tema Eye Survey. *JAMA Ophthalmology*, *131*(5), 651–658. <https://doi.org/10.1001/JAMAOPHTHALMOL.2013.1686>
- Buentello-Volante, B., Elizondo-Olascoaga, C., Miranda-Duarte, A., Guadarrama-Vallejo, D., Cabral-Macias, J., & Zenteno, J. C. (2013). Association study of multiple gene polymorphisms with the risk of adult-onset primary open-angle glaucoma in a Mexican population. *Experimental Eye Research*, *107*, 59–64. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2012.11.013>
- Cao, K., Ishida, T., Fang, Y., Shinohara, K., Li, X., Nagaoka, N., Ohno-Matsui, K., & Yoshida, T. (2020). Protection of the Retinal Ganglion Cells: Intravitreal Injection of Resveratrol in Mouse Model of Ocular Hypertension. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *61*(3). <https://doi.org/10.1167/IOVS.61.3.13>
- Cargnello, M., & Roux, P. P. (2011). Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, *75*(1), 50–83. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00031-10>
- Carr, A. C., & Maggini, S. (2017). Vitamin C and Immune Function. *Nutrients*, *9*(11). <https://doi.org/10.3390/NU9111211>
- Celojevic, D., Nilsson, S., Kalaboukhova, L., Tasa, G., Juronen, E., Sjölander, A., Zetterberg, H., & Zetterberg, M. (2014). Genetic variation of superoxide dismutases in patients with primary open-angle glaucoma. *Ophthalmic Genetics*, *35*(2), 79–84. <https://doi.org/10.3109/13816810.2013.793364>
- Chandel, N. S., McClintock, D. S., Feliciano, C. E., Wood, T. M., Melendez, J. A., Rodriguez, A. M., & Schumacker, P. T. (2000). Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  during hypoxia: a mechanism of O<sub>2</sub> sensing. *The Journal of Biological Chemistry*, *275*(33), 25130–25138. <https://doi.org/10.1074/JBC.M001914200>
- Chen, J., Zhou, J., Wu, J., Zhang, G., Kang, L., Ben, J., Wang, Y., Qin, B., & Guan, H. (2017). Aberrant Epigenetic Alterations of Glutathione-S-Transferase P1 in Age-Related Nuclear Cataract. *Current Eye Research*, *42*(3), 402–410. <https://doi.org/10.1080/02713683.2016.1185129>
- Cheong, A. J. Y., Wang, S. K. X., Woon, C. Y., Yap, K. H., Ng, K. J. Y., Xu, F. W. X., Alkan, U., Ng, A. C. W., See, A., Loh, S. R. H., Aung, T., & Toh, S. T. (2023). Obstructive sleep apnoea and glaucoma: a systematic review and meta-analysis. *Eye (London, England)*, *37*(15), 3065–3083. <https://doi.org/10.1038/S41433-023-02471-6>
- Cho, S. G., Lee, Y. H., Park, H. S., Ryoo, K., Kang, K. W., Park, J., Eom, S. J., Kim, M. J., Chang, T. S., Choi, S. Y., Shim, J., Kim, Y., Dong, M. S., Lee, M. J., Kim, S. G., Ichijo, H., & Choi, E. J. (2001). Glutathione S-transferase mu modulates the stress-activated signals by suppressing apoptosis signal-regulating kinase 1. *The Journal of Biological Chemistry*, *276*(16), 12749–12755. <https://doi.org/10.1074/JBC.M005561200>

- Chrysostomou, V., Rezaia, F., Trounce, I. A., & Crowston, J. G. (2013). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in glaucoma. In *Current Opinion in Pharmacology* (Vol. 13, Issue 1, pp. 12–15). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2012.09.008>
- Coleman, A. L., & Caprioli, J. (2009). The logic behind target intraocular pressure. *American Journal of Ophthalmology*, *147*(3), 379–380. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2008.10.027>
- Collins, D. W., Gudiseva, H. V., Chavali, V. R. M., Trachtman, B., Ramakrishnan, M., Merritt, W. T., Pistilli, M., Rossi, R. A., Blachon, S., Sankar, P. S., Miller-Ellis, E., Lehman, A., Addis, V., & O'Brien, J. M. (2018). The MT-CO1 V83I Polymorphism is a Risk Factor for Primary Open-Angle Glaucoma in African American Men. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *59*(5), 1751. <https://doi.org/10.1167/IOVS.17-23277>
- Cordeiro, M. F., Guo, L., Luong, V., Harding, G., Wang, W., Jones, H. E., Moss, S. E., Sillito, A. M., & Fitzke, F. W. (2004). Real-time imaging of single nerve cell apoptosis in retinal neurodegeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(36), 13352–13356. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0405479101>
- Costa, V. P., Harris, A., Anderson, D., Stodtmeister, R., Cremasco, F., Kergoat, H., Lovasik, J., Stalmans, I., Zeitz, O., Lanzl, I., Gugleta, K., & Schmetterer, L. (2014). Ocular perfusion pressure in glaucoma. *Acta Ophthalmologica*, *92*(4), e252–e266. <https://doi.org/10.1111/AOS.12298>
- Couto, N., Wood, J., & Barber, J. (2016). The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radical Biology & Medicine*, *95*, 27–42. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2016.02.028>
- Cybulska-Heinrich, A. K., Mozaffarieh, M., & Flammer, J. (2012). Ginkgo biloba: An adjuvant therapy for progressive normal and high tension glaucoma. *Molecular Vision*, *18*, 390. <https://doi.org/10.1002/iov.1002>
- Da Rocha, T. J., Silva Alves, M., Guisso, C. C., de Andrade, F. M., Camozzato, A., de Oliveira, A. A., & Fiegenbaum, M. (2018). Association of GPX1 and GPX4 polymorphisms with episodic memory and Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, *666*, 32–37. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2017.12.026>
- Das, N. P. (1989). Effects of vitamin A and its analogs on nonenzymatic lipid peroxidation in rat brain mitochondria. *Journal of Neurochemistry*, *52*(2), 585–588. <https://doi.org/10.1111/J.1471-4159.1989.TB09159.X>
- Datta, S., Cano, M., Ebrahimi, K., Wang, L., & Handa, J. T. (2017). The impact of oxidative stress and inflammation on RPE degeneration in non-neovascular AMD. *Progress in Retinal and Eye Research*, *60*, 201–218. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2017.03.002>
- Davis, B. M., Tian, K., Pahlitzsch, M., Brenton, J., Ravindran, N., Butt, G., Malaguarnera, G., Normando, E. M., Guo, L., & Cordeiro, M. F. (2017). Topical Coenzyme Q10 demonstrates mitochondrial-mediated neuroprotection in a rodent model of ocular hypertension. *Mitochondrion*, *36*, 114–123. <https://doi.org/10.1016/J.MITO.2017.05.010>
- Davis, R. J. (2000). Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell*, *103*(2), 239–252. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)00116-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)00116-1)
- De Giusti, V. C., Caldiz, C. I., Ennis, I. E., Pérez, N. G., Cingolani, H. E., & Aiello, E. A. (2013). Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) as signaling molecules of intracellular pathways triggered by the cardiac renin-angiotensin II-aldosterone system (RAAS). *Frontiers in Physiology*, *4*. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2013.00126>
- De Moraes, C. G., Cioffi, G. A., Weinreb, R. N., & Liebmann, J. M. (2018). New Recommendations for the Treatment of Systemic Hypertension and their Potential Implications for Glaucoma Management. *Journal of Glaucoma*, *27*(7), 567–571. <https://doi.org/10.1097/IJG.0000000000000981>
- Demir, Y. (2020). Naphthoquinones, benzoquinones, and anthraquinones: Molecular docking, ADME and inhibition studies on human serum paraoxonase-1 associated with cardiovascular diseases. *Drug Development Research*, *81*(5), 628–636. <https://doi.org/10.1002/DDR.21667>

- Di Pietro, G., Magno, L. A. V., & Rios-Santos, F. (2010). Glutathione S-transferases: an overview in cancer research. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 6(2), 153–170. <https://doi.org/10.1517/17425250903427980>
- Diaz-Vivancos, P., De Simone, A., Kiddle, G., & Foyer, C. H. (2015). Glutathione – linking cell proliferation to oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 89, 1154–1164. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2015.09.023>
- Duranteau, J., Chandel, N. S., Kulisz, A., Shao, Z., & Schumacker, P. T. (1998). Intracellular signaling by reactive oxygen species during hypoxia in cardiomyocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(19), 11619–11624. <https://doi.org/10.1074/JBC.273.19.11619>
- Eells, J. T. (2019). Mitochondrial Dysfunction in the Aging Retina. *Biology 2019, Vol. 8, Page 31*, 8(2), 31. <https://doi.org/10.3390/BIOLOGY8020031>
- EGS. (2020). *Terminology and guidelines for glaucoma*. PubliComm.
- Eleutherio, E. C. A., Silva Magalhães, R. S., de Araújo Brasil, A., Monteiro Neto, J. R., & de Holanda Paranhos, L. (2021). SOD1, more than just an antioxidant. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 697. <https://doi.org/10.1016/J.ABB.2020.108701>
- Engin, K. N., Yemişçi, B., Yiğit, U., Ağaçhan, A., & Coşkun, C. (2010). Variability of serum oxidative stress biomarkers relative to biochemical data and clinical parameters of glaucoma patients. *Molecular Vision*, 16, 1260. [/pmc/articles/PMC2903467/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/193467/)
- Fan, B. J., Liu, K., Wang, D. Y., Tham, C. C. Y., Tam, P. O. S., Lam, D. S. C., & Pang, C. P. (2010). Association of polymorphisms of tumor necrosis factor and tumor protein p53 with primary open-angle glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 51(8), 4110–4116. <https://doi.org/10.1167/IOVS.09-4974>
- Fan Gaskin, J. C., Shah, M. H., & Chan, E. C. (2021). Oxidative stress and the role of nadph oxidase in glaucoma. In *Antioxidants* (Vol. 10, Issue 2, pp. 1–17). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antiox10020238>
- Fan, Y. Y., Su, W. W., Liu, C. H., Chen, H. S. L., Wu, S. C., Chang, S. H. L., Chen, K. J., Wu, W. C., Chen, N. H., Li, H. Y., & Sun, M. H. (2019). Correlation between structural progression in glaucoma and obstructive sleep apnea. *Eye (London, England)*, 33(9), 1459–1465. <https://doi.org/10.1038/S41433-019-0430-2>
- Fautsch, M. P., Johnson, D. H., Acott, T. S., Aihara, M., Bhattacharya, S. K., Borrás, T., Camras, C. B., Civan, M. M., Clark, A. F., Crosson, C. E., Crowston, J. G., Epstein, D., Ethier, C. R., Freddo, T. F., Gong, H., Gonzalez, P., John, S. W., Johnson, M., Kaufman, P. L., ... WuDunn, D. (2006). Aqueous humor outflow: what do we know? Where will it lead us? *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 47(10), 4181–4187. <https://doi.org/10.1167/IOVS.06-0830>
- Ferreira, S. M., Lerner, S. F., Brunzini, R., Evelson, P. A., & Llesuy, S. F. (2009). Antioxidant status in the aqueous humour of patients with glaucoma associated with exfoliation syndrome. *Eye (London, England)*, 23(8), 1691–1697. <https://doi.org/10.1038/EYE.2008.352>
- Fingert, J. H., Stone, E. M., Sheffield, V. C., & Alward, W. L. M. (2002). Myocilin Glaucoma. *Survey of Ophthalmology*, 47(6), 547–561. [https://doi.org/10.1016/S0039-6257\(02\)00353-3](https://doi.org/10.1016/S0039-6257(02)00353-3)
- Flammer, J. (1994). The vascular concept of glaucoma. *Survey of Ophthalmology*, 38 Suppl(SUPPL.). [https://doi.org/10.1016/0039-6257\(94\)90041-8](https://doi.org/10.1016/0039-6257(94)90041-8)
- Flammer, J., Orgül, S., Costa, V. P., Orzalesi, N., Krieglstein, G. K., Serra, L. M., Renard, J. P., & Stefánsson, E. (2002a). The impact of ocular blood flow in glaucoma. *Progress in Retinal and Eye Research*, 21(4), 359–393. [https://doi.org/10.1016/S1350-9462\(02\)00008-3](https://doi.org/10.1016/S1350-9462(02)00008-3)
- Flaxman, S. R., Bourne, R. R. A., Resnikoff, S., Ackland, P., Braithwaite, T., Cicinelli, M. V., Das, A., Jonas, J. B., Keeffe, J., Kempen, J., Leasher, J., Limburg, H., Naidoo, K., Pesudovs, K., Silvester, A., Stevens, G. A., Tahhan, N., Wong, T., Taylor, H., ... Zheng, Y. (2017). Global causes of blindness and distance vision impairment 1990–2020: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health*, 5(12), e1221–e1234. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(17\)30393-5](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(17)30393-5)
- Flohé, L., Toppo, S., Cozza, G., & Ursini, F. (2011). A Comparison of Thiol Peroxidase Mechanisms. *https://Home.Liebertpub.Com/Ars*, 15(3), 763–780. <https://doi.org/10.1089/ARS.2010.3397>

- Flohé, L., Toppo, S., & Orian, L. (2022). The glutathione peroxidase family: Discoveries and mechanism. *Free Radical Biology and Medicine*, *187*, 113–122. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2022.05.003>
- Forman, H. J., Zhang, H., & Rinna, A. (2009). Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*, *30*(1–2), 1. <https://doi.org/10.1016/J.MAM.2008.08.006>
- Foster, P. J., Buhrmann, R., Quigley, H. A., & Johnson, G. J. (2002). The definition and classification of glaucoma in prevalence surveys. *The British Journal of Ophthalmology*, *86*(2), 238–242. <https://doi.org/10.1136/BJO.86.2.238>
- Fraser, C. L. (2014). Obstructive sleep apnea and optic neuropathy: is there a link? *Current Neurology and Neuroscience Reports*, *14*(8). <https://doi.org/10.1007/S11910-014-0465-5>
- Fujimori, S., Abe, Y., Nishi, M., Hamamoto, A., Inoue, Y., Ohnishi, Y., Nishime, C., Matsumoto, H., Yamazaki, H., Kijima, H., Ueyama, Y., Inoue, H., & Nakamura, M. (2004). The subunits of glutamate cysteine ligase enhance cisplatin resistance in human non-small cell lung cancer xenografts in vivo. *International Journal of Oncology*, *25*(2), 413–418. <https://doi.org/10.3892/ijo.25.2.413>
- Gallogly, M. M., & Mieyal, J. J. (2007). Mechanisms of reversible protein glutathionylation in redox signaling and oxidative stress. *Current Opinion in Pharmacology*, *7*(4), 381–391. <https://doi.org/10.1016/J.COPH.2007.06.003>
- Garcia-Medina, J. J., Rubio-Velazquez, E., Lopez-Bernal, M. D., Cobo-Martinez, A., Zanon-Moreno, V., Pinazo-Duran, M. D., & Del-Rio-Vellosillo, M. (2020a). Glaucoma and Antioxidants: Review and Update. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *9*(11), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX9111031>
- Ghanem, A. A., Arafa, L. F., & El-Baz, A. (2010). Oxidative stress markers in patients with primary open-angle glaucoma. *Current Eye Research*, *35*(4), 295–301. <https://doi.org/10.3109/02713680903548970>
- Gharahkhani, P., Jorgenson, E., Hysi, P., Khawaja, A. P., Pendergrass, S., Han, X., Ong, J. S., Hewitt, A. W., Segrè, A. V., Rouhana, J. M., Hamel, A. R., Igo, R. P., Choquet, H., Qassim, A., Josyula, N. S., Cooke Bailey, J. N., Bonnemaier, P. W. M., Iglesias, A., Siggs, O. M., ... Wiggs, J. L. (2021). Genome-wide meta-analysis identifies 127 open-angle glaucoma loci with consistent effect across ancestries. *Nature Communications*, *12*(1), 191. <https://doi.org/10.1038/S41467-020-20851-4>
- Ghyselinck, N. B., & Dufaure, J. P. (1990). A mouse cDNA sequence for epididymal androgen regulated proteins related to glutathione peroxidase. *Nucleic Acids Research*, *18*(23), 7144–7144. <https://doi.org/10.1093/NAR/18.23.7144>
- Goldmann, H., & Schmidt, T. (1957). [Applanation tonometry]. *Ophthalmologica. Journal International d'ophtalmologie. International Journal of Ophthalmology. Zeitschrift Fur Augenheilkunde*, *134*(4), 221–242. <https://doi.org/10.1159/000303213>
- Golubev, A., Hanson, A. D., Gladyshev, V. N., & Banerjee, R. (2017). Non-enzymatic molecular damage as a prototypic driver of aging. *The Journal of Biological Chemistry*, *292*(15), 6029–6038. <https://doi.org/10.1074/JBC.R116.751164>
- Gordon, M. O., Beiser, J. A., Brandt, J. D., Heuer, D. K., Higginbotham, E. J., Johnson, C. A., Keltner, J. L., Philip Miller, J., Parrish, R. K., Roy Wilson, M., & Kass, M. A. (2002). The Ocular Hypertension Treatment Study: Baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Archives of Ophthalmology*, *120*(6), 714–720. <https://doi.org/10.1001/archopht.120.6.714>
- Gordon, M. O., Torri, V., Miglior, S., Beiser, J. A., Floriani, I., Miller, J. P., Gao, F., Adamsons, I., Poli, D., D'Agostino, R. B., & Kass, M. A. (2007). Validated prediction model for the development of primary open-angle glaucoma in individuals with ocular hypertension. *Ophthalmology*, *114*(1), 10-19.e2. <https://doi.org/10.1016/J.OPHTHA.2006.08.031>



- Goyal, A., Srivastava, A., Sihota, R., & Kaur, J. (2014). Evaluation of oxidative stress markers in aqueous humor of primary open angle glaucoma and primary angle closure glaucoma patients. *Current Eye Research*, 39(8), 823–829. <https://doi.org/10.3109/02713683.2011.556299>
- Grzybowski, A., Och, M., Kanclerz, P., Leffler, C., & De Moraes, C. G. (2020). Primary Open Angle Glaucoma and Vascular Risk Factors: A Review of Population Based Studies from 1990 to 2019. *Journal of Clinical Medicine* 2020, Vol. 9, Page 761, 9(3), 761. <https://doi.org/10.3390/JCM9030761>
- Guengerich, F. P. (2005). Activation of alkyl halides by glutathione transferases. *Methods in Enzymology*, 401, 342–353. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)01021-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)01021-9)
- Guengerich, F. P., McCormick, W. A., & Wheeler, J. B. (2003). Analysis of the kinetic mechanism of haloalkane conjugation by mammalian theta-class glutathione transferases. *Chemical Research in Toxicology*, 16(11), 1493–1499. <https://doi.org/10.1021/TX034157R>
- Günzler, W. A., Kremers, H., & Flohé, L. (1974). An Improved Coupled Test Procedure for Glutathione Peroxidase (EC 1.11.1.9.) in Blood. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 12(10), 444–448. <https://doi.org/10.1515/CCLM.1974.12.10.444/MACHINEREADABLECITATION/RIS>
- Ha, A., Kim, C. Y., Shim, S. R., Chang, I. B., & Kim, Y. K. (2022a). Degree of Myopia and Glaucoma Risk: A Dose-Response Meta-analysis. *American Journal of Ophthalmology*, 236, 107–119. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2021.10.007>
- Hamanishi, T., Furuta, H., Kato, H., Doi, A., Tamai, M., Shimomura, H., Sakagashira, S., Nishi, M., Sasaki, H., Sanke, T., & Nanjo, K. (2004). Functional variants in the glutathione peroxidase-1 (GPx-1) gene are associated with increased intima-media thickness of carotid arteries and risk of macrovascular diseases in Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetes*, 53(9), 2455–2460. <https://doi.org/10.2337/DIABETES.53.9.2455>
- Hanus, J., Anderson, C., & Wang, S. (2015). RPE Necroptosis in Response to Oxidative Stress and in AMD. *Ageing Research Reviews*, 24(0 0), 286. <https://doi.org/10.1016/J.ARR.2015.09.002>
- Harada, C., Namekata, K., Guo, X., Yoshida, H., Mitamura, Y., Matsumoto, Y., Tanaka, K., Ichijo, H., & Harada, T. (2010). ASK1 deficiency attenuates neural cell death in GLAST-deficient mice, a model of normal tension glaucoma. *Cell Death and Differentiation*, 17(11), 1751–1759. <https://doi.org/10.1038/CDD.2010.62>
- Harris, A., Rechtman, E., Siesky, B., Jonescu-Cuypers, C., McCranor, L., & Garzozzi, H. J. (2005). The role of optic nerve blood flow in the pathogenesis of glaucoma. *Ophthalmology Clinics of North America*, 18(3), 345–353. <https://doi.org/10.1016/J.OHC.2005.04.001>
- Harrison, F. E., & May, J. M. (2009). Vitamin C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter SVCT2. *Free Radical Biology & Medicine*, 46(6), 719–730. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2008.12.018>
- Hayes, J. D., Flanagan, J. U., & Jowsey, I. R. (2005). Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45, 51–88. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHARMTOX.45.120403.095857>
- Hayes, J. D., & Strange, R. C. (2000). Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology*, 61(3), 154–166. <https://doi.org/10.1159/000028396>
- Hayreh, S. S. (1996). Blood supply of the optic nerve head. *Ophthalmologica. Journal Internationale d'ophtalmologie. International Journal of Ophthalmology. Zeitschrift Fur Augenheilkunde*, 210(5), 285–295. <https://doi.org/10.1159/000310727>
- He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., & Ma, X. (2017). Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, 44(2), 532–553. <https://doi.org/10.1159/000485089>
- Heijl, A., Bengtsson, B., & Oskarsdottir, S. E. (2013). Prevalence and severity of undetected manifest glaucoma: results from the early manifest glaucoma trial screening. *Ophthalmology*, 120(8), 1541–1545. <https://doi.org/10.1016/J.OPHTHA.2013.01.043>

- Henderson, C. J., & Wolf, C. R. (2005). Disruption of the glutathione transferase pi class genes. *Methods in Enzymology*, 401, 116–135. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)01007-4](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)01007-4)
- Hernández-Martínez, F. J., Piñas-García, P., Lleó-Pérez, A. V., Zanón-Moreno, V. C., Bendala-Tufanisco, E., García-Medina, J. J., Vinuesa-Silva, I., & Pinazo-Durán, M. D. (2016). Biomarkers of lipid peroxidation in the aqueous humor of primary open-angle glaucoma patients. *Archivos de La Sociedad Espanola de Oftalmologia*, 91(8), 357–362. <https://doi.org/10.1016/J.OFTAL.2016.01.031>
- Hewitt, A. W., Mackey, D. A., & Craig, J. E. (2008). Myocilin allele-specific glaucoma phenotype database. *Human Mutation*, 29(2), 207–211. <https://doi.org/10.1002/HUMU.20634>
- Holley, A. K., Bakthavatchalu, V., Velez-Roman, J. M., & St. Clair, D. K. (2011). Manganese superoxide dismutase: guardian of the powerhouse. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(10), 7114–7162. <https://doi.org/10.3390/IJMS12107114>
- Hrycay, E. G., & Bandiera, S. M. (2015). Involvement of Cytochrome P450 in Reactive Oxygen Species Formation and Cancer. *Advances in Pharmacology (San Diego, Calif.)*, 74, 35–84. <https://doi.org/10.1016/BS.APHA.2015.03.003>
- Hsu, C. H., Chen, R. I., & Lin, S. C. (2015). Myopia and glaucoma: sorting out the difference. *Current Opinion in Ophthalmology*, 26(2), 90–95. <https://doi.org/10.1097/ICU.0000000000000124>
- Hsu, K. H., Carbia, B. E., Plummer, C., & Chauhan, A. (2015). Dual drug delivery from vitamin E loaded contact lenses for glaucoma therapy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics : Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.*, 94, 312–321. <https://doi.org/10.1016/J.EJPB.2015.06.001>
- Hu, X., O'Donnell, R., Srivastava, S. K., Xia, H., Zimniak, P., Nanduri, B., Bleicher, R. J., Awasthi, S., Awasthi, Y. C., Ji, X., & Singh, S. V. (1997). Active site architecture of polymorphic forms of human glutathione S-transferase P1-1 accounts for their enantioselectivity and disparate activity in the glutathione conjugation of 7beta,8alpha-dihydroxy-9alpha,10alpha-ox y-7,8,9,10-tetrahydrobenzo(a)pyrene. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 235(2), 424–428. <https://doi.org/10.1006/BBRC.1997.6777>
- Huang, W., Wang, W., Zhou, M., Chen, S., & Zhang, X. (2013). Association of glutathione S-transferase polymorphisms (GSTM1 and GSTT1) with primary open-angle glaucoma: an evidence-based meta-analysis. *Gene*, 526(2), 80–86. <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2013.05.032>
- Hughes, E. H., Spry, P., & Diamond, J. (2003). 24-hour monitoring of intraocular pressure in glaucoma management: a retrospective review. *Journal of Glaucoma*, 12(3), 232–236. <https://doi.org/10.1097/00061198-200306000-00009>
- Ingold, N., Campos, A. I., Han, X., Ong, J. S., Gharahkhani, P., Mackey, D. A., Rentería, M. E., Law, M. H., & MacGregor, S. (2022). Is Genetic Risk for Sleep Apnea Causally Linked With Glaucoma Susceptibility? *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 63(1). <https://doi.org/10.1167/IOVS.63.1.25>
- Inman, D. M., Lambert, W. S., Calkins, D. J., & Horner, P. J. (2013).  $\alpha$ -Lipoic acid antioxidant treatment limits glaucoma-related retinal ganglion cell death and dysfunction. *PloS One*, 8(6). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0065389>
- Ivanov, I. V., Mappes, T., Schaupp, P., Lappe, C., & Wahl, S. (2018). Ultraviolet radiation oxidative stress affects eye health. *Journal of Biophotonics*, 11(7). <https://doi.org/10.1002/JBIO.201700377>
- Iwase, A., Suzuki, Y., Araie, M., Yamamoto, T., Abe, H., Shirato, S., Kuwayama, Y., Mishima, H. K., Shimizu, H., Tomita, G., Inoue, Y., & Kitazawa, Y. (2004). The prevalence of primary open-angle glaucoma in Japanese: the Tajimi Study. *Ophthalmology*, 111(9), 1641–1648. <https://doi.org/10.1016/J.OPHTHA.2004.03.029>
- Izzotti, A., Bagnis, A., & Saccà, S. C. (2006). The role of oxidative stress in glaucoma. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 612(2), 105–114. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2005.11.001>

- Izzotti, A., Saccà, S. C., Cartiglia, C., & De Flora, S. (2003). Oxidative deoxyribonucleic acid damage in the eyes of glaucoma patients. *American Journal of Medicine*, *114*(8), 638–646. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(03\)00114-1](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(03)00114-1)
- Izzotti, A., Saccà, S. C., Longobardi, M., & Cartiglia, C. (2010). Mitochondrial damage in the trabecular meshwork of patients with glaucoma. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, *128*(6), 724–730. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHTHALMOL.2010.87>
- Jansson, M., Rada, A., Tomic, L., Larsson, L. I., & Wadelius, C. (2003). Analysis of the Glutathione S-transferase M1 gene using pyrosequencing and multiplex PCR-no evidence of association to glaucoma. *Experimental Eye Research*, *77*(2), 239–243. [https://doi.org/10.1016/S0014-4835\(03\)00109-X](https://doi.org/10.1016/S0014-4835(03)00109-X)
- Jiang, S., Kametani, M., & Chen, D. F. (2020). Adaptive Immunity: New Aspects of Pathogenesis Underlying Neurodegeneration in Glaucoma and Optic Neuropathy. *Frontiers in Immunology*, *11*, 65. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.00065>
- Jonas, J. B., Wang, Y. X., Dong, L., & Panda-Jonas, S. (2020). High Myopia and Glaucoma-Like Optic Neuropathy. *Asia-Pacific Journal of Ophthalmology (Philadelphia, Pa.)*, *9*(3), 234–238. <https://doi.org/10.1097/APO.0000000000000288>
- Jones, J. T., Qian, X., van der Velden, J. L. J., Chia, S. B., McMillan, D. H., Flemer, S., Hoffman, S. M., Lahue, K. G., Schneider, R. W., Nolin, J. D., Anathy, V., van der Vliet, A., Townsend, D. M., Tew, K. D., & Janssen-Heininger, Y. M. W. (2016). Glutathione S-transferase pi modulates NF- $\kappa$ B activation and pro-inflammatory responses in lung epithelial cells. *Redox Biology*, *8*, 375–382. <https://doi.org/10.1016/J.REDOX.2016.03.005>
- Jost B Jonas, Tin Aung, Rupert R Bourne, Alain M Bron, Robert Ritch, & Songhomitra Panda-Jonas. (2017). Glaucoma. *The Lancet*, *390*, 2183–2193. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(17\)31469-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(17)31469-1)
- Juronen, E., Tasa, G., Veromann, S., Parts, L., Tiidla, A., Pulges, R., Panov, A., Soovere, L., Koka, K., & Mikelsaar, A. V. (2000a). Polymorphic glutathione S-transferase M1 is a risk factor of primary open-angle glaucoma among Estonians. *Experimental Eye Research*, *71*(5), 447–452. <https://doi.org/10.1006/EXER.2000.0899>
- Juronen, E., Tasa, G., Veromann, S., Parts, L., Tiidla, A., Pulges, R., Panov, A., Soovere, L., Koka, K., & Mikelsaar, A. V. (2000b). Polymorphic glutathione S-transferase M1 is a risk factor of primary open-angle glaucoma among Estonians. *Experimental Eye Research*, *71*(5), 447–452. <https://doi.org/10.1006/EXER.2000.0899>
- Kalinina, E. V., & Novichkova, M. D. (2023). S-Glutathionylation and S-Nitrosylation as Modulators of Redox-Dependent Processes in Cancer Cell. *Biochemistry (Moscow)* *2023* *88*:7, *88*(7), 924–943. <https://doi.org/10.1134/S0006297923070064>
- Kannan, R., Stolz, A., Ji, Q., Prasad, P. D., & Ganapathy, V. (2001). Vitamin C transport in human lens epithelial cells: evidence for the presence of SVCT2. *Experimental Eye Research*, *73*(2), 159–165. <https://doi.org/10.1006/EXER.2001.1024>
- Kapetanakis, V. V., Chan, M. P. Y., Foster, P. J., Cook, D. G., Owen, C. G., & Rudnicka, A. R. (2016). Global variations and time trends in the prevalence of primary open angle glaucoma (POAG): A systematic review and meta-analysis. *British Journal of Ophthalmology*, *100*(1), 86–93. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2015-307223>
- Kaplowitz, N., Aw, T. Y., & Ookhtens, M. (1985). The regulation of hepatic glutathione. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *25*(1), 715–744. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PA.25.040185.003435>
- Kass, M. A., Heuer, D. K., Higginbotham, E. J., Johnson, C. A., Keltner, J. L., Philip Miller, J., Parrish, R. K., Roy Wilson, M., & Gordon, M. O. (2002). The Ocular Hypertension Treatment Study: A randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Archives of Ophthalmology*, *120*(6), 701–713. <https://doi.org/10.1001/archopht.120.6.701>
- Katome, T., Namekata, K., Guo, X., Semba, K., Kittaka, D., Kawamura, K., Kimura, A., Harada, C., Ichijo, H., Mitamura, Y., & Harada, T. (2013). Inhibition of ASK1-p38 pathway prevents neural

- cell death following optic nerve injury. *Cell Death and Differentiation*, 20(2), 270–280. <https://doi.org/10.1038/CDD.2012.122>
- Kim, C. S., Seong, G. J., Lee, N. H., & Song, K. C. (2011). Prevalence of primary open-angle glaucoma in central South Korea the Namil study. *Ophthalmology*, 118(6), 1024–1030. <https://doi.org/10.1016/J.OPHTHA.2010.10.016>
- Kong, G. Y. X., Van Bergen, N. J., Trounce, I. A., & Crowston, J. G. (2009). Mitochondrial dysfunction and glaucoma. *Journal of Glaucoma*, 18(2), 93–100. <https://doi.org/10.1097/IJG.0B013E318181284F>
- Konieczka, K., Choi, H. J., Koch, S., Fankhauser, F., Schoetzau, A., & Kim, D. M. (2017). Relationship between normal tension glaucoma and Flammer syndrome. *The EPMA Journal*, 8(2), 111–117. <https://doi.org/10.1007/S13167-017-0097-3>
- Koppenol, W. H., & Hider, R. H. (2019). Iron and redox cycling. Do's and don'ts. *Free Radical Biology & Medicine*, 133, 3–10. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2018.09.022>
- Kryukov, G. V., Castellano, S., Novoselov, S. V., Lobanov, A. V., Zehrab, O., Guigó, R., & Gladyshev, V. N. (2003). Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science*, 300(5624), 1439–1443. [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1083516/SUPPL\\_FILE/KRYUKOV.SOM.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1083516/SUPPL_FILE/KRYUKOV.SOM.PDF)
- Kurtovic, S., Grehn, L., Karlsson, A., Hellman, U., & Mannervik, B. (2008). Glutathione transferase activity with a novel substrate mimics the activation of the prodrug azathioprine. *Analytical Biochemistry*, 375(2), 339–344. <https://doi.org/10.1016/J.AB.2007.12.033>
- Landi, S. (2000). Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: A review. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 463(3), 247–283. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(00\)00050-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(00)00050-8)
- Lavaris A, Gazouli M, Brouzas D, & Moschos MM. (2016). Polymorphism Analysis of GSTM1 and OPA1 Genes in Greek Patients with Primary Open-angle Glaucoma. *In Vivo*, 30(4), 473–477.
- Lebrun-Julien, F., Duplan, L., Pernet, V., Osswald, I., Sapieha, P., Bourgeois, P., Dickson, K., Bowie, D., Barker, P. A., & Di Polo, A. (2009). Excitotoxic death of retinal neurons in vivo occurs via a non-cell-autonomous mechanism. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(17), 5536–5545. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0831-09.2009>
- Lennicke, C., & Cochemé, H. M. (2021). Redox metabolism: ROS as specific molecular regulators of cell signaling and function. *Molecular Cell*, 81(18), 3691–3707. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2021.08.018>
- Leske, M. C. (2009). Ocular perfusion pressure and glaucoma: clinical trial and epidemiologic findings. *Current Opinion in Ophthalmology*, 20(2), 73–78. <https://doi.org/10.1097/ICU.0B013E32831EEF82>
- Leske, M. C., Heijl, A., Hussein, M., Bengtsson, B., Hyman, L., & Komaroff, E. (2003). Factors for glaucoma progression and the effect of treatment: the early manifest glaucoma trial. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, 121(1), 48–56. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHT.121.1.48>
- Levkovitch-Verbin, H., Quigley, H. A., Martin, K. R. G., Harizman, N., Valenta, D. F., Pease, M. E., & Melamed, S. (2005). The transcription factor c-jun is activated in retinal ganglion cells in experimental rat glaucoma. *Experimental Eye Research*, 80(5), 663–670. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2004.11.016>
- Lin, Y. C., Huang, G. Da, Hsieh, C. W., & Wung, B. S. (2012). The glutathionylation of p65 modulates NF-κB activity in 15-deoxy-Δ<sup>12,14</sup>-prostaglandin J<sub>2</sub>-treated endothelial cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 52(9), 1844–1853. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2012.02.028>
- Liu, A., Wang, L., Feng, Q., Zhang, D., Chen, K., Yiming, G. H., Wang, Q., Hong, Y., Whelchel, A., Zhang, X., Li, X., & Dong, L. (2021). Low expression of GSTP1 in the aqueous humour of patients with primary open-angle glaucoma. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 25(6), 3063–3079. <https://doi.org/10.1111/JCMM.16361>

- Liu, M., Sun, X., Chen, B., Dai, R., Xi, Z., & Xu, H. (2022). Insights into Manganese Superoxide Dismutase and Human Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(24). <https://doi.org/10.3390/IJMS232415893>
- Liu, Y., & Allingham, R. R. (n.d.). *Major review: Molecular Genetics of Primary Open-Angle Glaucoma*. [www.myocilin.com](http://www.myocilin.com)
- Liu, Y., & Allingham, R. R. (2011). Molecular genetics in glaucoma. *Experimental Eye Research*, 93(4), 331–339. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2011.08.007>
- Lu, S. C. (2013). GLUTATHIONE SYNTHESIS. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830(5), 3143. <https://doi.org/10.1016/J.BBAGEN.2012.09.008>
- Lu, Y., Shi, Y., Yin, J., & Huang, Z. (2013). Are glutathione S-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTT1) associated with primary open angle glaucoma? A meta-analysis. *Gene*, 527(1), 311–315. <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2013.06.031>
- Lubos, E., Loscalzo, J., & Handy, D. E. (2011). Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(7), 1957–1997. <https://doi.org/10.1089/ARS.2010.3586>
- Malinowska, K., Kowalski, M., Szaflik, J., Szaflik, J. P., & Majsterek, I. (2016). The role of Cat - 262C/T, GPX1 Pro198Leu and Sod1+35A/C gene polymorphisms in a development of primary open-angle glaucoma in a Polish population. *Polish Journal of Pathology : Official Journal of the Polish Society of Pathologists*, 67(4), 404–410. <https://doi.org/10.5114/PJP.2016.65875>
- Manevich, Y., & Fisher, A. B. (2005). Peroxiredoxin 6, a 1-Cys peroxiredoxin, functions in antioxidant defense and lung phospholipid metabolism. *Free Radical Biology & Medicine*, 38(11), 1422–1432. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2005.02.011>
- Mannervik, B. (1985). The isoenzymes of glutathione transferase. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, 57, 357–417. <https://doi.org/10.1002/9780470123034.CH5>
- Marcus, M. W., De Vries, M. M., Junoy Montolio, F. G., & Jansonius, N. M. (2011). Myopia as a risk factor for open-angle glaucoma: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*, 118(10), 1989–1994.e2. <https://doi.org/10.1016/J.OPHTHA.2011.03.012>
- Mazari, A. M. A., Zhang, L., Ye, Z. W., Zhang, J., Tew, K. D., & Townsend, D. M. (2023). The Multifaceted Role of Glutathione S-Transferases in Health and Disease. *Biomolecules*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/BIOM13040688>
- McIlwain, C. C., Townsend, D. M., & Tew, K. D. (2006). Glutathione S-transferase polymorphisms: cancer incidence and therapy. *Oncogene*, 25(11), 1639–1648. <https://doi.org/10.1038/SJ.ONC.1209373>
- Menon, D., & Board, P. G. (2013). A role for glutathione transferase Omega 1 (GSTO1-1) in the glutathionylation cycle. *The Journal of Biological Chemistry*, 288(36), 25769–25779. <https://doi.org/10.1074/JBC.M113.487785>
- Miao, L., & St. Clair, D. K. (2009). Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free Radical Biology & Medicine*, 47(4), 344–356. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2009.05.018>
- Miriyala, S., Spasojevic, I., Tovmasyan, A., Salvemini, D., Vujaskovic, Z., St. Clair, D., & Batinic-Haberle, I. (2012). Manganese superoxide dismutase, MnSOD and its mimics. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1822(5), 794. <https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2011.12.002>
- Mitchell, P., Smith, W., Attebo, K., & Healey, P. R. (1996). Prevalence of open-angle glaucoma in Australia. The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*, 103(10), 1661–1669. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(96\)30449-1](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(96)30449-1)
- Monemi, S., Spaeth, G., DaSilva, A., Popinchalk, S., Ilitchev, E., Liebmann, J., Ritch, R., Héon, E., Crick, R. P., Child, A., & Sarfarazi, M. (2005). Identification of a novel adult-onset primary open-angle glaucoma (POAG) gene on 5q22.1. *Human Molecular Genetics*, 14(6), 725–733. <https://doi.org/10.1093/HMG/DDI068>
- Mozaffarieh, M., Grieshaber, M. C., & Flammer, J. (2008). Oxygen and blood flow: players in the pathogenesis of glaucoma. *Molecular Vision*, 14, 224. <http://pmc/articles/PMC2267728/>

- Mukherjee, B., Salavaggione, O. E., Pelleymounter, L. L., Moon, I., Eckloff, B. W., Schaid, D. J., Wieben, E. D., & Weinshilboum, R. M. (2006). Glutathione S-transferase omega 1 and omega 2 pharmacogenomics. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 34(7), 1237–1246. <https://doi.org/10.1124/DMD.106.009613>
- Musch, D. C., Gillespie, B. W., Lichter, P. R., Niziol, L. M., & Janz, N. K. (2009). Visual field progression in the Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study the impact of treatment and other baseline factors. *Ophthalmology*, 116(2). <https://doi.org/10.1016/J.OPHTHA.2008.08.051>
- Muscogiuri, G., Salmon, A. B., Aguayo-Mazzucato, C., Li, M., Balas, B., Guardado-Mendoza, R., Giaccari, A., Reddick, R. L., Reyna, S. M., Weir, G., DeFronzo, R. A., Van Remmen, H., & Musi, N. (2013). Genetic disruption of SOD1 gene causes glucose intolerance and impairs  $\beta$ -cell function. *Diabetes*, 62(12), 4201–4207. <https://doi.org/10.2337/DB13-0314>
- Nakamura, H., & Takada, K. (2021). Reactive oxygen species in cancer: Current findings and future directions. *Cancer Science*, 112(10), 3945–3952. <https://doi.org/10.1111/CAS.15068>
- Nannini, D. R., Kim, H., Fan, F., & Gao, X. (2018). Genetic Risk Score Is Associated with Vertical Cup-to-Disc Ratio and Improves Prediction of Primary Open-Angle Glaucoma in Latinos. *Ophthalmology*, 125(6), 815–821. <https://doi.org/10.1016/J.OPHTHA.2017.12.014>
- Nelson, H. H., Wiencke, J. K., Christiani, D. C., Cheng, T. J., Zuo, Z. F., Schwartz, B. S., Lee, B. K., Spitz, M. R., Wang, M., Xu, X., & Kelsey, K. T. (1995). Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of glutathione S-transferase theta. *Carcinogenesis*, 16(5), 1243–1246. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/16.5.1243>
- Nita, M., & Grzybowski, A. (2016). The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3164734>
- Nouri-Mahdavi, K., Hoffman, D., Coleman, A. L., Liu, G., Li, G., Gaasterland, D., & Caprioli, J. (2004). Predictive factors for glaucomatous visual field progression in the Advanced Glaucoma Intervention Study. *Ophthalmology*, 111(9), 1627–1635. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2004.02.017>
- Osborne, N. N., Núñez-Álvarez, C., del Olmo-Aguado, S., & Merrayo-Lloves, J. (2017). Visual light effects on mitochondria: The potential implications in relation to glaucoma. *Mitochondrion*, 36, 29–35. <https://doi.org/10.1016/J.MITO.2016.11.009>
- Papa, L., Manfredi, G., & Germain, D. (2014). SOD1, an unexpected novel target for cancer therapy. *Genes & Cancer*, 5(1–2), 15–21. <https://doi.org/10.18632/GENESANDCANCER.4>
- Parvez, S., Long, M. J. C., Poganik, J. R., & Aye, Y. (2018). Redox Signaling by Reactive Electrophiles and Oxidants. *Chemical Reviews*, 118(18), 8798–8888. <https://doi.org/10.1021/ACS.CHEMREV.7B00698>
- Pearson, W. R., Vorachek, W. R., Xu, S. J., Berger, R., Hart, I., Vannais, D., & Patterson, D. (1993). Identification of class-mu glutathione transferase genes GSTM1-GSTM5 on human chromosome 1p13. *American Journal of Human Genetics*, 53(1), 220. [/pmc/articles/PMC1682241/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10711692/)
- Pease, M. E., McKinnon, S. J., Quigley, H. A., Kerrigan-Baumrind, L. A., & Zack, D. J. (2000). Obstructed axonal transport of BDNF and its receptor TrkB in experimental glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 41(3), 764–774. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10711692/>
- Pemble, S. E., & Taylor, J. B. (1992). An evolutionary perspective on glutathione transferases inferred from class-theta glutathione transferase cDNA sequences. *The Biochemical Journal*, 287 ( Pt 3)(Pt 3), 957–963. <https://doi.org/10.1042/BJ2870957>
- Pérez-Figueroa, E., Álvarez-Carrasco, P., Ortega, E., & Maldonado-Bernal, C. (2021). Neutrophils: Many Ways to Die. *Frontiers in Immunology*, 12, 631821. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.631821>

- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science : IJBS*, 4(2), 89. /pmc/articles/PMC3614697/
- Pinazo-Durán, M. D., Gallego-Pinazo, R., García-Medina, J. J., Zanón-Moreno, V., Nucci, C., Dolz-Marco, R., Martínez-Castillo, S., Galbis-Estrada, C., Marco-Ramírez, C., López-Gálvez, M. I., Galarreta, D. J., & Díaz-Llópis, M. (2014). Oxidative stress and its downstream signaling in aging eyes. *Clinical Interventions in Aging*, 9, 637–652. <https://doi.org/10.2147/CIA.S52662>
- Potashkin, J. A., & Meredith, G. E. (2006). The role of oxidative stress in the dysregulation of gene expression and protein metabolism in neurodegenerative disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 8(1–2), 144–151. <https://doi.org/10.1089/ARS.2006.8.144>
- Price Evans, D. A., Seidegård, J., & Narayanan, N. (1996). The GSTM1 genetic polymorphism in healthy Saudi Arabians and Filipinos, and Saudi Arabians with coronary atherosclerosis. *Pharmacogenetics*, 6(4), 365–367. <https://doi.org/10.1097/00008571-199608000-00011>
- Quigley, H. A. (2011). Glaucoma. *The Lancet*, 377(9774), 1367–1377. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61423-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61423-7)
- Radic, T. M., Coric, V. M., Pljesa-Ercegovac, M. S., Basta-Jovanovic, G. M., Radojevic-Skodric, S. M., Dragicevic, D. P., Matic, M. G., Bogdanovic, L. M., Dzamic, Z. M., Simic, T. P., & Savic-Radojevic, A. R. (2018). Concomitance of Polymorphisms in Glutathione Transferase Omega Genes Is Associated with Risk of Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 246(1), 35–44. <https://doi.org/10.1620/TJEM.246.35>
- Ramdas, W. D., Wolfs, R. C. W., Hofman, A., de Jong Paulus, T. V. M., Vingerling, J. R., & Jansonius, N. M. (2011). Ocular perfusion pressure and the incidence of glaucoma: real effect or artifact? The Rotterdam Study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(9), 6875–6881. <https://doi.org/10.1167/IOVS.11-7376>
- Ravn-Haren, G., Olsen, A., Tjønneland, A., Dragsted, L. O., Nexø, B. A., Wallin, H., Overvad, K., Raaschou-Nielsen, O., & Vogel, U. (2006). Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. *Carcinogenesis*, 27(4), 820–825. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGI267>
- Ray, P. D., Huang, B. W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling*, 24(5), 981–990. <https://doi.org/10.1016/J.CELLSIG.2012.01.008>
- Roberts, M. D., Grau, V., Grimm, J., Reynaud, J., Bellezza, A. J., Burgoyne, C. F., & Downs, J. C. (2009). Remodeling of the connective tissue microarchitecture of the lamina cribrosa in early experimental glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 50(2), 681–690. <https://doi.org/10.1167/IOVS.08-1792>
- Rocha, A. V., Talbot, T., da Silva, T. M., Almeida, M. C., Menezes, C. A., di Pietro, G., & Rios-Santos, F. (2011). Is the GSTM1 null polymorphism a risk factor in Primary Open Angle Glaucoma? *Molecular Vision*, 17, 1679. /pmc/articles/PMC3130720/
- Rosen, D. R., Siddique, T., Patterson, D., Figlewicz, D. A., Sapp, P., Hentati, A., Donaldson, D., Goto, J., O'Regan, J. P., Deng, H. X., Rahmani, Z., Krizus, A., McKenna-Yasek, D., Cayabyab, A., Gaston, S. M., Berger, R., Tanzi, R. E., Halperin, J. J., Herzfeldt, B., ... Brown, R. H. (1993). Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*, 362(6415), 59–62. <https://doi.org/10.1038/362059A0>
- Rosenblum, J. S., Gilula, N. B., & Lerner, R. A. (1996). On signal sequence polymorphisms and diseases of distribution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(9), 4471–4473. <https://doi.org/10.1073/PNAS.93.9.4471>
- Rotchford, A. P., Kirwan, J. F., Muller, M. A., Johnson, G. J., & Roux, P. (2003). Temba glaucoma study: a population-based cross-sectional survey in urban South Africa. *Ophthalmology*, 110(2), 376–382. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(02\)01568-3](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(02)01568-3)
- Russo, R., Varano, G. P., Adornetto, A., Nucci, C., Corasaniti, M. T., Bagetta, G., & Morrone, L. A. (2016). Retinal ganglion cell death in glaucoma: Exploring the role of neuroinflammation.

*European Journal of Pharmacology*, 787, 134–142.

<https://doi.org/10.1016/J.EJPBAR.2016.03.064>

- Saccà, S. C., & Izzotti, A. (2008). Oxidative stress and glaucoma: injury in the anterior segment of the eye. *Progress in Brain Research*, 173, 385–407. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)01127-8](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)01127-8)
- Saccà, S. C., Izzotti, A., Rossi, P., & Traverso, C. (2007). Glaucomatous outflow pathway and oxidative stress. *Experimental Eye Research*, 84(3), 389–399. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2006.10.008>
- Safa, F. K., Shahsavari, G., & Abyaneh, R. Z. (2014). Glutathione s-transferase M1 and T1 genetic polymorphisms in Iranian patients with glaucoma. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(5), 332–336. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24967061/>
- Sbodio, J. I., Snyder, S. H., & Paul, B. D. (2019). Redox Mechanisms in Neurodegeneration: From Disease Outcomes to Therapeutic Opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*, 30(11), 1450–1499. <https://doi.org/10.1089/ARS.2017.7321>
- Schmidl, D., Garhofer, G., & Schmetterer, L. (2011). The complex interaction between ocular perfusion pressure and ocular blood flow - relevance for glaucoma. *Experimental Eye Research*, 93(2), 141–155. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2010.09.002>
- Schmuck, E. M., Board, P. G., Whitbread, A. K., Tetlow, N., Cavanaugh, J. A., Blackburn, A. C., & Masoumi, A. (2005). Characterization of the monomethylarsonate reductase and dehydroascorbate reductase activities of Omega class glutathione transferase variants: implications for arsenic metabolism and the age-at-onset of Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Pharmacogenetics and Genomics*, 15(7), 493–501. <https://doi.org/10.1097/01.FPC.0000165725.81559.E3>
- Scuteri, D., Rombolà, L., Watanabe, C., Sakurada, S., Corasaniti, M. T., Bagetta, G., Tonin, P., Russo, R., Nucci, C., & Morrone, L. A. (2020). Impact of nutraceuticals on glaucoma: A systematic review. *Progress in Brain Research*, 257, 141–154. <https://doi.org/10.1016/BS.PBR.2020.07.014>
- Seen, S., & Tong, L. (2018). Dry eye disease and oxidative stress. *Acta Ophthalmologica*, 96(4), e412–e420. <https://doi.org/10.1111/aos.13526>
- Seidegård, J., & Pero, R. (1988). The genetic variation and the expression of human glutathione transferase mu. *Klin Wochenschr.*, 66(11), 125–126.
- Shi, Y., Liu, P., Guan, J., Lu, Y., & Su, K. (2015). Association between glaucoma and obstructive sleep apnea syndrome: a meta-analysis and systematic review. *PloS One*, 10(2). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0115625>
- Shields, M. B. (2008). Normal-tension glaucoma: is it different from primary open-angle glaucoma? *Current Opinion in Ophthalmology*, 19(2), 85–88. <https://doi.org/10.1097/ICU.0B013E3282F3919B>
- Shiga, Y., Akiyama, M., Nishiguchi, K. M., Sato, K., Shimozawa, N., Takahashi, A., Momozawa, Y., Hirata, M., Matsuda, K., Yamaji, T., Iwasaki, M., Tsugane, S., Oze, I., Mikami, H., Naito, M., Wakai, K., Yoshikawa, M., Miyake, M., Yamashiro, K., ... Kubo, M. (2018). Genome-wide association study identifies seven novel susceptibility loci for primary open-angle glaucoma. *Human Molecular Genetics*, 27(8), 1486–1496. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy053>
- Shimoda-Matsubayashi, S., Matsumine, H., Kobayashi, T., Nakagawa-Hattori, Y., Shimizu, Y., & Mizuno, Y. (1996). Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene. A predictive evidence for conformational change to influence mitochondrial transport and a study of allelic association in Parkinson's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 226(2), 561–565. <https://doi.org/10.1006/BBRC.1996.1394>
- Siegfried, C. J., Shui, Y. B., Holekamp, N. M., Bai, F., & Beebe, D. C. (2011). Racial differences in ocular oxidative metabolism: implications for ocular disease. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, 129(7), 849–854. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHTHALMOL.2011.169>



- Sies, H. (2017). Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox Biology*, *11*, 613–619. <https://doi.org/10.1016/J.REDOX.2016.12.035>
- Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry*, *86*, 715–748. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-BIOCHEM-061516-045037>
- Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, *21*(7), 363–383. <https://doi.org/10.1038/S41580-020-0230-3>
- Silva, C. T. X., Costa, N. B., Silva, K. S. F., Silva, R. E., & Moura, K. K. V. O. (2014). Association between primary open angle glaucoma and genetic polymorphisms GSTM1/GSTT1 in patients from Goiânia Central-West Region of Brazil. *Genetics and Molecular Research : GMR*, *13*(4), 8870–8875. <https://doi.org/10.4238/2014.OCTOBER.31.2>
- Singh, R. R., & Reindl, K. M. (2021). Glutathione S-Transferases in Cancer. *Antioxidants 2021, Vol. 10, Page 701, 10*(5), 701. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX10050701>
- Skrzypecki, J., Ufnal, M., Szaflik, J. P., & Filipiak, K. J. (2019). Blood pressure and glaucoma: At the crossroads between cardiology and ophthalmology. *Cardiology Journal*, *26*(1), 8–12. <https://doi.org/10.5603/CJ.2019.0008>
- Song, B. J., Aiello, L. P., & Pasquale, L. R. (2016). Presence and Risk Factors for Glaucoma in Patients with Diabetes. *Current Diabetes Reports*, *16*(12). <https://doi.org/10.1007/S11892-016-0815-6>
- Sreekumar, P. G., Hinton, D. R., Kannan, R., & Martin, P. M. (2020). The Emerging Role of Senescence in Ocular Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2020*. <https://doi.org/10.1155/2020/2583601>
- Stamenkovic, M., Lukic, V., & Djukic, T. (n.d.). *GSTM1-null and GSTT1-active genotypes as risk determinants of primary open angle glaucoma among smokers*.
- Stamenkovic, M., Radic, T., Stefanovic, I., Coric, V., Sencanic, I., Pljesa-Ercegovac, M., Matic, M., Jaksic, V., Simic, T., & Savic-Radojevic, A. (2014). Glutathione S-transferase omega-2 polymorphism Asn142Asp modifies the risk of age-related cataract in smokers and subjects exposed to ultraviolet irradiation. *Clinical and Experimental Ophthalmology*, *42*(3), 277–283. <https://doi.org/10.1111/CEO.12180>
- Sutton, A., Imbert, A., Igoudjil, A., Descatoire, V., Cazanave, S., Pessayre, D., & Degoul, F. (2005). The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability. *Pharmacogenetics and Genomics*, *15*(5), 311–319. <https://doi.org/10.1097/01213011-200505000-00006>
- Sutton, A., Khoury, H., Prip-Buus, C., Capanec, C., Pessayre, D., & Degoul, F. (2003). The Ala16Val genetic dimorphism modulates the import of human manganese superoxide dismutase into rat liver mitochondria. *Pharmacogenetics*, *13*(3), 145–157. <https://doi.org/10.1097/01.FPC.0000054067.64000.8F>
- Swarup, G., & Sayyad, Z. (2018). Altered Functions and Interactions of Glaucoma-Associated Mutants of Optineurin. *Frontiers in Immunology*, *9*(JUN). <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.01287>
- Taylor, J. P., & Tse, H. M. (2021). The role of NADPH oxidases in infectious and inflammatory diseases. *Redox Biology*, *48*, 102159. <https://doi.org/10.1016/J.REDOX.2021.102159>
- Tejero, J., Shiva, S., & Gladwin, M. T. (2019). SOURCES OF VASCULAR NITRIC OXIDE AND REACTIVE OXYGEN SPECIES AND THEIR REGULATION. *Physiological Reviews*, *99*(1), 311. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00036.2017>
- Tew, K. D., & Townsend, D. M. (2011). Regulatory functions of glutathione S-transferase P1-1 unrelated to detoxification. *Drug Metabolism Reviews*, *43*(2), 179–193. <https://doi.org/10.3109/03602532.2011.552912>

- Tew, K. D., & Townsend, D. M. (2012). Glutathione-S-Transferases As Determinants of Cell Survival and Death. *Antioxidants & Redox Signaling*, *17*(12), 1728. <https://doi.org/10.1089/ARS.2012.4640>
- Tezel, G. (2006). Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: Mechanisms and consequences. In *Progress in Retinal and Eye Research* (Vol. 25, Issue 5, pp. 490–513). Prog Retin Eye Res. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2006.07.003>
- Tezel, G., Chauhan, B. C., LeBlanc, R. P., & Wax, M. B. (2003). Immunohistochemical assessment of the glial mitogen-activated protein kinase activation in glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *44*(7), 3025–3033. <https://doi.org/10.1167/IOVS.02-1136>
- Tezel, G., & Wax, M. B. (2004). Hypoxia-inducible factor 1alpha in the glaucomatous retina and optic nerve head. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, *122*(9), 1348–1356. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHT.122.9.1348>
- Tham, Y. C., Li, X., Wong, T. Y., Quigley, H. A., Aung, T., & Cheng, C. Y. (2014). Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: A systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*, *121*(11), 2081–2090. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.05.013>
- Theodossiou, T. A., Olsen, C. E., Jonsson, M., Kubin, A., Hothersall, J. S., & Berg, K. (2017). The diverse roles of glutathione-associated cell resistance against hypericin photodynamic therapy. *Redox Biology*, *12*, 191–197. <https://doi.org/10.1016/J.REDOX.2017.02.018>
- Thompson, B., Davidson, E. A., Chen, Y., Orlicky, D. J., Thompson, D. C., & Vasiliou, V. (2022). Oxidative stress induces inflammation of lens cells and triggers immune surveillance of ocular tissues. *Chemico-Biological Interactions*, *355*. <https://doi.org/10.1016/J.CBI.2022.109804>
- Topouzis, F., Coleman, A. L., Harris, A., Koskosas, A., Founti, P., Gong, G., Yu, F., Anastasopoulos, E., Pappas, T., & Wilson, M. R. (2008). Factors associated with undiagnosed open-angle glaucoma: the Thessaloniki Eye Study. *American Journal of Ophthalmology*, *145*(2). <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2007.09.013>
- Toris, C. B., Camras, C. B., & Yablonski, M. E. (1993). Effects of PhXA41, a new prostaglandin F2 alpha analog, on aqueous humor dynamics in human eyes. *Ophthalmology*, *100*(9), 1297–1304. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(93\)31484-3](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(93)31484-3)
- Toris, C. B., Yablonski, M. E., Wang, Y. L., & Camras, C. B. (1999). Aqueous humor dynamics in the aging human eye. *American Journal of Ophthalmology*, *127*(4), 407–412. [https://doi.org/10.1016/S0002-9394\(98\)00436-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9394(98)00436-X)
- Townsend, D. M., Findlay, V. L., & Tew, K. D. (2005). Glutathione S-Transferases as Regulators of Kinase Pathways and Anticancer Drug Targets. *Methods in Enzymology*, *401*, 287–307. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)01019-0](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)01019-0)
- Townsend, D. M., Manevich, Y., He, L., Hutchens, S., Pazoles, C. J., & Tew, K. D. (2009). Novel Role for Glutathione S-Transferase  $\pi$ . *Journal of Biological Chemistry*, *284*(1), 436–445. <https://doi.org/10.1074/jbc.m805586200>
- Trist, B. G., Davies, K. M., Cottam, V., Genoud, S., Ortega, R., Roudeau, S., Carmona, A., De Silva, K., Wasinger, V., Lewis, S. J. G., Sachdev, P., Smith, B., Troakes, C., Vance, C., Shaw, C., Al-Sarraj, S., Ball, H. J., Halliday, G. M., Hare, D. J., & Double, K. L. (2017). Amyotrophic lateral sclerosis-like superoxide dismutase 1 proteinopathy is associated with neuronal loss in Parkinson's disease brain. *Acta Neuropathologica*, *134*(1), 113–127. <https://doi.org/10.1007/S00401-017-1726-6>
- Trist, B. G., Hilton, J. B., Hare, D. J., Crouch, P. J., & Double, K. L. (2021). Superoxide Dismutase 1 in Health and Disease: How a Frontline Antioxidant Becomes Neurotoxic. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, *60*(17), 9215. <https://doi.org/10.1002/ANIE.202000451>
- Ünal, M., Güven, M., Devranoğlu, K., Özeydin, A., Batar, B., Tamçelik, N., Görgün, E. E., Uçar, D., & Sarici, A. (2007). Glutathione S transferase M1 and T1 genetic polymorphisms are related to the risk of primary open-angle glaucoma: a study in a Turkish population. *The British Journal of Ophthalmology*, *91*(4), 527–530. <https://doi.org/10.1136/BJO.2006.102418>

- Valentino, R. B. (2022). The structure–function relationships and physiological roles of MnSOD mutants. *Bioscience Reports*, 42(6), 20220202. <https://doi.org/10.1042/BSR20220202>
- Varma, S. D., Kovtun, S., & Hegde, K. R. (2011). Role of ultraviolet irradiation and oxidative stress in cataract formation-medical prevention by nutritional antioxidants and metabolic agonists. *Eye & Contact Lens*, 37(4), 233–245. <https://doi.org/10.1097/ICL.0B013E31821EC4F2>
- Vernazza, S., Tirendi, S., Bassi, A. M., Traverso, C. E., & Saccà, S. C. (2020). Neuroinflammation in Primary Open-Angle Glaucoma. *Journal of Clinical Medicine*, 9(10), 1–40. <https://doi.org/10.3390/JCM9103172>
- Vohra, R., Dalgaard, L. M., Vibæk, J., Langbøl, M. A., Bergersen, L. H., Olsen, N. V., Hassel, B., Chaudhry, F. A., & Kolko, M. (2019). Potential metabolic markers in glaucoma and their regulation in response to hypoxia. *Acta Ophthalmologica*, 97(6), 567–576. <https://doi.org/10.1111/AOS.14021>
- Watson, M. A., Stewart, R. K., Smith, G. B. J., Massey, T. E., & Bell, D. A. (1998). Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis*, 19(2), 275–280. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/19.2.275>
- Weinreb, R. N., Aung, T., & Medeiros, F. A. (2014). The pathophysiology and treatment of glaucoma: A review. In *JAMA - Journal of the American Medical Association* (Vol. 311, Issue 18, pp. 1901–1911). American Medical Association. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.3192>
- Weinreb, R. N., & Tee Khaw, P. (2004). Primary open-angle glaucoma. *Lancet*, 363(9422), 1711–1720. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16257-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16257-0)
- Weinreb, R. N., Toris, C. B., Gabelt, B. T., Lindsey, J. D., & Kaufman, P. L. (2002). Effects of prostaglandins on the aqueous humor outflow pathways. *Survey of Ophthalmology*, 47 Suppl 1(4 SUPPL. 1). [https://doi.org/10.1016/S0039-6257\(02\)00306-5](https://doi.org/10.1016/S0039-6257(02)00306-5)
- Wheeler, J. B., Stourman, N. V., Thier, R., Dommermuth, A., Vuilleumier, S., Rose, J. A., Armstrong, R. N., & Guengerich, F. P. (2001). Conjugation of haloalkanes by bacterial and mammalian glutathione transferases: mono- and dihalomethanes. *Chemical Research in Toxicology*, 14(8), 1118–1127. <https://doi.org/10.1021/TX010019V>
- Whitbread, A. K., Masoumi, A., Tetlow, N., Schmuck, E., Coggan, M., & Board, P. G. (2005). Characterization of the omega class of glutathione transferases. *Methods in Enzymology*, 401, 78–99. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)01005-0](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)01005-0)
- Whitbread, A. K., Tetlow, N., Eyre, H. J., Sutherland, G. R., & Board, P. G. (2003). Characterization of the human Omega class glutathione transferase genes and associated polymorphisms. *Pharmacogenetics*, 13(3), 131–144. <https://doi.org/10.1097/00008571-200303000-00003>
- Widersten, M., Holmström, E., & Mannervik, B. (1991). Cysteine residues are not essential for the catalytic activity of human class Mu glutathione transferase M1a-1a. *FEBS Letters*, 293(1–2), 156–159. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(91\)81175-8](https://doi.org/10.1016/0014-5793(91)81175-8)
- Wiggs, J. L., & Pasquale, L. R. (2017). Genetics of glaucoma. In *Human Molecular Genetics* (Vol. 26, Issue R1, pp. R21–R27). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx184>
- Williams, P. A., Harder, J. M., Foxworth, N. E., Cochran, K. E., Philip, V. M., Porciatti, V., Smithies, O., & John, S. W. M. (2017). Vitamin B3 modulates mitochondrial vulnerability and prevents glaucoma in aged mice. *Science (New York, N.Y.)*, 355(6326), 756–760. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAL0092>
- Williams, P. A., Marsh-Armstrong, N., Howell, G. R., Bosco, A., Danias, J., Simon, J., Di Polo, A., Kuehn, M. H., Przedborski, S., Raff, M., & Trounce, I. (2017). Neuroinflammation in glaucoma: A new opportunity. *Experimental Eye Research*, 157, 20–27. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2017.02.014>
- Winterbourn, C. C. (2018). Biological Production, Detection, and Fate of Hydrogen Peroxide. *Antioxidants & Redox Signaling*, 29(6), 541–551. <https://doi.org/10.1089/ARS.2017.7425>

- Wispe<sup>2</sup>, J. R., Clark, J. C., Burhans, M. S., Kropp, K. E., Korfhagen, T. R., & Whitsett, J. A. (1989). Synthesis and processing of the precursor for human mangano-superoxide dismutase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 994(1), 30–36. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(89\)90058-7](https://doi.org/10.1016/0167-4838(89)90058-7)
- Wójcik-Gryciuk, A., Skup, M., & Waleszczyk, W. J. (2016). Glaucoma -state of the art and perspectives on treatment. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 34(1), 107–123. <https://doi.org/10.3233/RNN-150599>
- Wolfs, R. C. W., Klaver, C. C. W., Ramrattan, R. S., Van Duijn, C. M., Hofman, A., & De Jong, P. T. V. M. (1998). Genetic risk of primary open-angle glaucoma. Population-based familial aggregation study. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, 116(12), 1640–1645. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHT.116.12.1640>
- Wong, H. S., Benoit, B., & Brand, M. D. (2019). Mitochondrial and cytosolic sources of hydrogen peroxide in resting C2C12 myoblasts. *Free Radical Biology & Medicine*, 130, 140–150. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2018.10.448>
- Wu, B., & Dong, D. (2012). Human cytosolic glutathione transferases: structure, function, and drug discovery. *Trends in Pharmacological Sciences*, 33(12), 656–668. <https://doi.org/10.1016/J.TIPS.2012.09.007>
- <https://doi.org/10.1016/J.TIPS.2012.09.007>
- Xiong, Y., Uys, J. D., Tew, K. D., & Townsend, D. M. (2011). S-Glutathionylation: From Molecular Mechanisms to Health Outcomes. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(1), 233. <https://doi.org/10.1089/ARS.2010.3540>
- Xu, C., Li, J., Li, Z., & Mao, X. (2018). Migraine as a risk factor for primary open angle glaucoma: A systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 97(28). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000011377>
- Xu, P., Lin, Y., Porter, K., & Liton, P. B. (2014). Ascorbic acid modulation of iron homeostasis and lysosomal function in trabecular meshwork cells. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics : The Official Journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 30(2–3), 246–253. <https://doi.org/10.1089/JOP.2013.0183>
- Yanagi, M., Kawasaki, R., Wang, J. J., Wong, T. Y., Crowston, J., & Kiuchi, Y. (2011). Vascular risk factors in glaucoma: a review. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 39(3), 252–258. <https://doi.org/10.1111/J.1442-9071.2010.02455.X>
- Yang, Y., Xu, C., Chen, Y., Liang, J. J., Xu, Y., Chen, S. L., Huang, S., Yang, Q., Cen, L. P., Pang, C. P., Sun, X. H., & Ng, T. K. (2019). Green Tea Extract Ameliorates Ischemia-Induced Retinal Ganglion Cell Degeneration in Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/8407206>
- Yang, Z., Quigley, H. A., Pease, M. E., Yang, Y., Qian, J., Valenta, D., & Zack, D. J. (2007). Changes in gene expression in experimental glaucoma and optic nerve transection: the equilibrium between protective and detrimental mechanisms. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 48(12), 5539–5548. <https://doi.org/10.1167/IOVS.07-0542>
- Ye, Z. W., Zhang, J., Ancrum, T., Manevich, Y., Townsend, D. M., & Tew, K. D. (2017). Glutathione S-Transferase P-Mediated Protein S-Glutathionylation of Resident Endoplasmic Reticulum Proteins Influences Sensitivity to Drug-Induced Unfolded Protein Response. *Antioxidants & Redox Signaling*, 26(6), 247–261. <https://doi.org/10.1089/ARS.2015.6486>
- Yildirim, Ö., Ateş, N. A., Tamer, L., Öz, Ö., Yilmaz, A., Atik, U., & Çamdeviren, H. (2005). May glutathione S-transferase M1 positive genotype afford protection against primary open-angle glaucoma? *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv Fur Klinische Und Experimentelle Ophthalmologie*, 243(4), 327–333. <https://doi.org/10.1007/S00417-004-1013-9>
- Youngblood, H., Hauser, M. A., & Liu, Y. (2019). Update on the genetics of primary open-angle glaucoma. *Experimental Eye Research*, 188. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.107795>
- Yu, D. Y., & Cringle, S. J. (2005). Retinal degeneration and local oxygen metabolism. *Experimental Eye Research*, 80(6), 745–751. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2005.01.018>

- Yu, Y., Weng, Y., Guo, J., Chen, G., & Yao, K. (2013). Association of glutathione S transferases polymorphisms with glaucoma: a meta-analysis. *PloS One*, 8(1).  
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0054037>
- Zanon-Moreno, V., Marco-Ventura, P., Lleo-Perez, A., Pons-Vazquez, S., Garcia-Medina, J. J., Vinuesa-Silva, I., Moreno-Nadal, M. A., & Pinazo-Duran, M. D. (2008). Oxidative stress in primary open-angle glaucoma. *Journal of Glaucoma*, 17(4), 263–268.  
<https://doi.org/10.1097/IJG.0B013E31815C3A7F>
- Zeïkova, T., Golubenko, M., Buïkin, S., Botkina, Oi., Makeeva, O., Lezhnev, A., Kalianov, E., Tsimbaliuk, I., Maksimov, V., Voevoda, M., Shipulin, V., & Puzyrev, VP. (2012). [The glutathione peroxidase 1 (GPX1) single nucleotide polymorphism pro198Leu: association with life span and coronary artery disease]. *Mol Biol (Mosk)*. , 481–486.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22888637/>
- Zenkel, M., & Schlötzer-Schrehardt, U. (2014). The composition of exfoliation material and the cells involved in its production. *Journal of Glaucoma*, 23(8 Suppl 1), S12–S14.  
<https://doi.org/10.1097/IJG.0000000000000123>
- Zhang, B., Pan, C., Feng, C., Yan, C., Yu, Y., Chen, Z., Guo, C., & Wang, X. (2022). Role of mitochondrial reactive oxygen species in homeostasis regulation. *Redox Report : Communications in Free Radical Research*, 27(1), 45.  
<https://doi.org/10.1080/13510002.2022.2046423>
- Zhang, H., Davies, K. J. A., & Forman, H. J. (2015). Oxidative stress response and Nrf2 signaling in aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 88(Part B), 314–336.  
<https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2015.05.036>
- Zhang, J., Ye, Z. wei, Tew, K. D., & Townsend, D. M. (2021). Cisplatin chemotherapy and renal function. *Advances in Cancer Research*, 152, 305–327.  
<https://doi.org/10.1016/BS.ACR.2021.03.008>
- Zhang, L., Wang, X., Cueto, R., Effi, C., Zhang, Y., Tan, H., Qin, X., Ji, Y., Yang, X., & Wang, H. (2019). Biochemical basis and metabolic interplay of redox regulation. *Redox Biology*, 26.  
<https://doi.org/10.1016/J.REDOX.2019.101284>
- Zhang, N., Wang, J., Li, Y., & Jiang, B. (2021). Prevalence of primary open angle glaucoma in the last 20 years: a meta-analysis and systematic review. *Scientific Reports*, 11(1).  
<https://doi.org/10.1038/S41598-021-92971-W>
- Zhang, Y., Murugesan, P., Huang, K., & Cai, H. (2020). NADPH oxidases and oxidase crosstalk in cardiovascular diseases: novel therapeutic targets. *Nature Reviews. Cardiology*, 17(3), 170–194.  
<https://doi.org/10.1038/S41569-019-0260-8>
- Zhang, Y., Roh, Y. J., Han, S. J., Park, I., Lee, H. M., Ok, Y. S., Lee, B. C., & Lee, S. R. (2020). Role of Selenoproteins in Redox Regulation of Signaling and the Antioxidant System: A Review. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(5). <https://doi.org/10.3390/ANTIOX9050383>
- Zhao, D., Cho, J., Kim, M. H., & Guallar, E. (2014). The association of blood pressure and primary open-angle glaucoma: a meta-analysis. *American Journal of Ophthalmology*, 158(3).  
<https://doi.org/10.1016/J.AJO.2014.05.029>
- Zhao, Y., Wang, H., Zhou, J., & Shao, Q. (2022a). Glutathione Peroxidase GPX1 and Its Dichotomous Roles in Cancer. *Cancers 2022, Vol. 14, Page 2560, 14(10), 2560*.  
<https://doi.org/10.3390/CANCERS14102560>
- Zhou, H., Brock, J., Liu, D., Board, P. G., & Oakley, A. J. (2012). Structural insights into the dehydroascorbate reductase activity of human omega-class glutathione transferases. *Journal of Molecular Biology*, 420(3), 190–203. <https://doi.org/10.1016/J.JMB.2012.04.014>
- Zhou, M., Wang, W., Huang, W., & Zhang, X. (2014). Diabetes mellitus as a risk factor for open-angle glaucoma: a systematic review and meta-analysis. *PloS One*, 9(8).  
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0102972>

- Zhou, Y., Shuai, P., Li, X., Liu, X., Wang, J., Yang, Y., Hao, F., Lin, H., Zhang, D., & Gong, B. (2015). Association of SOD2 polymorphisms with primary open angle glaucoma in a Chinese population. *Ophthalmic Genetics*, *36*(1), 43–49. <https://doi.org/10.3109/13816810.2014.985844>
- Zukerman, R., Harris, A., Oddone, F., Siesky, B., Vercellin, A. V., Ciulla, T. A., & O'brien, J. M. (2021). *Glaucoma Heritability: Molecular Mechanisms of Disease*. <https://doi.org/10.3390/genes12081135>
- Žuntar, I., Petlevski, R., Dodig, S., & Popović-Grle, S. (2014). GSTP1, GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms and total serum GST concentration in stable male COPD. *Acta Pharmaceutica (Zagreb, Croatia)*, *64*(1), 117–129. <https://doi.org/10.2478/ACPH-2014-0003>

## **SPISAK SKRAĆENICA**

EGS	Evropsko udruženje glaukologa (engl. <i>European Glaucoma Society</i> )
IOP	intraokularni pritisak
OAG	glaukom otvorenog ugla (engl. <i>Open Angle Glaucoma</i> )
ACG	glaukom zbog zatvaranja ugla (engl. <i>Angle Closure Glaucoma</i> )
PACG	primarni glaukom zbog zatvaranja ugla (engl. <i>Primary Angle Closure Glaucoma</i> )
PAC	primarno zatvaranje ugla (engl. <i>Primary Angle Closure</i> )
PACS	suspektno primarno zatvaranje ugla (engl. <i>Primary Angle Closure Suspect</i> )
GON	glaukomna optička neuropatija
POAG	primarni glaukom otvorenog ugla (engl. <i>Primary Open Angle Glaucoma</i> )
RNFL	sloj retinalnih nervnih vlakana (engl. <i>Retinal Nerve Fiber Layer</i> )
HTG	primarni glaukom otvorenog ugla sa povišenim pritiskom (engl. <i>High Tension Glaucoma</i> )
NTG	primarni glaukom otvorenog ugla sa normalnim pritiskom (engl. <i>Normal Tension Glaucoma</i> )
CCT	centralna debljina rožnjače (engl. <i>Central Corneal Thickness</i> )
OHT	okularna hipertenzija
OHTS	engl. <i>Ocular Hypertension Treatment Study</i>
MIOC	miocilin
OPTN	optineurin
TIGR	protein inducibilnog glukokortikoidnog odgovora trabekularne mreže (engl. <i>Trabecular Meshwork Inducible-Glucocorticoid Response Protein</i> )
GWAS	studije asocijacije u čitavom genomu (engl. <i>Genome-Wide Association Studies</i> )
OPP	okularni perfuzioni pritisak
EGPS	<i>European Glaucoma Prevention Study</i>
CGL	corpus geniculatum laterale
HIF-1 $\alpha$	hipoksijom indukovani faktor 1 $\alpha$ (engl. <i>Hypoxia inducible factor-1 alpha</i> )
ROS	reaktivni oblici kiseonika (engl. <i>Reactive Oxygen Species</i> )
RNS	reaktivni oblici azota (engl. <i>Reactive Nitrogen Species</i> )
RCIS	reaktivni oblici hlora (engl. <i>Reactive Chlorine Species</i> )
RBrS	reaktivni oblici bromina (engl. <i>Reactive Bromine Species</i> )
RSS	reaktivni oblici sumpora (engl. <i>Reactive Sulfur Species</i> )
RCS	reaktivni oblici ugljenika (engl. <i>Reactive Carbonyl Species</i> )
RSeS	reaktivni oblici selena (engl. <i>Reactive Selenium Species</i> )
OSD	bolest prednje površine oka (engl. <i>ocular surface Disease</i> )
GPX	glutation peroksidaza
SOD	superoksid dizmutaza
MDA	malondialdehid
CAT	katalaza
GST	glutation transferaza
TRX	tioredoksin
GSH	glutation
GCL	glutamat cistein ligaza
GSSG	oksidovani glutation
MAPEG	membranski proteini uključeni u metabolizam eikosanoida i glutationa (engl. <i>membrane-associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism</i> )
GSTA	glutation transferaza alfa
GSTM	glutation transferaza mi
GSTP	glutation transferaza pi
GSTS	glutation transferaza sigma
GSTT	glutation transferaza teta



GSTZ	glutation transferaza zeta
GSTO	glutation transferaza omega
JNK	c-Jun-N-terminalna kinaza
NF kB	nuklearni faktor kappa B
IL-1β	interleukin 1 beta
MAPK	mitogen aktivirajuća protein kinaza (engl. <i>mitogen-activated protein kinase</i> )
ATF2	aktivirajući transkripcioni faktor 2
ASK1	(engl. <i>apoptosis signal regulating kinase</i> )
SNP	pojedinačni nukleotidni polimorfizam (engl. <i>single nucleotide polymorfism</i> )
BPDE	<i>benzo(a)pyrene diol epoxide</i>
GRX	glutaredoksin
DHAR	dehidroaskorbat reduktazna aktivnost
NOX4	NADPH oksidaza 4
TRX	tioredoksin
PRX	peroksiredoksin
PAH	policiklični aromatični ugljovodonici (engl. <i>polycyclic aromatic hydrocarbons</i> )
iRNK	informaciona ribonukleinska kiselina
Sec	selenocistein
Cis	cistein
Gln	glutamin
Trn	triptofan
Asp	asparagin
Se-H	selenol
Se-OH	selenska kiselina
Se-SG	glutatiolovani selenol
BCVA	najbolje korigovana vidna oštrina (engl. <i>best corrected visual acuity</i> )
EDTA	etilen diamino tetra sirćetna kiselina
ELISA	enzimski imunoesej (engl. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i> )
ITM	indeks telesne mase
PCR	reakcija lančanog umnožavanja DNK
DNK	deoksiribonukleinska kiselina
OR	engl. Odds Ratio
SD	standardna devijacija
CI	interval poverenja (engl. <i>confidence interval</i> )
PDI	protein disulfid izomerazu (engl. <i>protein disulfide isomerase</i> )
PrdkVI	peroksiredoksin-VI

**Spisak objavljenih radova proizašlih kao rezultat istraživanja u okviru izrade doktorske teze:**

1. **Sobot V**, Stamenkovic M, Simic T, Jerotic D, Djokic M, Jaksic V, Bozic M, Milic J, Savic-Radojevic A, Djukic T. Association of GSTO1, GSTO2, GSTP1, GPX1 and SOD2 polymorphism with primary open angle glaucoma. *Exp Eye Res.* 2022;214:108863. doi: 10.1016/j.exer.2021.108863. (M21, IF: 3,4)
2. Stamenkovic M, **Lukic V**, Suvakov S, Simic T, Sencanic I, Pljesa-Ercegovic M, Jaksic V, Babovic S, Matic M, Radosavljevic A, Savic-Radojevic A, Djukic T. GSTM1-null and GSTT1-active genotypes as risk determinants of primary open angle glaucoma among smokers. *Int J Ophthalmol.* 2018;11(9):1514-1520. (M23, IF: 1,189)
3. **Vesna Šobot**, Tatjana Đukić, Miroslav Stamenković. Etiopatogeneza sekundarnog glaukoma nakon vitreoretinalnih hirurških intervencija. *Medicinski podmladak.* 2026;77(1). doi broj 10.5937/mp77-5100

## Biografija

Dr Vesna Šobot (devojačko Lukić) je rođena 21.01.1988. godine u Banjaluci (RS/BIH). Osnovnu školu i Gimnaziju „Sveti Sava“ je završila u Prijedoru, a diplomirala je na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2013. godine sa prosečnom ocenom 9.85 (devet, osamdeset i pet). Tokom studija, dr Šobot je bila stipendista Zadužbine Dragoljuba Marinkovića (2009-2013) i Fonda za mlade talente Republike Srbije (2012/13). U školskoj 2008/09 i 2011/12 godini dobitnik je Pohvalnice dekana za najboljeg studenta. Dr Šobot je u toku studija bila demonstrator na predmetu Anatomija (2008/09 i 2009/10), kao i član Centra za stručni i naučnoistraživački rad studenata (2010-2013). Specijalističke akademske studije na modulu Oftalmologija je završila 2016. godine (naslov specijalističkog akademskog rada: „Uticao hemodijalize na debljinu makule“). Doktorske akademske studije (modul: Biologija tumora i oksidativna oboljenja) je upisala 2016. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Specijalistički staž iz oftalmologije je obavila na Klinici za očne bolesti „Prof. Dr Ivan Stanković“ KBC Zvezdara, a specijalistički ispit je položila 2019. godine sa odličnom ocenom. Od 01.07.2019. godine zaposlena je kao lekar specijalista oftalmologije na odeljenju traumatologije Klinike za očne bolesti Univerzitetskog kliničkog centra Srbije. Dr Šobot je kao dobitnik stipendije Evropskog udruženja oftalmologa (SOE) 2017.godine boravila mesec dana na usavršavanju u FISABIO-Oftalmologia medica, Valensija (Španija). Takođe, 2021. godine je boravila u Solunu (Grčka) i 2023. godine u Šrnsu (Austrija) na edukaciji iz vitreoretinalne hirurgije. Dr Šobot je član Srpskog lekarskog društva i Udruženja oftalmologa Srbije. U martu 2024. godine dr Šobot je izabrana u zvanje kliničkog asistenta za užu naučnu oblast Oftalmologija na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

## Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora \_\_\_\_\_ Vesna Šobot\_\_\_\_\_

Broj indeksa : \_\_\_\_\_ 2016/5121\_\_\_\_\_

### Izjavljujem

Da je doktorska disertacija pod naslovom

#### **Povezanost polimorfizama glutacion transferaza klase mi, omega, pi i teta sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i да су резултати коректно наведени и
- da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih.

**Potpis autora**

U Beogradu, 16.05.2024.

---

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Vesna Šobot

Broj indeksa: 2016/5121

Studijski program: Biologija tumora i oksidativna oboljenja

Naslov rada: **Povezanost polimorfizama glutation transferaza klase mi, omega, pi i teta sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla**

Mentor: Prof. dr Tatjana Đukić

Komentor: Prof. dr Miroslav Stamenković

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjivanja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis autora**

U Beogradu, 16.05.2024.

---

## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

### **Povezanost polimorfizama glutation transferaza klase mi, omega, pi i teta sa rizikom za nastanak primarnog glaukoma otvorenog ugla**

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo(CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada(CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci. Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

**Potpis autora**

U Beogradu, 16.05.2024.

---

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.

