

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА  
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

На седници Наставно-научног већа Медицинског факултета у Београду, одржаној дана 05.06.2024. године, број 19/XXVI-1/3-VIII, именована је комисија за оцену завршене докторске дисертације под насловом:

**„Повезаност полиморфизама глутатион трансфераза класе ми, омега, пи и тета са ризиком за настанак примарног глаукома отвореног угла“**

кандидата др Весне Шобот, запослене у Клиници за очне болести Универзитетског клиничког центра Србије у Београду. Ментор је проф. др Татјана Ђукић, а коментор проф. др Мирослав Стаменковић.

Комисија за оцену завршене докторске дисертације именована је у саставу:

1. Проф. др Татјана Симић, редовни професор, Медицински факултет, Универзитет у Београду, дописни члан САНУ, председник комисије
2. Проф. др Ана Савић Радојевић, редовни професор, Медицински факултет, Универзитет у Београду
3. Доц. др Игор Ковачевић, доцент, Медицински факултет, Универзитет у Београду
4. Доц. др Дејан Рашић, доцент, Медицински факултет, Универзитет у Београду
5. Проф. др Јасмина Ђорђевић-Јоцић, ванредни професор, Медицински факултет, Универзитет у Нишу

На основу анализе приложене докторске дисертације, комисија за оцену завршене докторске дисертације једногласно подноси Научном већу Медицинског факултета следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

**А) Приказ садржаја докторске дисертације**

Докторска дисертација др Весне Шобот написана је на укупно 84 стране и подељена је на следећа поглавља: увод, циљеви рада, пацијенти и методе, резултати, дискусија, закључци и литература. У дисертацији се налази укупно 9 табела и 27 слика. Докторска

дисертација садржи сажетак на српском и енглеском језику, биографију кандидата, податке о комисији, списак објављених радова проистеклих из тезе и списак скраћеница коришћених у тексту.

У **уводу** је дефинисано шта је то примарни глауком отвореног угла. Описани су епидемиолошки подаци, етиологија и фактори ризика за настанак примарног глаукома отвореног угла, генетски фактори и разлике у обољевању међу различитим расама као и претпостављени патофизиолошки механизам настанка ове болести. Објашњена је потенцијална улога коју оксидативни стрес има у настанку примарног глаукома отвореног угла. Описана је и улога глутатиона трансфераза (GST) и антиоксидативних ензима (глутатион пероксидазе и супероксид дизмутазе) у настанку и прогресији болести. Детаљно је приказана структура, улога и описани полиморфизми глутатион трансфераза класе ми, пи, тета и омега, као и глутатион пероксидазе и супероксид дизмутазе.

**Циљеви рада** су прецизно дефинисани. Састоје се од испитивања утицаја генских полиморфизама глутатион трансфераза GSTM1, GSTP1 (rs1695 и rs1138272), GSTO1 (rs4925), GSTO2 (rs156697) и GSTT1 као и утицај генских полиморфизама глутатион пероксидазе, GPX1 (rs1050450) и супероксид дизмутазе, SOD2 (rs4880) на ризик за настанак примарног глаукома отвореног угла. Додатно, испитиван је и удружени ефекат наведених полиморфизама на ризик за развој овог типа глаукома.

У поглављу **пацијенти и методе** је наведено да је студија дизајнирана и изведена по типу студије случајева и контрола. У студију су била укључена 102 пацијента оболела од примарног глаукома отвореног угла који су лечени на Клиници за очне болести „Проф. др Иван Станковић” Клиничко болничког центра Звездара у Београду, као и 302 испитаника из контролне групе. Узорци контролне групе су део постојеће биобанке на Институту за медицинску и клиничку биохемију Медицинског факултета Универзитета у Београду.

Детаљно је описан начин интервјуисања пацијената, као и критеријуми за укључење у студију, као и критеријуми за искључење из студије. Истраживање је спроведено у складу са нормама истакнутим у Хелсиншкој декларацији (верзија из 2013. године). Студију је одобрио Етички комитет Клиничко болничког центра Звездара и Етички

комитет Медицинског факултета у Београду, где је су истраживања и обављена. Сви испитаници су потписали информисани пристанак након што су упознати са протоколом истраживања и добровољно су учествовали у студији.

У поглављу **резултати** детаљно су описани и јасно представљени сви добијени резултати.

**Дискусија** је написана јасно и прегледно, уз приказ података других истраживања са упоредним прегледом добијених резултата докторске дисертације.

**Закључци** сажето приказују најважније налазе који су проистекли из резултата рада. Коришћена **литература** садржи списак од 305 референци.

## **В) Провера оригиналности докторске дисертације**

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације „Повезаност полиморфизама глутатион трансфераза класе ми, омега, пи и тета са ризиком за настанак примарног глаукома отвореног угла”, аутора др Весне Шобот, утврђено је да подударње текста износи 21%. Овај степен подударности последица је доминантно претходно публикованих резултата докторандових истраживања, који су проистекли из њене дисертације (3%), а затим библиографских података о коришћеној литератури (већина библиографских података од 305 наведених), цитата, личних имена, тзв. општих места и података (појмови из стручне литературе, називи коришћених уређаја, реагенса, софтвера, итд.), што је у складу са чланом 9. Правилника.

## **С) Кратак опис постигнутих резултата**

Резултати ове студије су показали да су носиоци *GSTT1* активног генотипа имали статистички значајан већи ризик за настанак примарног глаукома отвореног угла ( $OR=1,92$ ,  $95\%IP=1,02-3,64$ ,  $p=0,044$ ), а у комбинацији са *GSTM1* нултим генотипом ризик за настанак примарног глаукома отвореног угла је био двоструко већи ( $OR=4,36$ ,  $95\%IP=1,21-15,65$ ,  $p=0,024$ ). Није показана статистички значајна повезаност између полиморфизама *GSTO1* гена као ни полиморфизама *GSTO2* гена са оболевањем од примарног глаукома отвореног угла, иако су носиоци *GSTO2\*GG* генотипа имали

двоструко већи ризик за настанак примарног глаукома отвореног угла (OR=2,15; 95%IP=0,92-5,04; p=0,077). С друге стране, хомозиготни носиоци варијантних облика оба гена (*GSTO1*\*AA/*GSTO2*\*GG) имали су статистички значајно повећан ризик за оболевање од примарног глаукома отвореног угла (OR=8,21, 95%IP=2,17-31,04, p=0,002). Што се појединачног *GPX1* полиморфизма тиче, није уочена статистички значајна повезаности овог полиморфизма и ризика за настанак примарног глаукома отвореног угла иако су носиоци *GPX1*\*ТТ генотипа имали 2,2 пута већи ризик за развој глаукомске неуропатије од појединаца којима је потврђен *GPX1*\*CC генотип (OR=2,20, 95%IP=0,88-5,54, p=0,093). Резултати студије су показали да су хетерозиготни носиоци *SOD2*\*TC полиморфизма имали више него двоструко већи ризик за настанак болести у односу на хомозиготне носиоце референтног *SOD2*\*CC (OR=2,11, 95%IP=1,09-4,09, p=0,026). Такође, истовремени носиоци варијантног *GPX1*\*ТТ и референтног *SOD2*\*CC су били под значајно већим ризиком за настанак примарног глаукома отвореног угла (OR=6,66, 95%IP=1,75-25,36, p=0,005).

#### **Д) Упоредна анализа докторске дисертације са резултатима из литературе**

У нашој студији *GSTM1* нулти генотип је био чешћи у групи пацијената са глаукомом, али без статистичке значајности у поређењу са здравим контролама, што је у сагласности са неколико других истраживања (Barbosa i sar, 2012; Jansson i sar, 2003; Juronen i sar, 2000, Fan i sar, 2010). С друге стране, повезаност *GSTM1* нултог генотипа са ризиком за настанак примарног глаукома отвореног угла је описана у бразилској (Rocha i sar, 2011; Silva i sar, 2014), италијанској (Izzotti i sar, 2010), турској (Yildirim i sar, 2005) и грчкој (Lavaris i sar, 2016) популацији. Као што је већ наведено, различити стресори, као што су слободни радикали, могу индуковати дисоцијацију протеинског комплекса *GSTM1*:ASK1, што последично покреће ASK1-посредован апоптотски сигнални пут (Cho i sar, 2001). На тај начин се може претпоставити да је код носилаца *GSTM1* нултог генотипа оболелих од примарног глаукома отвореног угла присутна интензивнија апоптоза ретиналних ганглијских ћелија, чак и након третмана антиоксидансима. За разлику од ових истраживања, значај *GSTM1* активног генотипа у настанку примарног глаукома отвореног угла је описан у естонској (Juronen i sar, 2000) и турској популацији (Ünal i sar, 2007)). Сва ова истраживања подржавају претпоставку о *GSTM1* гену као фактору ризика за настанак примарног глаукома отвореног угла.

Што се тиче полиморфизама *GSTT1* гена, у овом раду је показано да су носиоци *GSTT1* активног генотипа под значајно већим ризиком од развоја примарног глаукома отвореног угла. Наиме, присуство *GSTT1* активног генотипа је било повезано са скоро двоструко већим ризиком за развој примарног глаукома отвореног угла што је у складу са резултатима истраживања спроведеног у бразилској популацији (Rocha i sar, 2011), док су истраживачи у неколико других студија открили повезаност *GSTT1* нултог генотипа и развоја овог типа глаукома (Abu-Amero i sar, 2008; Ünal i sar, 2007). У студијама кинеске (Fan i sar, 2010), мексичке (Buentello-Volante i sar, 2013)), естонске (Juronen i sar, 2000) и турске популације (Yildirim i sar, 2005) није пронађена повезаност између *GSTT1* полиморфизма и ризика за настанак примарног глаукома отвореног угла. Осим повезаности појединачних полиморфизама, у овом истраживању испитиван је и удружени ефекат *GSTM1* и *GSTT1* полиморфизама на ризик за настанак примарног глаукома отвореног угла. Резултати ове студије су показали четвороструко већи ризик од настанка примарног глаукома отвореног угла код испитаника који су истовремени носиоци *GSTM1* нултог и *GSTT1* активног генотипа што је у сагласности су са студијом Rocha и сарадника (Rocha i sar, 2011). У својој студији, Rocha и сар. су још показали и повезаност *GSTM1* нултог генотипа са вишим нивоима интраокуларног притиска, израженијим оштећењем главе видног живца и испадима у видном пољу. На основу тога да продужени оксидативни стрес може допринети повећању интраокуларног притиска (Saccà i sar, 2007), наши резултати о повећаном ризику код носилаца комбинације *GSTM1* нултог и *GSTT1* активног генотипа указују да оксидативна оштећења могу значајно утицати на патофизиологију примарног глаукома отвореног угла. Према томе, одређивање *GSTM1* и *GSTT1* полиморфизма потенцијално може бити вредан индикатор за процену ризика за настанак примарног глаукома отвореног угла.

Резултати добијени у овој студији показали су да су носиоци варијантог *GSTO1*\*AA генотипа и варијантног *GSTO2*\*GG под повећаним ризиком за развој примарног глаукома отвореног угла.

Показало се да глутатион трансферазе класе омега уклањају слободне радикале очувањем редукованог облика аскорбинске киселине (дехидроаскорбат-редуктазна активност) (Schmuck i sar, 2005; Whitbread i sar, 2005). У овој студији варијантни *GSTO2*\*GG генотип је био повезан са повећаним ризиком од развоја примарног глаукома

отвореног угла што је било на граници статистичке значајности. *GSTO2* је ензим са највећом дехидроаскорбат-редуктазном активношћу у ћелијама сисара (Zhou i sar, 2012). У полиморфизму *GSTO2* rs156697, варијантни алел *GSTO2*\*G доводи до ниже експресије *GSTO2* гена (Allen i sar, 2012). Allen и сар. су показали да су нивои експресије *GSTO2* смањени у мозгу пацијената са Алцхајмеровом болешћу (Allen i sar, 2012). Занимљиво је да мозак има једну од највећих концентрација аскорбинске киселине у телу (Harrison i sar, 2009). Осим у мозгу, високи нивои аскорбата се налазе и у очној водици, у концентрацијама које су 20 пута веће од концентрација у крви (Varma i sar, 2011). У очној водици аскорбинска киселина (АА) има суштинску улогу у уклањању хидроксилних и супероксидних анјонских радикала (Varma i sar, 2011). Аскорбинска киселина се активно транспортује у очну водицу у оксидованом облику као дехидроаскорбинска киселина, а затим се претвара у мање дифузиону аскорбинску киселину помоћу ензима са дехидроаскорбат редуктазном активношћу. На тај начин, аскорбинска киселина спречава оштећење катјонских пумпи сочива изазвано УВ зрачењем и смањује фотопероксидацију мембране (Kannan i sar, 2001). У једном од наших претходних истраживања, показали смо да су носиоци најмање једног варијантог *GSTO2*\*G алела у комбинацији са пушењем или професионалним излагањем ултраљубичастом зрачењу били под значајно већим ризиком да оболе од сенилне катаракте (Stamenkovic i sar, 2014). Слично катаракти, у примарном глаукому отвореног угла, дехидроаскорбат редуктазна активност *GSTO2* може бити важна у антиоксидантној одбрани ганглијских ћелија ретине и за очување интегритета трабекуларне мреже због штетног дејства слободних кисеоничних радикала. Према нашим сазнањима нема података у литератури о повезаности полиморфизма *GST* класе омега и примарног глаукома отвореног угла.

Поред полиморфизама глутатион трансфераза, у нашем истраживању, испитивана је и веза између примарног глаукома отвореног угла и полиморфизама супероксид дизмутазе 2 (*SOD2*) и глутатион пероксидазе 1 (*GPX1*), ензима који учествује у неутрализацији слободних радикала и процесима заштите организма од оксидативног стреса. Наши резултати су показали да су носиоци варијантог *GPX1*\*ТТ генотипа били под повећаним ризиком за развој примарног глаукома отвореног угла, али без статистичке значајности. Malinowska и сар. су у свом истраживању показали да су носиоци *GPX1*\*ТТ генотипа били под 4 пута већим ризиком да оболе од примарног глаукома отвореног угла (Malinowska i sar, 2016). Недавно су Velkovska и сар. истраживали повезаност *GPX1* rs1050450 полиморфизма и примарног глаукома отвореног угла у популацији пацијената

у Словенији. Оно што су показали јесте да је полиморфизам *GPX1 rs1050450* повезан са стадијумом примарног глаукома отвореног угла, нижим интраокуларним притиском и већим вертикалним пречником ексакације главе видног живца (Atanasovska Velkovska i sar, 2021). Због чињенице да варијантни *GPX1\*TT* генотип карактерише нижа ензимска активност (Hamanishi i sar, 2004; Ravn-Haren i sar, 2006 повећан ризик за развој примарног глаукома отвореног угла може се приписати смањеној доступности GPX1, чиме се смањује интрацелуларни одговор на оксидативни стрес. У нашем истарживању, носиоци хетерозиготног *SOD2\*TC* генотипа имали су више него двоструко већи ризик за настанак примарног глаукома отвореног угла у односу на хомозиготне носиоце референтног *SOD2\*CC* генотипа. Неколико истраживачких студија показало је да особе са *SOD2\*CC* (\*Ala16Ala) генотипом имају већу активност SOD2 у поређењу са онима са генотипом *SOD2\*TC* (\*Val16Ala) или *SOD2\*TT* (\*Val16Val) (Shimoda-Matsubayashi i sar, 1996; Sutton i sar, 2003). Наиме, *SOD2\*T* алел (кодира аминокиселину валин) резултира смањеном експресијом иРНК, нестабилном иРНК, поремећеним транспортом SOD ензима у митохондрије и смањеним потенцијалом за неутрализацију супероксид анјона (Shimoda-Matsubayashi i sar, 1996; Sutton i sar, 2003). Недавним истраживањима *SOD2 rs4880* полиморфизма које су извеле групе Ćelojević и сар. и Lavaris и сар. није уочена повезаност између *SOD2* полиморфизма и ризика за развој примарног глаукома отвореног угла (Ćelojević i sar, 2014; Lavaris i sar, 2016. Насупрот томе, Zhou и сар. су показали постојање повезаности полиморфизма *SOD2* са примарним глауком отвореног угла, што сугерише потенцијално значајну улогу супероксид дизмутазе 2 у развоју примарног глаукома отвореног угла у кинеској популацији (Zhou i sar, 2015). Abu-Amero и сар. су исти полиморфизам испитивали код пацијената са примарним глаукомом затвореног угла (PACG) из Саудијске Арабије и означили *SOD2* ген као потенцијални маркер тежине примарног глаукома затвореног угла (Abu-Amero i sar, 2014). У нашој студији показан је 6 пута већи ризик за развој примарног глаукома код особа који су били истовремени носиоци *SOD2\*CC* генотипа са вишом ензимском активношћу супероксид дизмутазе и *GPX1\*TT* генотипа са нижом активношћу глутатион пероксидазе. Већа активност ензима SOD2 и нижа активност GPX1 могу довести до повећане производње H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> деловањем SOD2 и смањене неутрализације услед ниже активности GPX1.

### **E) Објављени радови који чине део докторске дисертације**

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;2 14:108863. doi: 10.1016/j.exer.2021.108863. (M21, IF: 3,4)
2. Stamenkovic M, **Lukic V**, Suvakov S, Simic T, Sencanic I, Pljesa-Ercegovac 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



## Г) Закључак (образложење научног доприноса)

Докторска дисертација „Повезаност полиморфизама глутатион трансфераза класе ми, омега, пи и тета са ризиком за настанак примарног глаукома отвореног угла“ др Весне Шобот представља оригинални научни допринос у разумевању механизма који учествују у настанку и прогресији примарног глаукома отвореног угла. Резултати приказани у овој докторској дисертацији сугеришу да полиморфизми *GST*, *GPX1* и *SOD2* модулирају ризик за настанак примарног глаукома отвореног угла и да би могли имати прогностичку и/или фармакогеномску улогу код болесника са примарним глаукомом отвореног угла, чиме би се постигло успешније лечење кроз индивидуални приступ болеснику.

Ова докторска дисертација је урађена према свим принципима научног истраживања. Циљеви су били прецизно дефинисани, научни приступ је био оригиналан и пажљиво изабран, а методологија рада је била савремена. Резултати су прегледно и систематично приказани и дискутовани, а из њих су изведени одговарајући закључци.

На основу свега наведеног, и имајући у виду досадашњи научни рад кандидата, комисија предлаже Наставно-научном већу Медицинског факултета Универзитета у Београду да прихвати докторску дисертацију др Весне Шобот и одобри њену јавну одбрану ради стицања академске титуле доктора медицинских наука.

У Београду, 12.6.2024.

Чланови Комисије:

Проф. др Татјана Симић

---

Проф. др Ана Савић Радојевић

---

Доц. др Игор Ковачевић

---

Доц. др Дејан Рашић

---

Проф. др Јасмина Ђорђевић-Јоцић

---

Ментор 1:

Проф. др Татјана Ђукић

---

Ментор 2:

Проф. др Мирослав Стаменковић

---