

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

ПРИМЉЕНО: 18-06-2021			
Орг. јед.	Број	Прилог	Вредност
04	4216/1		

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 20.05.2021. godine, broj 9700/14, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Povezanost rizika i prognoze bolesnika sa karcinomom prostate lečenih radikalnom prostatektomijom i zračenjem sa polimorfizmima gena za glutation transferaze“

kandidata dr Veljka Šantrića, zaposlenog na Klinici za urologiju, Kliničkog centra Srbije.
Mentor je prof. dr Dejan Dragičević, a komentor je prof. dr Ana Savić-Radojević.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Miodrag Aćimović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Marina Nikitović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Marija Matić, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
4. Doc. dr Ivan Vuković, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
5. Prof. dr Ivana Stojanović, profesor Medicinskog fakulteta u Nišu

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

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije

Doktorska disertacija dr Veljka Šantrića napisana je na ukupno 93 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 16 tabela i 11 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **uvodu** je primarno definisan karcinom prostate, njegova epidemiološke karakteristike, kao i poznati etiološki faktori koji zauzimaju značajno mesto u karcinomu prostate. Poseban osvrt u okviru etioloških faktora zauzima genetska predispozicija a zatim i uloga glutacion transeferaza. U okviru uvoda dalje je opisana dijagnostika karcinoma prostate, mesto određivanja prostata-specifičnog antigena (PSA), rektalni pregled i biopsija prostate kojom se dobija patohistološka potvrda karcinoma. Na adekvatan način i u potpunosti je opisano lečenje lokalizovanog karcinoma prostate, koje obuhvata hirurško lečenje (radikalna prostatektomija) ali i zračnu terapiju. Takođe je prikazan detaljan osvrt na dosadašnja saznanja vezana za glutacion transferaze u karcinogenezi karcinoma prostate.

Ciljevi rada su precizno definisani. Obuhvatali su ispitivanja uticaja polimorfizama gena za *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *GSTO1* i *GSTO2* na rizik za nastanak karcinoma prostate, kao i da li postoji udruženi efekat genotipova i poznatih faktora rizika za nastanak karcinoma. Takođe je ispitivana udruženost varijantnih genotipova sa fenotipskim karakteristikama tumora. Cilj rada je podrazumevao i ispitivanje da li polimorfna ekspresija ovih enzima ima prognostički značaj kod bolesnika sa karcinomom prostate.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o studiji koja je sprovedena na Klinici za urologiju u okviru Kliničkog centra Srbije, ali i na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije. Detaljno je opisan način selekcije bolesnika, kroz jasno postavljene kriterijume za uključivanje u studiju. Za prikupljanje podataka o izloženosti poznatim faktorima rizika za pojavu karcinoma prostate je korišćen epidemiološki upitnik, sa Instituta za epidemiologiju Medicinskog fakulteta, sa ciljem ispitivanja faktora rizika za nastajanje malignih bolesti. Istraživanje je sprovedeno prema etičkim standardima datim u Helsinškoj deklaraciji kao i prema pravilima Etičkog

komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (broj: 2650/IV-21, 10. april 2018). Svi pacijenti su dali pisani pristanak pre uključenja u studiju. U daljem tekstu naveden je precizno način izolacije dezoksiribonukleinske kiseline (DNK), a zatim i određivanje svih navedenih polimorfizama, prvobitno delecionih, *GSTMI* i *GSTT1*, a zatim i *GSTP1*, kao i *GST* klase omega, *GSTO1* i *GSTO2*.

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

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

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Korišćena **literatura** sadrži spisak od 168 referenci.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Na osnovu Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza u izveštaju iz programa iThenticate kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije "Povezanost rizika i prognoze bolesnika sa karcinomom prostate lečenih radikalnom prostatektomijom i zračenjem sa polimorfizmima gena za glutation transferaze", autora dr Veljka Šantrića, procenat podudarnosti iznosi 15%. Ovaj stepen podudarnosti posledica je ličnih imena, citata prethodno utvrđenih činjenica o terapiji karcinoma prostate, bibliografskih podataka o korišćenoj literaturi, tzv. opštih mesta i podataka, prethodno publikovanih rezultata doktorandovih istraživanja, koji su proistekli iz navedene disertacije, kao i metodologije prethodnih istraživanja na polju glutation transferaza, što je u skladu sa članom 9. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu („Glasnik Univerziteta u Beogradu“, broj 204/18).

C) Kratak opis postignutih rezultata

Ovo istraživanje je obuhvatilo određivanje šest funkcionalnih GST polimorfizama i analizu njihovih pojedinačnih i kumulativnih efekata. Prognostički značaj polimorfizama ovih enzima je procenjivan prema četvorogodišnjem preživljavanju ovih bolesnika. Posmatrajuće primarno

demografske i kliničke karakteristike pacijenata i njihov uticaj na pojavu karcinoma prostate, rezultati nisu pokazali statističku značajnost poredeći godine i index telesne mase, kao i pušenje, dok je prisustvo dijabetes melitusa tipa 2 i hipertenzije bilo statistički značajno veće kod bolesnika sa karcinomom prostate.

Dalje ispitivanje delecionih polimorfizama je pokazalo da nije postojala statistički značajna povezanost, kako pojedinačnih *GSTM1* ili *GSTT1* polimorfizama, tako i kombinovanog efekta ovih polimorfizama i rizika za nastanak karcinoma prostate. Vrednost PSA iznad 20 ng/ml pri postavljanju dijagnoze je bio najčešći nalaz kod pacijenata sa dijagnostikovanim karcinomom prostate, a što se tiče Glison skora, kod najvećeg procenta bolesnika nalaz je bio 7 (3+4).

Što se tiče *GSTP1* rs1695 i rs1138272 polimorfizama i njihove povezanosti sa rizikom za nastanak karcinoma prostate, naši rezultati pokazuju da su nosioci makar jednog *GSTP1*Val* (rs1695) alela bili u 1,8 puta većem riziku od nastanka karcinoma prostate u poređenju sa nosiocima oba referentna alela. Taj rizik je bio još izraženiji u slučaju nosioca oba varijantna *GSTP1*Val* (rs1695) alela. Takođe, nosioci *GSTP1*Val* (rs1138272) alela su imali blizu 5 puta veći rizik od nastanka karcinoma prostate, u poređenju sa osobama sa oba referentna alela, a ovaj rizik je bio čak 7 puta veći u slučaju oba varijantna *GSTP1*Val* (rs1138272) alela. Takođe je ispitivana i povezanost *GSTP1* haplotipa sa rizikom od nastanka karcinoma prostate. Od opisana 4 specifična *GSTP1* haplotipa, haplotip *GSTP1*A* je najčešći, a nosioci *GSTP1*C* haplotipa, koji čine oba varijantna alela, su imali 5,46 puta veći rizik od nastajanja karcinoma prostate, u poređenju sa osobama sa najčešćim haplotipom. Za evaluaciju potencijalnih kumulativnih efekata GST polimorfizama u proceni rizika za nastanak karcinoma prostate pokazano je statistički značajno povećanje od 3,65 puta kod nosioca dva rizična alela, do približno 12 puta kod nosioca sva 4 rizična alela.

Što se tiče povezanosti glutation transferaza omega klase, nosioci varijantnog *GSTO1*A/A* genotipa su imali 2,1 puta veći rizik od razvijanja karcinoma prostate, u poređenju sa nosiocima referentnog *GSTO1*C/C* genotipa. Logistička regresiona analiza *GSTO2* rs156697 polimorfizma je pokazala da nosioci heterozigotnog genotipa *GSTO2*A/G* imaju 1,6 puta veći rizik u podložnosti za razvoj karcinoma prostate, u poređenju sa nosiocima referentnog *GSTO2*A/A* genotipa. Ovaj rizik je bio izraženiji kod nosioca *GSTO2*A/G* ili *GSTO2*G/G* genotipa u poređenju sa nosiocima referentnog genotipa a najveći rizik za pojavu karcinoma prostate je

uočen za varijantni *GSTO2**G/G genotip. Na nivou alela, *GSTO2**G održava 1,48 puta veći rizik za pojavu bolesti nego *GSTO2**A alel. Kada su *GSTO1* rs4925 i *GSTO2* rs156697 polimorfizmi analizirani u kombinaciji, nosioci bar jednog varijantnog *GSTO1**A i *GSTO2**G alela su imali 1,8 puta veći rizik za nastajanje karcinoma prostate, u poređenju sa referentnom kombinacijom genotipa.

Za sve ispitivane GST polimorfizme urađena je Kaplan-Majer analiza preživljavanja. Pojedinačni delecioni *GSTM1* i *GSTT1* polimorfizmi nisu pokazali modulirajući efekat na ukupno preživljavanje, ali je zanimljivo da je kod nosilaca kombinovanog *GSTM1*-nultog/*GSTT1*-nultog genotipa zabeleženo kraće vreme preživljavanja, u poređenju sa nosiocima oba aktivna genotipa, iako bez statističke značajnosti. Kaplan-Majerova analiza preživljavanja je pokazala statistički značajan efekat *GSTP1* rs1138272 polimorfizma na ukupno preživljavanje među pacijentima sa karcinomom prostate.

D) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

U ovom istraživanju je ispitivana povezanost polimorfizma u genima za *GSTP1* (rs1695 i rs1138272), *GSTO1*, *GSTO2*, kao i delecionih *GSTM1* i *GSTT1* enzima sa rizikom za pojavu karcinoma prostate.

Značaj *GSTP1* enzima u karcinomu prostate je i ranije bio predmet različitih istraživanja. Do sada je najveći broj istraživanja obuhvatio upravo ispitivanje povezanosti *GSTP1* rs1695 polimorfizma i rizika za nastanak karcinoma prostate, uključujući nekoliko meta-analiza, ali sa različitim zaključcima. Rezultati naše studije su pokazali da su muškarci nosioci bar jednog varijantnog alela *GSTP1**Ala/Val+Val/Val (rs1138272) ili *GSTP1**Ile/Val + Val/Val (rs1695) bili u značajno većem riziku za pojavu karcinoma prostate. Ovaj rizik je bio još izraženiji kod nosilaca oba *GSTP1* varijantna alela, koji je dodatno potvrđen i analizom haplotipa. Naime, pokazano je da su nosioci *GSTP1**C haplotipa, koji predstavlja kombinaciju oba *GSTP1* varijantna alela bili u skoro pet puta većem riziku za nastajanje karcinoma prostate, kada poredimo sa nosiocima *GSTP1**A (oba referentna alela). Studija Cai i saradnika je pokazala značajnu povezanost ovog *GSTP1* polimorfizma među pripadnicima bele rase, za razliku od pripadnika azijske i afroameričke etničke pripadnosti. Rezultati druge meta-analize su pokazali značajnu vezu između *GSTP1**Ile105Val polimorfizma i rizika za nastanak karcinoma prostate,

ali samo među pripadnicima azijske rase. Za razliku od najčešće ispitivanog *GSTP1**Ile105Val rs1695 polimorfizma, potencijalni efekat *GSTP1**Ala114Val rs1138272 polimorfizma na rizik za nastanak karcinoma prostate je ispitivan u samo dve studije, koje su pokazale da među SNP polimorfizmima, *GSTP1**Ala114Val rs1138272 polimorfizam se može dovesti u vezu sa volumenom prostate koji je analiziran kod pripadnika bele rase sa lokalizovanim karcinomom prostate kojima je rađena radikalna prostatektomija. Potrebno je istaći i da *GSTP1* polimorfizmi verovatno najveći uticaj mogu imati u ranoj fazi nastanka karcinoma prostate. Naime, imajući u vidu metilaciju promotorskog regiona gena za *GSTP1*, kao mehanizma za sniženje ekspresije odgovarajućeg proteina u ovom karcinomu, može se pretpostaviti da ova polimorfna ekspresija pre svega utiče na rizik u ranim fazama karcinogeneze. Iako u našem istraživanju nije pokazana veza delecionih polimorfizama *GSTM1* i *GSTT1* enzima i rizika za nastanak karcinoma prostate, kod muškaraca nosilaca varijantnih *GSTP1* alela i određenog delecionog *GSTM1/GSTT1* polimorfizma rizik za nastanak ovog karcinoma je bio veći, što govori o njihovom značajnom aditivnom efektu. Što se tiče moguće interakcije između gena i sredinskih faktora, važno je napomenuti da je u našoj kohorti pacijenata sa karcinomom prostate, prisustvo dijabetesa i hipertenzije bilo značajno veće kada poredimo sa kontrolnom grupom. Dosadašnja istraživanja ukazuju da ovi komorbiditeti mogu uticati nepovoljno kod uznapređovalog i metastatskog karcinoma prostate, kao i da imaju određeni uticaj na ishod nakon različitih terapijskih tretmana, uključujući androgen deprivacionu terapiju. Iz ovoga se može zaključiti da u riziku za nastanak karcinoma prostate važnu ulogu mogu imati brojni polimorfni geni, ističući ulogu kako gen-genске interakcije, tako i interakcije između gena i sredinskih faktora, koji determinišu osetljivost pojedinca na nastajanje samog karcinoma. Do sada je opisan 31 polimorfizam *GSTO1* i 66 polimorfizma *GSTO2* gena. Dokazano je postojanje povezanosti između *GSTO1* rs4925 polimorfizma i rizika za nastanak akutne limfoblastne leukemije kod dece, hepatocelularnog karcinoma, holangiokarcinoma i nesitnoćelijskog karcinoma pluća. Posmatrajući *GSTO2**A424G polimorfizam (rs156697), pokazano je da *GSTO2**G varijantni alel povećava rizik za pojavu karcinoma jajnika. Različite studije su ispitivale potencijalnu ulogu *GSTO* polimorfizama u riziku za nastanak tumora mokraćne bešike. Wang i saradnici su utvrdili da nosioci *GSTO2**G/G genotipa (rs2297235) pokazuju značajno veći rizik za pojavu karcinoma mokraćne bešike. Rezultati Djukić i saradnika su takođe dokazali vezu *GSTO1**C (rs4925)/*GSTO2**G (rs156697) haplotipa sa visokim rizikom za nastajanje karcinoma mokraćne bešike.

Naši rezultati po prvi put pokazuju da su homozigotni nosioci *GSTO1**A/A i *GSTO2**G/G varijantnog genotipa u povećanom riziku za nastajanje karcinoma prostate. Ovo je takođe potvrđeno i analizom haplotipa koja pokazuje da nosioci H2 haplotipa, koji obuhvata oba varijantna *GSTO1**A i *GSTO2**G alela predstavlja visoko rizičnu kombinaciju.

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Veljko Santric, Milica Djokic, Sonja Suvakov, Marija Pljesa-Ercegovac, Marina Nikitovic, Tanja Radic, Miodrag Acimovic, Vesna Stankovic, Uros Bumbasirevic, Bogomir Milojevic, Uros Babic, Zoran Dzamic, Tatjana Simic, Dejan Dragicevic, and Ana Savic-Radojevic. **GSTP1 rs1138272 Polymorphism Affects Prostate Cancer Risk**. *Medicina* (Kaunas). 2020 Mar 13;56(3):128. doi: 10.3390/medicina56030128.

Veljko Santric, Dejan Dragicevic, Marija Matic, Milica Djokic, Marija Pljesa-Ercegovac, Tanja Radic, Sonja Suvakov, Marina Nikitovic, Vesna Stankovic, Bogomir Milojevic, Milan Radovanovic, Zoran Dzamic, Tatjana Simic, Ana Savic-Radojevic. **“Polymorphisms in genes encoding GSTP and GSTO influence prostate cancer risk and prognosis**. *Front Mol Biosci*. 2021 Apr 14;8:620690. doi: 10.3389/fmolb.2021.620690.

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „**Povezanost rizika i prognoze bolesnika sa karcinomom prostate lečenih radikalnom prostatektomijom i zračenjem sa polimorfizmima gena za glutation transferaze**” dr Veljka Šantrića predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju određenih mehanizama koji učestvuju u nastajanju karcinoma prostate. Ovim istraživanjem rasvetljeni su izvesni aspekti delovanja različitih klasa glutation transferaza na karcinom prostate. Uloga glutation transferaza, pre svega *GSTO1* i *GSTP1* enzima, kroz regulaciju redoks homeostaze sa posebnom ulogom u ciklusu glutationilacije/deglutinationilacije može biti potencijalni mehanizam delovanja u procesu adaptacije karcinoma prostate na oksidativni stres. Takođe naši rezultati efekata oba varijantna *GSTO1**A/A i *GSTO2**G/G genotipa na rizik za karcinom prostate imaju potencijal da poboljšaju razvoj biomarkera u polju urološke onkologije. Ispitivani protektivni efekat *GSTP1* haplotipa, koji obuhvata dva povezana *GSTP1* SNP polimorfizma može se dovesti u vezu sa efikasnijom zaštitom protiv karcinogenih komponenti u podložnosti za nastanak ovog

karcinoma. Takođe, buduća funkcionalna istraživanja i veza između GST polimorfizama i HIF-1 α regulacije može obezbediti bolje rezultate i novu terapijsku šansu za pacijente sa karcinomom prostate. Ovo istraživanje moglo bi doprineti povećanju teorijske osnove neophodne za efikasno preventivno delovanje i klinički tretman u onkologiji.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci. Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Veljka Šantrića i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 02.06.2021.


Članovi Komisije:

Prof. dr Miodrag Aćimović

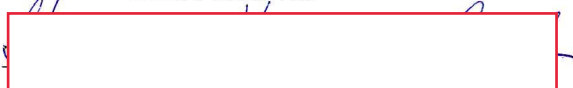


Mentor:

Prof. dr Dejan Dragičević



Prof. dr Marina Nikitović



Komentor:

Prof. dr Ana Savić- Radojević



Prof. dr Marija Matić



Doc. dr Ivan Vuković



Prof. dr Ivana Stojanović

