

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

На VIII редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 07.06.2019. године, прихваћен је извештај ментора др Бранке Зукић и др Соње Павловић, о урађеној докторској дисертацији Марије Љ. Вуковић, запослене у Универзитетском клиничком центру Републике Српске у Бања Луци, под насловом: **“Варијанте промотора гена за уридин-дифосфат-глукуронозилтрансферазу 1A1 као модулатори биохемијског фенотипа и популационо фармакогенетички маркери”** и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Бранка Зукић, виши научни сарадник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду, ментор; др Соња Павловић, научни саветник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду, ментор; др Светлана Радовић, редовни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, члан. Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Већу подноси следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

**1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ**

Докторска дисертација Марије Вуковић **“Варијанте промотора гена за уридин-дифосфат-глукуронозилтрансферазу 1A1 као модулатори биохемијског фенотипа и популационо фармакогенетички маркери”** представља оригинално истраживање које за тему има проучавање корелације промоторских варијанти гена за *UGT1A1* са нивоом билирубина код здравих испитаника, као и код испитаника са Жилберовим синдромом, таласемијским синдромом и хроничним хепатитисом Ц, у првом делу студије, док се у другом делу истраживања бави популационим истраживањем учесталости промоторских варијанти *UGT1A1* гена у популацијама Републике Србије и Републике Српске и релевантности најчешће промоторске *UGT1A1* варијанте као фармакогенетичког маркера у испитиваним популацијама.

Ова докторска дисертација је урађена у Лабораторији за молекуларну биомедицину Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитета у Београду.

Докторска дисертација садржи: Насловну страну на српском и енглеском језику, Податке о менторима и члановима комисије, Резиме на српском и енглеском језику са кључним речима, Садржај, Текст по поглављима, Списак литературе и Прилоге. Докторска дисертација написана је на 112 страница, садржи 30 слика и 20 табела. Дисертација је подељена на 7 поглавља: **Увод** (1-49 страна), **Циљ рада** (50-52 страна), **Материјали и методе** (53-66 страна), **Резултати** (67-83 страна), **Дискусија** (84-96 страна), **Закључци** (97-99 страна) и **Списак литературе** (100-112 страна). У прилозима се налазе: Биографија аутора, Изјава о ауторству, Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације и Изјава о коришћењу.

## 2. АНАЛИЗА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

**Увод** ове докторске дисертације је састављен из шест целина.

У првом делу су дате информације о основним метаболичким реакцијама кроз које пролазе ендобиотици и ксенобиотици у организму човека, као и о кључним ензимским системима који учествују у метаболизму ових једињења.

У другом делу је описана суперфамилија ензима уридин-дифосфат-глукуронозилтрансфераза и подела на фамилије. Затим је описана најбоље проучена фамилија ензима UGT1A. Дате су детаљне информације о организацији генског комплекса који кодира UGT1A фамилију ензима, описан је промоторски регион и принцип настајања различитих изоформи алтернативном обрадом примарних транскрипата. Описана је структура, локација и функција ензима UGT1A, као и ткивна специфичност експресије различитих изоформи и разноврсност субстрата ових ензима. Детаљно је описан настанак, метаболизам и излучивање билирубина. Дате су информације о значају и супстратној специфичности UGT1A1 изоформе у коњугацији билирубина. Описане су варијанте *UGT1A1* гена и њихова повезаност са активношћу UGT1A1 ензима. Посебно су детаљно описане промоторске *UGT1A1* варијанте, њихов ефекат на ниво експресије *UGT1A1* гена као и активност UGT1A1 ензима. Табеларно су приказане све до сада описане алелске варијанте *UGT1A1* гена, промене у *UGT1A1* гену и последица тих промена на нивоу UGT1A1 ензима као и фенотипски значај датих промена.

У трећем поглављу централна тема су били узроци и механизми појаве хипербилирубинемије. Детаљно су описане наследне хипербилирубинемије, гени и ензими који учествују у метаболизму билирубина, као и синдроми који се јављају као последица промена у датим генима и поремећај метаболизма и клиренса билирубина који због тога настаје. Описани су синдроми који настају услед поремећаја коњугације билирубина, те је у оквиру тога приказана клиничка слика, дијагноза и генетичка основа Жилберовог синдрома (ЖС), Криглер-Најаровог (КН) синдрома тип 1 и тип 2. Затим је описан Луси-Дрисколов синдром и неонатална жутица. У опису поремећаја екскреције билирубина приказан је Дубин-Џонсонов синдром, а у опису поремећаја преузимања и складиштења билирубина приказан је Роторов синдром. У овом поглављу су обрађене и хипербилирубинемије које се јављају као последица хемолIZE код пацијената са таласемијским синдромима и фиброзе јетре код пацијената са хроничним хепатитисом Ц (ХХЦ).

У четвртом поглављу тема је била персонализована медицина. Објашњени су принципи и значај персонализованог приступа у лечењу пацијената, као и позитивни ефекти таквог приступа на успешност лечења и на економске аспекте здравствене заштите. Описани су појмови фармакогенетике и фармакогеномике, као и значај откривања фармакогенетичких маркера и примене фармакогеничких тестова у клиничкој пракси. Такође су дате и информације о популационој специфичности приликом одређивања значајних фармакогенетичких маркера за одређену популацију.

У петом поглављу је анализиран *UGT1A1* ген као фармакогенетички маркер и описана је најзначајнија варијанта у промотору овог гена *UGT1A1\*28*. Ензим *UGT1A1* је укључен у метаболизам многих лекова и промоторска варијанта *UGT1A1\*28* представља најзначајнији фармакогенетички маркер овог гена. У овом поглављу су описане интеракције различитих лекова у чијем метаболизму учествује *UGT1A1* ензим, и ефекти тих интеракција на експресију *UGT1A1* гена као и на активност самог *UGT1A1* ензима. Такође су приказани најзначајнији супстрати и инхибитори *UGT1A1* ензима, и ефекат биљних секундарних метаболита на активност *UGT1A1* ензима. На крају је описан и утицај животног стила на експресију испитиваног гена, као и улога варијантних *UGT1A1* алела у појави одређених болести.

У шестом поглављу је кроз упоредни приказ учесталости алелских варијанти *UGT1A1* у различитим расама и популацијама, показана је популациона специфичност дистрибуције различитих *UGT1A1* варијанти у свету и у региону.

У поглављу **Циљеви рада** јасно су дефинисани главни научни циљеви докторске дисертације. Они су подељени у две групе циљева. У првој групи циљева дефинисани су циљеви везани за оптимизацију методе за детекцију  $UGT1A1(TA)_n$  варијанти и утврђивање учесталости промоторских варијанти  $UGT1A1$  гена, као и корелације ових варијанти са нивоом билирубина код различитих група пацијената са хипербилирубинемом.

Истраживања везана за овај циљ су обухватила:

1. Оптимизацију методе за детекцију  $UGT1A1(TA)_n$  варијанти
2. Утврђивање учесталости  $UGT1A1$  промоторских варијанти код пацијената са Жилберовим синдромом
3. Код пацијената код којих није постојала корелација генотипа и нивоа билирубина утврдити да ли постоје друге варијанте у кодирајућим регионима  $UGT1A1$  гена
4. Утврђивање учесталости  $UGT1A1$  промоторских варијанти код пацијената са  $\beta$ -таласемијом минор и корелацију генотипа и нивоа билирубина у овој групи пацијената.
5. Утврђивање учесталости  $UGT1A1$  промоторских варијанти код пацијената са хроничним хепатитисом Ц и корелацију генотипа и нивоа билирубина у овој групи пацијената.

Други део циљева се односио на популационе студије фармакогеномичког промоторског  $UGT1A1(TA)_n$  маркера популација Републике Србије и Републике Српске, те су истраживања имала за циљ:

1. Утврдити учесталост промоторских  $TA$  варијанти  $UGT1A1$  код испитаника из опште популације Републике Србије.
2. Утврдити учесталост промоторских  $TA$  варијанти  $UGT1A1$  код испитаника из опште популације Републике Српске.
3. Утврдити да ли је  $UGT1A1(TA)_n$  варијанта кандидат за фармакогенетичко тестирање пре увођења лекова у терапију у чијем метаболизму учествује  $UGT1A1$  ензим.

У оквиру поглавља **Материјал и методе** описане су савремене методе молекуларне генетике коришћене у реализацији наведених циљева. У првом потпоглављу Матријали

описани су здрави испитаници из популације Републике Србије и Републике Српске. Из популације Републике Србије коришћени су узорци 100 здравих испитаника који се чувају у биобанци Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство Универзитета у Београду (ИМГГИ), док је 121 узорак из Републике Српске прикупљен са подручја целе Републике за сврху ове студије и они се чувају у ИМГГИ заједно са информисаним пристанком испитаника. У другом потпоглављу Материјала описан је 51 пацијент са Жилберовим синдромом и 10 пацијената са Криглер Најаровим синдромом типа 2, који су дијагностиковани на Универзитетској дечјој клиници у Београду где је и добијен информисани пристанак родитеља, као и одобрење Етичког комитета за учешће у студији. Затим је описана група од 24 пацијента са хроничним хепатитисом Ц, који су дијагностиковани и лечени на Клиници за инфективне и тропске болести, Медицинског факултета у Београду. Ови пацијенти су дали Информисани пристанак и добијена је сагласност Етичког комитета Клиничког центра Србије. Трећа група пацијената су била 22 пацијента са синдромом  $\beta$ -таласемије минор чији узорци се чувају у ИМГГИ и који су дали отворени информисани пристанак за коришћење узорака за генетичка тестирања у оквиру пројеката којима се бави Лабораторија за молекуларну биомедицину, ИМГГИ. Етички одбор ИМГГИ је дао сагласност за коришћење ових узорака у студији. У трећем потпоглављу Материјала описани су прајмери коришћени за ПЦР реакцију, затим прајмери коришћени у фрагмент анализи као и прајмери коришћени за секвенцирање *UGT1A1* гена.

У оквиру метода, описан је процес изолације ДНК из периферне крви, затим ланчана реакција полимеразе и анализа ПЦР продуката електрофорезом на агарозном и полиакриламидном гелу. Даље је описана метода фрагмент анализе и секвенцирање по Сангеру. Такође је приказана и *in silico* анализа коришћена за биоинформатичку анализу новоткривених варијанти приликом секвенцирања ПЦР продуката. И коначно, приказани су и статистички алати који су коришћени за обраду добијених резултата.

У поглављу **Резултати**, у девет поглавља су приказани резултати истраживања уз приказ слика и табела са коментарима и објашњењима. У првом поглављу су приказани резултати детекције промоторских варијанти *UGT1A1* гена и извршена је анализа ефикасности, прецизности и исплативости три примењене методе у детекцији ових варијанти. За анализу промоторских варијанти *UGT1A1* гена код свих испитаника и пацијената испитиваних у студији коришћена је ланчана реакција полимеразе. Детектоване су 4 варијанте: *UGT1A1\*1* са 6 ТА поновака, *UGT1A1\*28* са 7 ТА поновака и

*UGT1A1*\*37 са 8 ТА поновака. У свим анализираним групама испитаника и пацијената детектована су три генотипа *UGT1A1* 6/6 ТА, *UGT1A1* 6/7 ТА и *UGT1A1* 7/7 ТА, док су у групи са ЖС детектована и два случаја са генотипом *UGT1A1* 7/8 ТА. Затим је код 20% случајно одабраних испитаника извршена анализа промоторских варијанти *UGT1A1* гена фрагмент анализом и код свих испитаника је потврђен генотип добијен ПЦР реакцијом. Даље су описани резултати добијени секвенцирањем по Сангеру 10% насумично одабраних узорака. Такође су и овом методом потврђени резултати добијени ПЦР/полиакриламидном гел електрофорезом. Резултати из овог поглавља су показали да су све три коришћене методе релевантне и прецизне, и да се за рутинску дијагностику може користити и једноставна метода ПЦР/полиакриламидна гел електрофореза која се показала и економски најисплативијом.

У другом поглављу су приказани резултати учесталости промоторских варијанти *UGT1A1* гена у групи пацијената са Жилберовим синдромом. Показано је да је у овој групи 80,39% пацијената имало ризичне *UGT1A1* 7/7 ТА и *UGT1A1* 7/8 ТА генотипове, док је у здравој контролној групи ризични *UGT1A1* 7/7 ТА генотип детектован у само 16% случајева. Код 10 пацијената (19,61%) са ЖС није утврђен ризични генотип, док је у здравој контролној групи тај проценат износио 84%. Алел *UGT1A1* 7 ТА се у групи са ЖС јављао са 86,27%, а у контролној групи са учесталошћу од 40%. Показано је да је у овој студији дијагностичка вредност *UGT1A1*(ТА)<sub>n</sub> маркера била 80%. Код 10 пацијената са клиничком сликом ЖС код којих није детектован ризични *UGT1A1* генотип, постављена је сумња на Криглер-Најаров синдром тип 2. У циљу провере ове сумње њихови узорци су даље подвргнути секвенцирању методом по Сангеру. Секвенцирана су 4 стална егзона и први варијабилни егзон. Само код једног пацијента који је имао *UGT1A1* 6/7 ТА генотип промоторског региона *UGT1A1* гена, су пронађене варијанте два појединачна нуклеотида: NM\_000463.2 с.997-82 Т>С (интрон 2, позиција 602 од 683) и с.1084+12 G>А (интрон 3, позиција 12 од 283). Прва варијанта је нађена у интрону 2 на позицији 602 од 683 и настала је заменом тимина са цитозином. Друга варијанта је откривена у интрону 3 на позицији 12 од 283, а настала је заменом гуанина са аденином. Обе варијанте нису до сада пријављене у бази података dbSNPs. Затим је извршена *in silico* предикција релевантности откривених варијанти. Коришћен је програм MatInspector чиме су добијене информације за детаљан опис последица нуклеотидних измена у овим регионима на афинитет везивања протеина и транскрипционих фактора.

У четвртном поглављу приказана је упоредна анализа нивоа билирубина код пацијената са таласемијом и пацијената са хроничним хепатитисом Ц у односу на здраву контролну

групу. Измерена вредност укупног билирубина код пацијената са таласемијом је била висока и за 3,86 пута је била већа него вредности код контролне групе. Код пацијената са ХХЦ вредност укупног билирубина је била већа за 1,7 пута од вредности из контролне групе. У групи пацијената са таласемијом уочена је висока стандардна девијација од 25,84 за медијану од 34,05, а код пацијената са ХХЦ стандардна девијација је била 9,84 за медијану 14,10. Овакви резултати су указали на потребу да се код ових пацијената утврди и индивидуална способност коњугације билирубина генотипизацијом промоторских варијанти *UGT1A1* гена.

У петом поглављу је извршена анализа учесталости промоторских варијанти *UGT1A1* гена, као и упоредни приказ вредности укупног билирубина у односу на генотип промоторских варијанти *UGT1A1* гена код пацијената са  $\beta$ -таласемијом минор. Показано је да су најниже вредности билирубина биле код пацијената са *UGT1A1* 6/6 ТА генотипом, док су највише биле код оних са *UGT1A1* 7/7 ТА генотипом и биле су више за 4,3 пута него код пацијената са *UGT1A1* 6/6 ТА генотипом. Учесталост *UGT1A1* генотипова у овој групи пацијената је у корелацији са учесталостима *UGT1A1* генотипова у општој популацији. У овом поглављу приказан је и случај пацијента са клиничком сликом ЖС код којег ЖС није потврђен генетичким тестом односно анализом промоторских *UGT1A1* варијанти. Даљим анализама показало се да је овај пацијент био носилац *UGT1A1* 6/7 ТА генотипа и  $\beta$ -таласемије минор, те да је висок ниво билирубина у његовом случају био последица хемолизе.

У шестом поглављу извршена је анализа учесталости промоторских варијанти *UGT1A1* гена, као и упоредни приказ вредности укупног билирубина у односу на генотип промоторских варијанти *UGT1A1* гена код пацијената са ХХЦ. Учесталост *UGT1A1* 6/6 ТА генотипа код пацијената са ХХЦ је била иста као у општој популацији док је учесталост *UGT1A1* 7/7 ТА генотипа у овој групи испитаника била већа него у општој популацији (25% у односу на 16%). Средње вредности укупног билирубина код пацијената са ХХЦ који су имали *UGT1A1* 6/6 ТА и *UGT1A1* 6/7 ТА генотип су биле приближно исте и нису одступале од референтних вредности док су код пацијената са *UGT1A1* 7/7 ТА генотипом вредности укупног билирубина биле око 3 пута више у односу на *UGT1A1* 6/6 и *UGT1A1* 6/7 ТА генотипове. Тако да је показано да су високе вредности билирубина код пацијената са тешком фиброзом јетре и *UGT1A1* 7/7 ТА генотипом последица смањене експресије *UGT1A1* гена, а не оштећења јетре хроничном вирусном инфекцијом.

У седмом поглављу кроз упоредни приказ нивоа билирубина код пацијената са таласемијом и ХХЦ у односу на *UGT1A1* промоторски генотип, показано је да хемолиза код пацијената са таласемијом доводи до значајнијег повећања нивоа билирубина него фиброза јетре која је последица вирусне инфекције, тако да је ниво билирубина код пацијената са  $\beta$ -таласемијом минор удруженом са *UGT1A1* 7/7 ТА генотипом за 2,2 пута виши него код пацијената са ХХЦ који имају *UGT1A1* 7/7 ТА генотип.

У осмом поглављу приказани су резултати популационих студија о учесталости промоторских варијанти *UGT1A1* гена у популацијама Републике Србије и Републике Српске. Из популације Републике Србије испитано је 100 здравих испитаника који нису били у сродничким везама, од тога је било 63 мушких и 37 женских испитаника. Учесталост *UGT1A1* 6/6 ТА се јавља код 37% испитаника опште популације, хетерозиготни носиоци промоторских варијанти *UGT1A1* 6/7 ТА су заступљени у 47%, док се хомозиготни *UGT1A1* 7/7 ТА носиоци присутни са учесталошћу од 16%. У општој популацији није детектован ни један случај хетерозиготног носиоца 7/8 ТА *UGT1A1* генотипа. На основу добијених резултата показано је да се *UGT1A1*\*28 алел у општој популацији Републике Србије јавља са учесталошћу од 0,40.

За потребе популационе студије у току израде ове тезе оформљена је биобанка Републике Српске коју чини 105 узорака од испитаника са целе површине Републике Српске, где је број испитаника по регијама био пропорционалан броју становника сваке регије. Биобанка Републике Српске се чува на Институту за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитета у Београду. Узорци који су похрањени у биобанку биће доступни за популационе студије за Републику Српску. У складу са Чланом 8. Закона о превенцији и дијагностици генетичких болести, генетички условљених аномалија и ретких болести, узорци се чувају анонимно. Обележени су бројевима за које је везана информација о полу, доби и регији становања испитаника. Популационе студије учесталости промоторских варијанти *UGT1A1* гена у популацији Републике Српске показале су да је присутна широка варијабилност у дистрибуцији промоторских генотипова *UGT1A1*. У Крајини, Сарајевско Романијској регији и у Подрињу (Подриње I и Подриње II, збирно) присутне су изузетно високе учесталости *UGT1A1* 7/7 ТА генотипа од 30,77%, 33,33% и 31,25% респективно. Најнижа учесталост *UGT1A1* 7/7 ТА генотипа је у И. Херцеговини, Семберији и Посавини (11,11%, 15,38% и 18,18% респективно). Генотип *UGT1A1* 6/6 ТА заступљен је са највишом учесталошћу у И. Херцеговини са 63,63% и Посавини са 55,55%. Учесталости дистрибуције *UGT1A1*\*28 алела представљене су по регијама Републике Српске. У Сарајевско Романијској регији и Подрињу – Фоча



*UGT1A1*\*28 алел се јавља са екстремно високом учесталошћу од око 0,60, затим следе Подриње II – Зворник и Семберија са високим учесталостима од 0,50 и 0,46. Најнижа учесталост је у Посавини и И. Херцеговини од 0,27 и 0,28. Крајина представља регију са најбројнијом и најхетерогенијом популацијом у Републици Српској и у тој регији је присутна релативно равномерна дистрибуција *UGT1A1* генотипова, док је детектована учесталост *UGT1A1*\*28 алела од 0,36. На основу добијених резултата показано је да се *UGT1A1*\*28 алел у општој популацији Републике Српске јавља са учесталошћу од 0,44. У деветом поглављу процењена је значајност *UGT1A1*\*28 алела као фармакогенетичког маркера за популације Републике Србије и Републике Српске.

У поглављу **Дискусија**, добијени резултати су критички дискутовани у светлу најновијих податка из литературе о значају уридин-дифосфат-глукуронозилтрансферазе у метаболизму билирубина, специфичности популационе дистрибуције различитих варијанти, као и значаја најчешћих алела као фармакогенетичких маркера у различитим популацијама. Изнета су оригинална разматрања поткрепљена постојећим подацима и најновијим експерименталним доказима. Дискусија је подељена у девет делова који су пратили потпоглавља Резултата.

Прво су анализирана ефикасност, поузданост и економска исплативост коришћених метода за детекцију промоторских варијанти *UGT1A1* гена.

Затим је продискутована учесталост ризичних *UGT1A1* 7/7 ТА и *UGT1A1* 7/8 ТА генотипова у групи пацијената са ЖС и добијени резултати упоређени су са резултатима сличних студија у другим популацијама. Дискусија је даље текла у правцу расветљавања узрока хипербилирубинемije код 10 пацијената који су имали клиничку слику Жилберовог синдрома а која није потврђена генетичким тестом. Разматрани су резултати добијени секвенцирањем четири стална егзона и првог варијабилног егзона, и анализиран је потенцијални значај две новоткривене варијанте у интронским регионима код једног пацијента са КН синдромом типа 2. У дискусији је надаље била централна тема корелација нивоа серумског билирубина са утврђеним генотиповима у три различите групе испитаника: здрава контролна група, група са ЖС, са таласемијом и група са ХХЦ. Описани су узроци појаве хипербилирубинемije као и утицај одређених генотипова на ниво серумског билирубина. У завршном делу дискусије детаљно су обрађени резултати дистрибуције промоторских варијанти *UGT1A1* гена у испитиваним популацијама Републике Србије и Републике Српске, и извршена су поређења са резултатима сличних студија спроведених у другим европским државама, као и са студијама у којима су

обрађене расне разлике у дистрибуцији варијанти *UGT1A1* гена. У завршном делу дискусије поента је стављена на добијене резултате који су показали да је *UGT1A1\*28* фармакогенетички маркер у популацији Србије присутан са 40%, док је у популацији Републике Српске присутан са 44%, што су највеће пријављене учесталости у европским популацијама. Овакви резултати су у даљој дискусији представљени као кључни за схватање важности *UGT1A1\*28* генетичког маркера као фармакогенетичког маркера од изузетног значаја у нашим популацијама.

У поглављу **Закључци**, на јасан начин је изнето више закључака који у потпуности произилазе из добијених резултата. У складу са приказаним резултатима, закључци су приказани на следећи начин:

1. Оптимизоване су поуздане и ефикасне методе за молекуларну детекцију *UGT1A1(TA)<sub>n</sub>* варијанте: ПЦР/акриламидна гел електрофореза, фрагмент анализа и секвенцирање по Сангеру. Метода избора за рутинску лабораторијску праксу је ПЦР/акриламидна електрофореза.
2. У нашој студији пацијената са Жилберовим синдромом (ЖС),  $\beta$ -таласемијом минор, хроничним хепатитисом Ц (ХХЦ), и здравих испитаника из Републике Србије и Републике Српске детектована су 4 различита промоторска ТА генотипа *UGT1A1* гена: *UGT1A1* 6/6 ТА, 6/7 ТА, 7/7 ТА и 7/8 ТА.
3. У групи пацијената са ЖС укупна учесталост ризичних генотипова (*UGT1A1* 7/7 ТА и 7/8 ТА) била је 80%: *UGT1A1* 7/7 ТА генотип је заступљен са 76,47% и *UGT1A1* 7/8 ТА генотип са 3,92%.
4. Носиоци ризичних генотипова за ЖС (*UGT1A1* 7/7 ТА и 7/8 ТА) имају 21 пута већу шансу за појаву ЖС од носилаца неризичних генотипова, али неће сви носиоци ризичних генотипова испољити фенотип ЖС. Валидност *UGT1A1\*28* варијанте као дијагностичког маркера за ЖС у овој студији била је 80%.
5. Ниво билирубина у серуму код пацијената са  $\beta$ -таласемијом минор је око 4 пута већи него код здравих испитаника. Највише вредности билирубина у серуму код пацијената са  $\beta$ -таласемијом минор јављају се код носилаца *UGT1A1* 7/7 ТА генотипа. *UGT1A1* ген се може сматрати геном модификатором код  $\beta$ -таласемијских синдрома.
6. Ниво билирубина у серуму код пацијената са хроничним хепатитисом Ц је око 1,7 пута већи него код здравих испитаника. Повишен ниво билирубина код пацијената оболелих од ХХЦ је у корелацији са ризичним *UGT1A1* 7/7 генотипом.

7. Заступљеност *UGT1A1* 7/7 ТА генотипа у популацији Републике Србије је 16%.
8. Заступљеност *UGT1A1* 7/7 ТА генотипа у популацији Републике Српске је 25%.
9. Заступљеност *UGT1A1*\*28 варијантног алела у популацији Републике Србије је 40%.
10. Заступљеност *UGT1A1*\*28 варијантног алела у популацији Републике Српске је 44%.
11. С обзиром на релативно високу учесталост *UGT1A1*\*28 алела у популацијама Републике Србије и Републике Српске (40% и 44%), препоручује се увођење предиктивног фармакогенетичког тестирања *UGT1A1*\*28 варијанте у рутинску клиничку праксу пре увођења терапије лекова у чијем метаболизму учествује *UGT1A1* ензим.

У поглављу **Литература**, наведен је списак од 145 цитираних страних и домаћих научних часописа и књига. Коришћена литература је адекватна, актуелана и довољно широка да покрива све аспекте истраживања. Навођења литературе у самом тексту дисертације примерена и по садржају и по месту.

### 3. БИБЛИОГРАФИЈА

**Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:**

**Радови у часописима међународног значаја**

1. **Vukovic** M, Radlovic N, Lekovic Z, Vucicevic K, Maric N, Kotur N, Gasic V, Ugrin M, Stojiljkovic M, Dokmanovic L, Zukic B, Pavlovic S. *UGT1A1* (TA)<sub>n</sub> promoter genotype: diagnostic and population pharmacogenetic marker in Serbia. *Balkan J Med Genet.* 2018; 21(1): 59-68 **M23** doi: [10.2478/bjmg-2018-0012](https://doi.org/10.2478/bjmg-2018-0012)  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6231317/>
2. Jordovic J, Bojovic K, Simonovic-Babic J, Gasic V, Kotur N, Zukic B, **Vukovic** M, Pavlovic S, Lazarevic I, Bekic I, Nikolic N, Urosevic A, Mitrovic N, Delic D. Significance of *UGT1A1* \*28 genotype in patients with advanced liver injury caused by chronic hepatitis C. *J Med Biochem.* 2018; 37:1-8 **M23**  
<https://doi.org/10.2478/jomb-2018-0015>  
<https://content.sciendo.com/view/journals/jomb/38/1/article-p45.xml>

## **Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја**

### **Радови у часописима домаћег значаја**

#### **Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја (М64)**

##### **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 „Варијанте промотора гена за уридин-дифосфат-глукуронозилтрансферазу 1A1 као модулатори биохемијског фенотипа и популационо фармакогенетички маркери“, кандидаткиње Марије Љ. Вуковић, утврђено подударате текста износи 14%. Овај степен подударности претежно је последица навођења научних звања и афилијација чланова комисије, коришћења стручних израза и назива гена, генетичких варијанти, ензима, референтних вредности за биохемијске параметре, описа делова методолошких протокола за које су јасно наведене референце, као и препознавања делова реченица за које је очигледно да нису преузети из других извора. На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, Комисија сматра да се у овом случају радо о оригиналној докторској дисертацији.

#### 4. МИШЉЕЊЕ И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

Докторска дисертација кандидаткиње Марије Вуковић под насловом: **“Варијанте промотора гена за уридин-дифосфат-глукуронозилтрансферазу 1A1 као модулатори биохемијског фенотипа и популационо фармакогенетички маркери”** представља оригиналан научни рад који се бави проучавањем корелације промоторских варијанти гена за *UGT1A1* са нивоом билирубина код здравих испитаника, као и код испитаника са Жилберовим синдромом, таласемијским синдромом и хроничним хепатитисом Ц, као и популационим истраживањем учесталости промоторских варијанти *UGT1A1* гена у популацијама Републике Србије и Републике Српске и релевантности најчешће промоторске *UGT1A1* варијанте као фармакогенетичког маркера у испитиваним популацијама. Теза се одликује јасно дефинисаним циљевима и адекватно планираним и успешно реализованим истраживачким поступком.

Остварени резултати објављени су у оквиру два оригинална научна рада, што потврђује актуелност и значајност добијених резултата.

На основу увида у експериментални рад, постигнуте резултате као и написану докторску тезу, Комисија закључује да су задаци постављени у циљевима испуњени, тако да позитивно оцењује докторску тезу и има задовољство да предложи Наставно-научном већу Биолошког факултета, Универзитета у Београду, да прихвати позитивну оцену докторске дисертације Марије Ј. Вуковић и омогући кандидаткињи јавну одбрану рада.

#### КОМИСИЈА:

---

др Бранка Зукић, виши научни сарадник,  
Институт за молекуларну генетику и генетичко  
инжењерство, Универзитет у Београду  
(ИМГГИ), ментор

---

др Соња Павловић, научни саветник, Институт  
за молекуларну генетику и генетичко  
инжењерство, Универзитет у Београду, ментор

---

др Светлана Радовић, редовни професор,  
Биолошки факултет, Универзитет у Београду,  
члан

У Београду, 28. јуна 2019. године