

**NASTAVNO NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRDU**

Na sednici **Nastavno-naučnog veća** Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 01.07.2022. godine, broj 7520/6-MA imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Značaj genetskog polimorfizma matriksnih metaloproteinaza MMP-2 i MMP-9 u nastanku mikrovaskularnih komplikacija kod pacijenata sa tipom 2 šećerne bolesti“

kandidata dr Marine Anđelić Jelić, zaposlenog na Kliničkom odeljenju za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma KBC Zvezdara u Beogradu. Mentor je Akademik Prof. dr Nebojša M. Lalić a komentor je N.Sav.Dragica Radojković,

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Teodora Beljić Živković, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.
2. Prof. dr Aleksandra Jotić, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.
3. Aleksandra Nikolić, naučni savetnik, Instituta za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo (IMGGI), Univerziteta u Beogradu

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 Marine Anđelić Jelić napisana je na ukupno 110 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 42 tabele, 31 grafikon i 6 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **uvodu** je definisano šta je to diabetes mellitus, podela diabetes mellitusa i podela mikrovaskularnih komplikacija diabetes mellitusa. Detaljno su opisani patogenetski mehanizmi koji leže u osnovi mikrovaskularnih komplikacija šećerne bolesti i to :dijabetesne retinopatije, dijabetesne nefropatije i dijabetesne polineuropatije. Takođe je poseban osvrt napravljen na genetske faktore koji imaju ulogu u nastanku ovih komplikacija.

Posebno je opisana uloga enzima matriksnih metaloproteinaza koje imaju ulogu u remodelovanju ekstracelularnog matriksa, u nastanku i progresiji mikrovaskularnih komplikacija šećerne bolesti. Nakon detaljnog opisa strukture, funkcije, podele i mehanizama regulacije ovih enzima, poseban osvrt je napravljen na enzime MMP-2 i MMP-9 koji su najznačajniji, i do sada najviše ispitani u nastanku i toku same šećerne bolesti ali i njenih komplikacija. Opisana su dva najznačajnija polimorfizma i to -1306C>T u genu za MMP-2 i -1562C>T u genu za MMP-9. Detaljno su data sva saznanja vezana za navedene polimorfizme ovih gena i povezanost sa svakom od mikrovaskularnih komplikacija diabetes mellitusa.

Ciljevi rada su precizno definisani. Osnovno je bilo utvrditi da li postoji razlika u navedenim polimorfizmima u MMP-2 i MMP-9 genu u grupi osoba sa T2DM i zdravoj populaciji. Ostali ciljevi su bili utvrditi da li postoji povezanost ovih polimorfizama sa nastankom dijabetesne retinopatije, nefropatije i polineuropatije.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o studiji preseka koja je sprovedena u Kliničko bolničkom centru “Zvezdara“, na Kliničkom odeljenju za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma.u periodu od 2013-2018. godine. Genetske analize su radjene na Institutu za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo Univerziteta u Beogradu. . Ova studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu i od Etičkog komiteta KBC Zvezdara.

Detaljno su objašnjene metode procene prisustva mikrovaskularnih komplikacija šećerne bolesti. Takođe je detaljno opisana i PCR metoda određivanja genetskih polimorfizama u dva navedena gena MMP-2 i MMP-9.

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

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

Zaključč ažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 354 reference.

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 „Značaj genetskog polimorfizma matriksnih metaloproteinaza MMP-2 i MMP-9 u nastanku mikrovaskularnih komplikacija kod pacijenata sa tipom 2 šećerne bolesti “ autora dr Marine Anđelić Jelić konstatovano je da utvrđeno podudaranje teksta iznosi 13%. Ovaj stepen podudarnosti posledica je standardizovanog opisa korišćenih metoda, citata, tzv. opštih mesta i podataka, kao i prethodno publikovanih rezultata doktorandovih istraživanja, koji su proistekli iz njegove disertacije, što je u skladu sa članom 9. Pravilnika. Na osnovu svega iznetog, a u skladu sa članom 8. stav 2. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu izveštaj ukazuje na originalnost doktorske disertacije, te se propisani postupak pripreme za njenu odbranu može nastaviti.

C) Kratak opis postignutih rezultata

Prvi cilj našeg istraživanja je bio da se proceni kolika je zastupljenost genskih polimorfizama za MMP-2 i MMP-9 u populaciji pacijenata sa T2DM, a kolika u zdravoj populaciji ispitanika i da li postoji eventualna razlika u njihovoj zastupljenosti . Ispitivana je učestalost dve najčešće genske varijante i to MMP-2 -1306C>T i MMP-9-1562C>T.

U grupi pacijenata sa T2DM distribucija genotipova je bila sledeća: CC:CT:TT-69%:27.6%:3.4% a u kontrolnoj grupi 48.2%:44.7%:7.1%. Pokazano je da je CC genotip za 20 % češći kod osoba sa T2DM a da je CT genotip takođe za 20 % ređi kod T2DM nego u zdravoj grupi ispitanika. Što se tiče distribucije alela, pokazano je da je 96.6% pacijenata sa

T2DM imalo C alel kao i 92. % pacijenata iz kontrolne frupe imalo T alel i ta razlika nije bila statistički značajna. Međutim, logističkom regresionom analizom je pokazano da osoba koja nema T alel ima 2,1 puta veću šansu da dobije T2DM nego osobe koje imaju T alel, što znači da T alel pruža zaštitu u odnosu na nastanak T2DM.

Kada je u pitanju genska varijanta MMP-9-1562C>T u našoj studiji nije nađena značajna razlika ni u distribuciji genotipova ni alela između pacijenata sa T2DM i zdravih kontrola.

Rezultati naše studije nisu pokazali da postoji povezanost između 1306C>T varijante u MMP-2 genu i -1562C>T varijante u MMP-9 genu i postojanja dijabetesne retinopatije. Nije pokazana značajna razlika ni u distribuciji genotipova ni u distribuciji alela između pacijenata sa DR i zdravih kontrola.

Kod pacijenata sa dijabetesnom nefropatijom smo ispitivala povezanost ova dva SNP i to za MMP-2 (1306C>T) i MMP-9 (-1562C>T) sa nastankom dijabetesne nefropatije. U našoj studiji nije nađena povezanost između genske varijante MMP-2 -1306C>T i 1562C>T varijante u MMP-9 genu i postojanja dijabetesne nefropatije niti je nađena razlika u distribuciji genotipova i alela za ovaj genski polimorfizam.

Kod genske varijante MMP-2 -1306C>T nije nađena razlika u distribuciji genotipova i alela između pacijenata sa DPN i pacijenata sa T2DM ali bez dijabetesne polineuropatije. Ali ono što je pokazano, je da je MMP-2 varijanta -1306T ima negativnu korelaciju sa nastankom dijabetesne polineuropatije tj. da prisustvo C alela povećava verovatnoću za nastanak dijabetesne polineuropatije čak 3.2 puta dok prisustvo T alela ima protektivnu ulogu kada je razvoj dijabetesne polineuropatije u pitanju.

D) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Ovo je prva studija u našoj populaciji koja je ispitivala zastupljenost genskih polimorfizama za MMP-2 i MMP-9 u populaciji pacijenata sa T2DM,

Rezultati dobijeni na našem uorku pacijenata su slični sa rezultatima studija u drugim populacijama. Što se tiče genske varijante -1306C>T u genu za MMP-2 kod pacijenata sa T2DM naši rezultati se poklapaju sa rezultatima Sarray et al koji je u retrospektivnoj studiji iz 2021. god, na 310 normoglikemičnih zdravih kontrola i 791 pacijentom sa T2DM takođe pokazao da je ova genska varijanta povezana sa većim rizikom za nastanak T2DM, tj. da prisustvo T alela ima zaštitnu ulogu u nastanku DM.

Kada je u pitanju genska varijanta -1562C>T u genu za MMP-9 rezultati nastudije se poklapaju sa rezultatima studije Wang et al. (354) koja je radjena na 360 pacijenata sa T2DM i 160 zdravih kontrola i gde je distribucija genotipova kako u zdravoj tako i u grupi pacijenata sa T2DM i bez makroangiopatskih komplikacija bila slična kao u našoj studiji (CC: CT: TT - 76.3%:21.3%:2.5% u grupi sa DM) U studiji Yang et al (337) koja je rađena na 301 pacijentu (151 pacijent sa DR i 150 zdravih pacijenata) ispitivana je povezanost dve genske varijante za MMP-2, između ostalog i 1306C>T MMP-2 i nastanka dijabetesne retinopatije .Studija je pokazala da nije bilo statistički značajne razlike u distribuciji genotipova i alela za ovaj SNP između pacijenata sa DR i zdravih kontrola, što su pokazali i rezultati naše studije. Ono što je pokazano je da nosioci CC genotipa imaju dva puta veći rizik za nastanak DR, što u našoj studiji nije pokazano.

U studiji Beraneka et al pokazano je da su koncentracije MMP-2 u plazmi bile statistički značajno više kod pacijenata sa proliferativnom retinopatijom i to onih koji su bili nosioci CC ili CT genotipa za varijantu -1306C>T u genu za MMP-2 .U ovoj studiji nije pokazana razlika u distribuciji genotipova i alela između ispitivanih grupa (pacijenata sa DR i zdravih kontrola) što se poklapa sa rezultatima naše studije.

U studiji Singh et al. koja je rađena na 645 pacijenata (325 zdravih kontrola, 149 pacijenata sa DM ali bez DR, 98 pacijenata sa neproliferativnom retinopatijom i 73 pacijenta sa proliferativnom retinopatijom) ispitivana je povezanost genske varijante -1562C>T u genu za MMP-9 i nastanka proliferativne retinopatije. Potvrđena je statistički značajna razlika u distribuciji genotipova i alela za ovaj SNP i to između zdrave, kontrolne grupe i pacijenata sa proliferativnom retinopatijom i potvrđeno da visoka ekspresija T alela vodi angiogenezi retine i progresiji DR. Rezultati naše studije nisu dali ovu značajnost verovatno zbog malog broja pacijenata sa proliferativnom dijabetesnom retinopatijom.

Malo studija je urađeno koje su ispitivale polimorfizam gena za MMP-2 i MMP-9 i nastanak dijabetesne nefropatije.

U studiji Gantala et al koja je rađena na 310 pacijenata sa dijabetesnom nefropatijom i 310 zdravih kontrola ispitivan je polimorfizam više gena i za gensku varijantu -1306C>T u genu za MMP-2 pokazano je da je značajno povezana sa nastankom dijabetesne nefropatije i da su nosioci C alela značajno bili osetljiviji za nastanak i progresiju dijabetesne nefropatije. Naša studija nije dala ovakve rezultate.

Dve studije su rađene sa ispitivanjem povezanosti genske varijante -1562C>T u genu za MMP-9 i nastanka dijabetesne nefropatije. Jedna studija urađena od strane Fenga et al uključila je 310 pacijenata sa T2DM koji su bili podeljeni u dve grupe : pacijente sa dijabetesnom nefropatijom (njih 168) i bez nje a sa T2DM (njih 142), dok su kontrolnu grupu činili zdravi dobrovoljci kojih je bilo 100. Rezultat studije je bio da je ovaj SNP povezan sa nastankom dijabetesne nefropatije s tim što je T alel protektivan a nosioci C alela imaju značajno veću šansu za razvoj dijabetesne nefropatije. Još jedna studija je ispitivala značaj ovog genskog polimorfizma i to studija Shalaby et al koji je na manjem uzorku egipatske populacije takođe zaključio da nije bilo razlike u distribuciji genotipova i alela između ispitivane grupe pacijenata sa DN i zdravih kontrola što se poklapa sa rezultatima naše studije. Ono što je dodatno pokazano je da je učestalost T alela u grupi pacijenata sa DN bila značajno niža te da T alel ima protektivnu ulogu što se tiče nastanka DN. Ovakav rezultat mi nismo dobili u našoj studiji.

Po našem saznanju naša studija je prva koja je ispitivala navedene polimorfizme gena za MMP-2 i MMP-9 i njihovu povezanost sa nastankom dijabetesne polineuropatije.

Samo jedna studija je rađena sa ispitivanjem SNP u MMP-9 genu u vezi sa nastankom dijabetesnog ulkusa. U studiji Singh et al koja je rađena na 463 pacijenta sa DM i 267 zdravih kontrola pokazano je genska varijanta -1562C>T u genu za MMP-9 bila povezana sa nastankom dijabetesnog ulkusa.

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Andjelic Jelic M, Radojkovic D, Nikolic A, Rakicevic Lj, Babic T, Jelic Dj, Lalic NM. MMP-2 and MMP-9 gene variants - microvascular complications in T2DM. BJMG 25(1)2022.. M23. IF: 0.519.

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Značaj genetskog polimorfizma matriksnih metaloproteinaza MMP-2 i MMP-9 u nastanku mikrovaskularnih komplikacija kod pacijenata sa tipom 2 šećerne bolesti“ dr Marine Anđelić Jelić, kao prvi ovakav rad u našoj populaciji predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju uticaja genskih polimorfizama na nastanak mikrovaskularnih komplikacija kod T2DM. Ovo je prvi put da se u našoj populaciji objavljuju podaci o učestalosti polimorfizama MMP-2 i MMP-9 u populaciji pacijenata sa T2DM. Takođe, ovo je prva studija, po našem saznanju, ne samo kod nas, koja ispituje polimorfizme MMP-2 i MMP-9 i njihovu povezanost sa sve tri mikrovaskularne komplikacije DM tako da su u tom svetlu rezultati koje smo dobili značajni, iako pionirski

Povezanost polimorfizma MMP-2 (-1306C>T) i nastanka dijabetesne polineuropatije je rezultat koji je prvi put do sada objavljen a kako se o genetskoj predispoziciji za nastanak dijabetesne polineuropatije najmanje zna od svih ostalih mikrovaskularnih komplikacija onda to još više daje rezultatu na značaju

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 Marine Anđelić Jelić i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 13.07.2022.

Članovi Komisije:

Prof. dr Teodora Beljić Živković

Prof. dr Aleksandra Jotić

Aleksandra Nikolić , Naučni Savetnik

Mentor:

Akademik Prof dr Nebojša Lalić

Komentor

Dragica Radojković , Naučni Savetnik
