

**NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 01. decembra 2016. godine, odlukom broj 5940/8 imenovana je Komisija za ocenu završne doktorske disertacije pod naslovom:

**“ASSOCIATION OF GLUTATHIONE TRANSFERASE A1, M1, P1 AND T1
GENE POLYMORPHISMS WITH THE RISK OF RENAL CELL CARCINOMA
DEVELOPMENT AND PROGRESSION”**

kandidata dr **Vesne Ćorić**, doktora medicine na specijalizaciji iz Laboratorijske medicine, zaposlene na Medicinskom fakultetu u Beogradu na mestu asistenta na Katedri za medicinsku i kliničku biohemiju. Mentor ove teze je Prof. dr Marija Plješa Ercegovac, a komentor Prof. dr Zoran Džamić.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. **Prof. dr Tatjana Simić**, redovni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu
2. **Prof. dr Tatjana Pekmezović**, redovni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu
3. **Prof. dr Manuela Schmidinger**, Medizinische Universität Wien, Klinik für Innere Medizin i Klinische Abteilung für Onkologie, Waehringer Guertel 18-20, A-1090 Wien (Austria)

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

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija asistenta dr Vesne Ćorić je napisana na 115 strana i podeljena na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi, material i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 43 slike i 32 tabele. Doktorska disertacija sadrži sažetak na engleskom i srpskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćica korišćenih u tekstu.

Uvod disertacije je podeljen na nekoliko delova. Prvi deo je posvećen glavnim epidemiološkim odlikama karcinoma bubrežnog parenhima (KBP), kao i dijagnostičkom i terapijskom pristupu ovom karcinomu, sa posebnim osvrtom na etiologiju KBP. Takođe, postavlja se pretpostavka da i genetski faktori, posebno polimorfna ekspresija gena može značajno doprineti mehanizmima kancerogeneze u bubregu. U narednom delu, detaljno je opisana klasifikacija glutation transferaza (GST), kao i njihova struktura i funkcija. Naime, pored njihove poznate uloge u reakcijama biotransformacije, postoje dokazi koji govore o ulozi GST proteina u ćelijskom preživljavanju, posredstvom učešća u protein:proteinskim interakcijama sa pojedinim signalnim molekulima. U ovom delu disertacije, posebna pažnja je posvećena genetskim varijacijama u okviru gena koji kodiraju klinički najznačajnije GST. Pored toga, napomenuto je da su dosadašnja istraživanja o povezanosti polimorfizma gena za GST sa rizikom za nastanak KBP, nezavisno ili udruženo sa poznatim faktorima rizika, dala dosta kontradiktorne rezultate. Pored toga, ukazano je na činjenicu da u literaturi nema podataka o prognostičkom značaju polimorfizma GST u KBP, kao ni o uticaju polimorfne ekspresije *GSTM1* i *GSTP1* na aktivnost apoptotskih signalnih puteva u KBP. Zbog svega navedenog i mogućeg funkcionalnog značaja najčešćih polimorfizama gena koji kodiraju citosolne glutation transferaze A1, M1, T1 i P1 u nastanku, progresiji i napredovanju KBP, postavljeni su i jasno definisani **ciljevi** studije:

1. Ispitati da li postoji uticaj genskog *polimorfizma GSTA1 (rs3957357)*, *GSTM1*, *GSTP1 (rs1695)* i *GSTT1* na rizik za nastanak karcinoma bubrežnog parenhima, kao i da li postoji udruženi efekat genotipova i poznatih faktora rizika (pušenje, hipertenzija, BMI) za nastanak karcinoma bubrežnog parenhima
2. Ispitati da li je prisustvo mutiranih genskih varijanti u okviru *GSTA1*, *GSTM1*, *GSTP1* i *GSTT1* udruženo sa višim nivoima pokazatelja oksidativnog oštećenja DNK molekula (8-OHdG) i povećanim prisustvom BPDE-DNK konjugata kao i sa drugim fenotipskim karakteristikama tumora (stadijum i gradus)
3. Ispitati da li polimorfna ekspresija *GST* proteina ima prognostički značaj kod bolesnika sa karcinomom bubrežnog parenhima
4. Ispitati da li postoji povezanost između ekspresije glutation S-transferaze M1-1 i odnosno P1-1 i aktivnosti regulatornih (ASK1, JNK1/2) i egzekutornih (Aktivirana Caspaza 3) molekula apoptoze, kao i da se ispita postojanje protein:proteinske interakcije između *GSTM1-1* i ASK1 kao i *GSTP1*:JNK1/2

U poglavlju **Materijal i metode** navedeno je da je izvedena studija slučajeva i kontrola (engl. *case-control* study) u koju je bilo uključeno 305 bolesnika sa KBP, lečenih na Klinici za urologiju, Kliničkog centra Srbije, u periodu od 2011-2014. godine, kao i 326 uparenih kontrola, bez prethodne dijagnoze malignih oboljenja, koji su lečeni u istom kliničkom centru. Za procenu uticaja *GST* polimorfizama na nivo pokazatelja oksidativnog oštećenja DNK (8-OHdG) i sadržaj BPDE-DNK konjugata kod pacijenata sa KBP, kao i na preživljavanje ovih pacijenata, izvedena je studija slučajeva (engl. “*case-only*”) studija. Za određivanje nivoa ekspresije *GSTM1* i *GSTP1* proteina, kao i regulatornih (*ASK1*, *JNK1/2*) i izvršnih (*Caspaza 3*) molekula apoptoze, 30 uzoraka tumorskog tkiva i susednog netumorskog tkiva bubrega je prikupljeno tokom radikalne nefrektomije pacijenata sa svetloćelijskim KBP. Studija je izvedena u skladu sa etičkim standardima datim u Helsinškoj deklaraciji (prema revidiranoj verziji iz 2013. godine) i u skladu sa pravilima Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (odluka od 13. oktobra 2011, broj 29/X-3).

U ovom delu disertacije detaljno je opisana metodologija ispitivanja koja podrazumeva određivanje *GST* polimorfizama analizom reakcije lančanog umnožavanja (engl. *polymerase chain reaction*, PCR), analizom proizvoda restrikcione digestije DNK (engl. *restriction fragment length polymorphism*, RFLP-PCR) i kvalitativnog PCR-a (engl. *qPCR*). Učestalost genskih varijanti, kao i rizik za nastanak KBP procenjavani su univarijantnom logističkom regresionom analizom, na osnovu veličine i značajnosti odnosa šansi (engl. *odds ratio*, OR) sa intervalom poverenja od 95% (IP 95%). Prediktivna vrednost *GST* genskih varijanti je procenjavana *Cox* regresionim modelom, dok je *Kaplan-Meier* metod korišćen za utvrđivanje razlika u preživljavanju. Nivoi produkata oksidativnog oštećenja DNK (8-OHdG) i sadržaj BPDE-DNK konjugata kod pacijenata sa KBP su određivani metodom enzimskog imunoeseja (engl. ELISA), koja je takođe detaljno opisana. Opisana je i metoda imunoblota za određivanje nivoa ekspresije *GSTM1* i *GSTP1* proteina, kao i regulatornih (*ASK1*, *JNK1/2*) i izvršnih (*Caspaza 3*) molekula apoptoze. Prisustvo *GSTM1:ASK1* i *GSTP1:JNK1/2* protein:proteinskih interakcija u uzorcima tumorskog tkiva pacijenata sa svetloćelijskim KBP pokazano je primenom metode imunoprecipitacije.

U poglavlju **Rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati kroz 23 slike i 26 tabela.

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. Pokazano je da određeni polimorfizmi *GST* mogu imati značajan efekat na rizik za nastanak KBP, sa posebnim

naglaskom na *GSTM1-nulti* i *GSTP1-varijantni* genotip. Pored toga, kombinovani *GSTM1-nulti/GSTT1-aktivni/GSTA1* genotip smanjene aktivnosti/*GSTP1-varijantni* genotip se može smatrati “rizičnim genotipom” za nastanak sKBP. Sa druge strane, *GSTM1-nulti* genotip je udružen sa boljom postoperativnom prognozom pacijenata sa KBP, a u osnovi moguće prognostičke uloge GST u KBP bi bilo postojanje *GSTM1:ASK1* i *GSTP1:JNK1* protein:proteinskih intrakcija. Stoga je zaključeno da određivanje *GSTM1* genotipa može predstavljati koristan pokazatelj u proceni rizika za nastanak KBP i postoperativnu prognozu pacijenata sa ovim karcinomom.

Bibliografija sadrži listu od 193 reference.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Uočen je značajan efekat *GSTM1-nultog* i *GSTP1-varijantnog* genotipa na rizik za nastanak KBP ($p < 0.05$). Pored toga, 22% svih pacijenata sa sKBP su bili nosioci kombinovanog *GSTM1-nultog/GSTT1-aktivnog/GSTA1-genotipa smanjene aktivnosti/GSTP1-varijantnog* genotipa i oni su bili u 9.32 - puta većem riziku za nastanak sKBP u poređenju sa nosiocima referentnog genotipa (*GSTM1-aktivni/GSTT1-nulti/GSTA1-aktivni/GSTP1-referentni* genotip) ($p = 0.041$). Uočen je efekat *GSTP1-varijantnog* genotipa na rizik za nastanak KBP kod pušača, dok je kombinacija *GSTM1-nulti/GSTP1-varijantni/GSTA1-genotip smanjene aktivnosti* bila prisutna u 94% pušača sa sKBP, povećavajući rizik od nastanka sKBP na 7.57 puta ($p = 0.026$). Takođe, pušači sa sKBP, nosioci *GSTM1-nultog* genotipa su imali značajno više nivoe BPDE-DNK-konjugata u poređenju sa nosiocima *GSTM1-aktivnog* genotipa ($p = 0.050$). Ipak, nije nađena asocijacija između nosilaca različitih *GST* genskih varijanti po pitanju nivoa 8-OHdG. Kada je ispitivana povezanost fenotipskih karakteristika tumora sa *GST* genotipom, uočeno je da je *GSTM1-nulti* genotip bio najučestaliji kod pacijenata sa G2 gradusom tumora. Rezultati ispitivanja prognostičke uloge GST u KBP su pokazali da je kumulativna verovatnoća preživljavanja pacijenata sa KBP i sKBP, nosilaca *GSTM1-aktivnog* genotipa bila manja u odnosu na ispitanike sa *GSTM1-nultim* genotipom ($p < 0.05$). Štaviše, pacijenti sa KBP i sKBP, nosioci *GSTM1-aktivnog* genotipa imali su statistički značajno veći rizik od smrtnog ishoda u sva tri ispitivana modela u odnosu na nosioce *GSTM1-nultog* genotipa ($p < 0.05$). U osnovi prognostičke uloge GST u KBP bi bila negativna regulacija apoptotskih signanih putva kroz sekvencijaciju *ASK1* signalne kinaze od strane *GSTM1* proteina, s obzirom da je prisustvo *GSTM1:ASK1* protein:proteinskih intrakcija nađeno u svim analiziranim tumorskim uzorcima tkiva pacijenata sa svetloćelijskim KP. Dodatno, nađena je jaka pozitivna korelacija u pogledu ekspresije između *GSTM1* i izvršnog (aktivirana Caspaze-3) apoptotskog molekula gde je ekspresija aktivirane Caspaze-3 bila niža kod nosilaca

GSTM1-aktivnog genotipa u poređenju sa ekspresijom aktivne Caspaze-3 kod nosilaca *GSTM1-nultog* genotipa. Na kraju, potvrđena je nekatalitička uloga GSTP1 proteina kroz prisustvo GSTP1:JNK1/2 kompleksa u svim analiziranim tumorskim uzorcima tkiva pacijenata sa svetloćelijskim KPB.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Izrazita genska heterogenost, koja može nastati usled genske delecije ili polimorfizama jednog nukleotida, kako u kodirajućim, tako i u nekodirajućim regionima *GST* gena, može poslužiti kao značajan pokazatelj za procenu rizika od nastanka karcinoma (Di Pietro et al., 2010; Hollman et al., 2016; Josephy, 2010). Sve veći broj dokaza govori u prilog činjenici da GST mogu učestvovati u progresiji tumora i samim tim uticati na preživljavanje pacijenata sa karcinomom, delujući kao negativni regulatori protein-kinaza u signalnim kaskadama, a preko protein:proteinskih interakcija (Board and Menon, 2013; Laborde, 2010; McIlwain et al., 2006; Pajaud et al., 2012; Tew and Townsend, 2012).

GSTM1-multi genotip je prvi GST genotip koji je ispitivan u velikom broju studija koje su pokušale da rasvetle ulogu nedostatka *GSTM1* proteina u podložnosti za nastanak kancera. Značajan broj studija nije ukazao na postojanje ovakve asocijacije, uključujući i one koje se odnose na ulogu *GSTM1-nultog* genotipa u nastanku KPB, što je potom analizirano u brojnim meta-analizama (Abid et al., 2016; Cheng et al., 2012; Huang et al., 2015; Jia et al., 2014; Liu et al., 2012; Yang et al., 2013). Ipak, rezultati doktorske disertacije dr Ćorić su pokazali da *GSTM1-multi* genotip predstavlja značajan faktor za nastanak KPB, što je u saglasnosti sa rezultatima ove disertacije, koji takođe govore u prilog uloge *GSTM1* polimorfizma u nastanku svetloćelijskog KPB. Nakon što je pokazano da reakcije katalisane *GSTT1* mogu dovesti do nastanka još aktivnijeg jedinjenja (Brüning et al., 1997; Guengerich, 2005; Thier et al., 2003), *GSTT1* delecioni polimorfizam je bio predmet izučavanja velikog broja studija, od kojih su neke pokušale da odrede da li je prisustvo *GSTT1-aktivnog* genotipa udruženo sa rizikom od nastanka KPB, nezavisno ili u kombinaciji sa kratkotrajnom i dugotrajnom izloženošću određenim profesionalnim kancerogenima, kao i kancerogenima iz spoljne sredine (Buzio et al., 2003; Karami et al., 2008; Longuemaux et al., 1999). Rezultati doktorske disertacije dr Ćorić su pokazali da *GSTT1-aktivni* genotip ne doprinosi nastanku KPB, što je u saglasnosti sa 2 skorašnje meta-analize (Jia et al., 2014; Yang et al., 2013), a izloženost određenim kancerogenima nije procenjivana. Iako je ekspresija još jedne klase GST, *GSTA1*, prevažno pokazana u svetloćelijskom KPB (Simic et al., 2009), u literaturi nema dovoljno podataka koji govore u prilog potencijalnoj ulozi *GSTA1* SNP polimorfizma kako u nastanku, tako i u prognozi bolesnika sa KPB

(Searchfield et al., 2011). Kada su u pitanju rezultati doktorske disertacije dr Ćorić, nije pokazano da *GSTA1* genotip *niske aktivnosti* (CT+TT) doprinosi nastanku KBP. Poznato je i da funkcionalno različiti *GSTP1* izoenzimi mogu imati značajnu ulogu u metabolizmu kancerogena spoljašnje sredine i samim tim mogu uticati na rizik za nastanak KBP (Longuemaux et al., 1999). Ipak, pojedine meta-analize koje se bavile ulogom *GST* polimorfizma u nastanku KBP nisu ukazale na postojanje povezanosti različitih *GSTP1* genotipa i KBP (Jia et al., 2014; Yang et al., 2013). Međutim, rezultati doktorske disertacije dr Ćorić su pokazali značajno povećani rizik od nastanka KBP kod pacijenata sa *GSTP1*-varijantnim (*ValVal*) genotipom, što je bilo u saglasnosti sa rezultatima dobijenim u grupi pacijenata sa svetloćelijskim KPB. Ova asocijacija se pokazala posebno značajom kada je ispitivan kombinovani efekat *GST* polimorfizma na rizik za nastanak KBP, kao i svetloćelijskog KBP kroz nekoliko modela za ispitivanje gen-gen interakcija. Određivanje kombinovanog efekta *GST* genotipova bi moglo da bude od posebnog značaja u pouzdanoj interpretaciji uloge *GST* u nastanku KBP, s obzirom da se izmenjena aktivnost pojedinih *GST* može nadomestiti aktivnošću drugih izoenzima usred preklapanja u supstratnoj specifičnosti. U prilog tome govore i rezultati doktorske disertacije dr Ćorić koji su pokazali da su 22% svih pacijenata sa svetloćelijskim KBP nosioci kombinovanog *GSTM1*-*nulli*/*GSTT1*-*aktivni*/*GSTA1* *niske aktivnosti*/*GSTP1*-*varijantni* genotipa koji se može smatrati “rizičnim genotipom” za nastanak svetloćelijskog KBP. Takođe, trend porasta rizika je uočen kada je ispitivan kumulativni efekat *GST* genotipa na rizik za nastanak kako KPB generalno, tako i svetloćelijskog tipa KBP. Svega nekoliko studija po tipu slučajeva i kontrola se bavilo ispitivanjem kombinovanog efekta *GST* polimorfizma i podložnosti za nastanak KBP, ali ni jedna od njih nije ukazala na postojanje značajnosti ove asocijacije. Efekat ovih gen-gen interakcija je analiziran i u dve meta-analize, međutim ispitivani modeli nisu dali statistički značajne rezultate (Jia et al., 2014; Yang et al., 2013).

Pušenje, hipertenzija i gojaznost se smatraju faktorima rizika za nastanak KBP. Do sada je kombinovani efekat *GSTM1*,*GSTT1* genotipa i pušenja u nastanku KBP je ispitivan samo u dve studije (Karami et al., 2008; Sweeney et al., 2000), a potom u jednoj meta-analizi, ne ukazujući na postojanje značajne asocijacije između ispitivanih *GST* genotipova i KPB među pušačima (Yang et al., 2013). Ipak, u doktorskoj disertaciji dr Ćorić pokazana je značajna asocijacija između *GSTP1* genotipa i rizika za nastanak svetloćelijskog KPB kod pušača. Takođe, rezultati su pokazali da je kombinacija *GSTM1*-*nulli*/*GSTP1*-*varijantni*/*GSTA1* genotipa *niske aktivnosti* bila prisutna u 94% pušača sa svetloćelijskim KBP, kao i da su nosioci ovog genotipa u 7.57 puta većim riziku od nastanka svetloćelijskog KBP. Od posebnog je značaja da je kod pušača sa *GSTM1*-*nullim* genotipom

nađen povišeni nivo BPDE-DNA konjugata u poređenju sa pušačima sa *GSTM1-aktivnim* genotipom koji su oboleli od svtloćelijskog KBP, što je u saglasnosti sa prethodno postavljenom pretpostavkom da se povećani stepen oštećenja DNK češće javlja kod nosilaca *GSTM1-nultog* genotipa nego kod nosilaca *GSTM1-aktivnog* genotipa (Rebbeck, 1997). Pored toga, studija *Lodovici i sar.* je okarakterisala osobe sa *GSTM1-nultim* i *GSTP1-referentnim* genotipom kao nosioce “rizičnog genotipa” koji je udružen sa povišenim nivoima BPDE-DNA konjugata (Lodovici et al., 2004). Kada je ispitivan kombinovani efekat *GST* genotipa i hipertenzije, kao još jednog prepoznatog faktora rizika za nastanak KBP, rezultati doktorske disertacije dr Ćorić su ukazali na postojanje značajnosti u svim analiziranim kombinacijama, sa posebnim osvrtom na *GSTM1-nulti* i *GSTP1-varijantni* genotip.

Literaturni podaci dovode u vezu prepoznate faktore rizika za nastanak KBP sa endogenom produkcijom slobodnih radikala i lipidnom peroksidacijom, kao mogućim mehanizmom koji bi se našao u osnovi nastanka KBP. S obzirom na značajnu antioksidantnu ulogu *GST*, prisustvo polimorfnihi varijanti *GST* bi moglo da za posledicu ima smanjen antioksidativni kapacitet i povišen nivo markera oksidativnog oštećenja DNK (Sweeney et al., 2000). Iako su vrednosti 8-OHdG dobijene u doktorskoj disertaciji dr Ćorić bile više kod pacijenata sa “rizičnim genotipom”, koji su bili podeljeni na osnovu prisustva prepoznatih faktora rizika za nastanak KBP, dobijene vrednosti nisu bile statistički značajno više u odnosu na vrednosti izmerene kod nosilaca referentnog genotipa.

Kada je ispitivan potencijalni prognostički značaj *GST* polimorfizama kod pacijenata sa KBP, rezultati doktorske disertacije dr Ćorić su jasno pokazali da nosioci *GSTM1-nultog* genotipa imaju bolje preživljavanje od nosilaca *GSTM1-aktivnog* genotipa. Takođe, rezultati su pokazali da je *GSTM1-nulti* genotip nezavisni prediktor povoljnije postoperativne prognoze kod pacijenata sa KBP, kada je ispitivana udruženi efekat različitih *GST* genotipova i ukupne smrtnosti u 3 različita korigovana modela. Dodatno, učestalost *GSTM1-nultog* genotipa je bila značajno veća među preživelim pacijentima sa KBP u poređenju sa preminulim. Dobijeni rezultati dr Ćorić su u potpunoj saglasnosti sa rezultatima studije *De Martino i sar.* koji su takođe pokazali da je *GSTM1-nulti* genotip udružen sa većom stopom preživljavanja kod pacijenata sa KBP (De Martino et al., 2010). Dodatno, ovi rezultati su u skladu sa smanjenom stopom smrtnosti koja je nađena kod nosilaca *GSTM1-nultog* genotipa obolelih od različitih karcinoma (Ambrosone et al., 2001; Board and Menon, 2013).

Podaci iz literature ukazuju da se u osnovi prognostičke uloge *GST* može nalaziti efekat *GSTM1* na jedan od najvažnijih signalnih puteva, koji obuhvataju protein ASK1 (engl. *apoptosis signal-*

regulating kinase 1), a koji aktivira dobro poznatu signalnu kaskadu uključenu u proces apoptoze izazvan ćelijskim stresom (Ichijo et al., 1997; Shiizaki et al., 2013; Tobiume et al., 2001). Rezultati *in vivo* i *in vitro* studija su pokazali da mišja GSTMu1-1 fizički intereaguje sa ASK1 i funkcioniše kao njegov negativni regulator. Rezultati doktorske disertacije dr Ćorić su po prvi put potvrdili postojanje protein:proteinske interakcije između GSTM1 i ASK1 u uzorcima tkiva pacijenata sa svetloćelijskim KBP. Takođe, rezultati ove disertacije su pokazali trend smanjenja ekspresije ASK1 i aktivne Caspaze-3 sa progresijom tumora. Iako nije nađena statistički značajna razlika u pogledu ekspresije ASK1 i aktivne Caspaze-3 između nosilaca različitih *GSTM1* genotipova, proteinski nivoi ovih molekula su bili niži u uzorcima nosilaca *GSTM1-aktivnog* genotipa, što govori u prilog mogućoj ulozi GSTM1 proteina kao još jednog negativnog regulatora ASK1-zavisne apoptoze posredovane caspaznom aktivnošću. Pored toga, uočena je značajna pozitivna korelacija između ekspresije GSTM1 i aktivirane Caspaze-3. Na osnovu svega navedenog, može se pretpostaviti da pacijenti sa KBP koji su nosiloci *GSTM1-nultog* genotipa imaju veću aktivnost ASK1 kinaze, sa posledično povećanim stepenom apoptoze u tumorskom tkivu. Sa druge strane, pacijenti sa *GSTM1-aktivnim* genotipom mogu imati povećan stepen proliferacije u tumorskom tkivu i samim tim lošije preživljavanje.

Postojanje još jedne protein:proteinske interakcije je potvrđeno u rezultatima doktorske disertacije dr Ćorić. Naime, monomerne forme GSTP1 proteina ulaze u protein:proteinske interakcije sa još jednom regulatornom protein-kinazom, JNK1/2, za koju je pokazano da ima značajnu ulogu u GSTP1-stresom-posredovanoj regulaciji ćelijske progresije kroz procese diferencijacije, proliferacije, ćelijskog utišavanja i apoptoze (Bartolini and Galli, 2016). GSTP1:JNK1 protein:proteinska interakcija je do sada uočena u tumorskim ćelijama pacijenata obolelih od leukemije, karcinoma jetre, karcinoma bešike i u neuroblastomu (Castro-Caldas et al., 2009; Pljesa-Ercegovac et al., 2010; Ricci et al., 2005; Turella et al., 2005). Takođe, rezultati doktorske disertacije dr Ćorić su potvrdili prisustvo GSTP1:JNK1/2 kompleksa u svim ispitivanim uzorcima tumorskog tkiva pacijenata sa KBP. Smatra se da je ova protein:proteinska interakcija od izuzetne važnosti, jer predstavlja novu funkcionalnu kariku između povećane ekspresije GSTP1 i malignog fenotipa. Naime, povećana ekspresija GSTP1 je nađena ne samo u tumorskim, već i u ćelijama rezistentnim na predloženu terapiju i u korelaciji je sa tumorskim stadijumom i gradusom (Simic et al., 2009; Townsend and Tew, 2003). U doktorskoj disertaciji dr Ćorić je pokazano da su nivoi GSTP1 proteina bili viši u uzorcima tumorskog tkiva napredijeg gradusa, dok se ekspresija JNK1/2 razlikovala između tumora niskog i visokog gradusa. Inače, do sada su rezultati samo jedne studije pokazali da je

GSTP1 varijanti *Val* alel bolji inhibitor JNK1, zbog čega se smatra da ostvaruje veći antiapoptotski efekat u odnosu na dominantni *Ile* alel (Thévenin et al., 2011).

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije:

1. **Coric VM**, Simic TP, Pekmezovic TD, Basta-Jovanovic GM, Savic Radojevic AR, Radojevic-Skodric SM, et al. Combined GSTM1-Null, GSTT1-Active, GSTA1 Low-Activity and GSTP1-Variant Genotype Is Associated with Increased Risk of Clear Cell Renal Cell Carcinoma. **PloS One**. 2016;11(8):e0160570.
2. **Ćorić V**, Plješa-Ercegovac M, Matić M, Krivić B, Šuvakov S, Tulić C, et al. The Role of GSTM1 and GSTT1 Polymorphism in Patients with Renal Cell Carcinoma. **J Med Biochem**. 2010; 29(3):204-2010. DOI: 10.2478/v10011-010-0025-8.
3. **Ćorić V**, Plješa-Ercegovac M, Džamić Z. The role of glutathione transferases in renal cell carcinoma. **Medical Youth**. 2016. DOI: 10.5937/mp67-12553

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija "ASSOCIATION OF GLUTATHIONE TRANSFERASE A1, M1, P1 AND T1 GENE POLYMORPHISMS WITH THE RISK OF RENAL CELL CARCINOMA DEVELOPMENT AND PROGRESSION" kandidata dr Vesne Ćorić, predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju uloge klinički najznačajnijih *GST* polimorfizama u proceni rizika za nastanak KBP, kao i njihove uloge u proceni postoperativne prognoze pacijenata sa KBP. Rezultati prikazani u ovoj doktorskoj disertaciji mogu poslužiti boljem razumevanju mehanizama koji se nalaze u osnovi progresije KBP, kao i rezistenciji na terapiju, i samim tim biti korisni za dalja istraživanja u ovoj oblasti.

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 Vesne Ćorić i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

Beograd, 26. decembar 2016. godine

Članovi komisije:

Prof. dr Tatjana Simić

Mentor:

Prof. dr Marija Plješa Ercegovac

Prof. dr Tatjana Pekmezović

Komentor:

Prof. dr Zoran Džamić

Prof. dr Manuela Schmidinger
