

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

Na sednici **Nastavno-naučnog veća** Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 18.03.2024. godine, broj 19/XXII-3/3-MK, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**„ZNAČAJ GENETSKE ANALIZE U DEFINISANJU ETIOLOGIJE BOLESTI KOD
PACIJENATA SA FOKALNOM EPILEPSIJOM“**

kandidata dr Maše Kovačević, zaposlene u Klinici za neurologiju, Univerzitetskog kliničkog centra Srbije. Mentori su prof. dr Nikola Vojvodić i prof. dr Ivana Novaković.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. prof. dr Dragoslav Sokić, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, predsednik komisije
2. doc. Dr Aleksandar Ristić, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, član komisije
3. prof. dr Ksenija Gebauer-Bukurov, Medicinski fakultet Univerziteta u Novom Sadu, član komisije

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 Maše Kovačević napisana je na ukupno 254 strane i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, materijali i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 47 tabela, i 88 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 fokalna epilepsija prema novoj klasifikaciji epilepsija Međunarodne lige za borbu protiv epilepsije iz 2017. godine i detaljno su objašnjeni njeni epidemiološki aspekti uključujući incidenciju, prevalenciju, prirodni tok, mortalitet, kao i opterećenje bolešću.

Naveden je detaljan pregled istorijske evolucije etiološke paradigme epilepsije kao i značaja modernih dijagnostičkih modaliteta – magnetne rezonance mozga i sekvenciranje nove generacije u definisanju strukturne i genetske etiologije fokalne epilepsije.

Opisani su mehanizmi epileptogeneze genetski uslovljenih epilepsija. Posebno su istaknute genetski determinisana disfunkcija jonskih kanala i mTOR signalnog puta, kao modela različitih molekularnih mehanizama epileptogeneze u genetski determinisanim fokalnim epilepsijama.

Dat je pregled retkih monogenetskih sindroma fokalne epilepsije. Detaljno je opisana epidemiologija, mehanizam patogeneze, klinička slika i prognoza samoograničenih neonatalnih i infantilnih fokalnih epilepsija, autozomno dominantne hipermotorne epilepsije u spavanju, familijarne fokalne epilepsije sa varijabilnim fokusima, autozomno dominantne epilepsije sa varijabilnim fokusima, autozomno dominantne epilepsije sa auditornim fenomenima, familijarne mezeitemporalne epilepsije, kao i autozomno dominantne epilepsije rolandičke epilepsije sa dispraksijom govora.

Potom je data sveobuhvatna analiza modernog koncepta genetičkih determinantni u etiopatogenezi fokalne epilepsije. Detaljno su prikazana dosadašnja opažanja o naslednosti fokalne epilepsije iz genetskih epidemioloških studija. Potom je prikazan spektar genskih varijanti povezanih sa fokalnom epilepsijom. Shodno tome, definisane su i dve etiološke kategorije fokalnih epilepsija primerene savremenoj etiološkoj paradigmi u kojoj ključnu ulogu imaju genetske determinante – stečene i nestečene fokalne epilepsije. Izložene su neposredne kliničke implikacija razumevanja genetike epilepsija, čime je apostrofirana važnost istraživanja u ovom polju.

Ciljevi rada su precizno definisani i obuhvatali su utvrđivanje učestalosti stečene i nestečene fokalne epilepsije u grupi pacijenata ispitivanih u centru za epilepsije zdravstvene ustanove tercijernog nivoa, utvrđivanje učestalosti porodične anamneze na epilepsiju i srodne poremećaje među pacijentima sa nestečenom i stečenom fokalnom epilepsijom, utvrđivanje kliničkih i radioloških karakteristika bolesnika sa nestečenom i stečenom fokalnom

epilepsijom, utvrđivanje kliničkih i radioloških karakteristike bolesnika sa nestečenom fokalnom epilepsijom i to sa i bez pozitivne porodične anamneze, utvrđivanje učestalost ultra-retnih varijanti u najčešćim genima povezanim sa nastankom fokalne epilepsije (*DEPDC5*, *NPRL2*, *NPRL3*, *SCN1A*, *LGII*, *GRIN2A* i *PCDH19*), u ispitivanoj grupi pacijenata sa nestečenom fokalnom epilepsijom, kao i utvrđivanje kliničkih, radioloških i elektroencefalografskih karakteristika nosilaca varijanti u selektovanim genima.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o retrospektivnoj studiji preseka sa ugnježdenom molekularno-genetičkom studijom koja je sprovedena u Klinici za neurologiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbija. Detaljno je opisan postupak akvizicije podataka, a kriterijumi za uključivanje i isključivanje pacijenata iz primarne analize, kao i ugnježdene molekularno genetske studije su precizno definisani i vizuelno prikazani algoritmom za selekciju pacijenata. Opisana je prethodno sprovedena dijagnostička obrada pacijenata. Sprovedena je reklasifikacija kliničkih dijagnoza u cilju usklađivanja kategorija pacijenata sa aktuelnom klasifikacijom epilepsija Međunarodne lige za borbu protiv epilepsija iz 2017. godine, kao i reevaluacija postavljenih lobarnih i strukturnih etioloških dijagnoza od strane dva nezavisna ispitivača. Detaljno je navedena procedura sprovođenja molekularno-genetičkog sekvenciranja, kao i informatičke obrade dobijenih rezultata i klasifikacija finalnih rezultata koja je sprovedena prema aktuelnim preporukama Američkog koledža za medicinsku genetiku i genomiku i Udruženja za molekularnu patologiju. Opisane su primenjene metode statističke analize. Studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Svi pacijenti su dali pisani pristanak pre uključjenja u studiju.

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 726 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, utvrđeno je da podudaranje teksta iznosi 2%. Ovaj stepen podudarnosti posledica je citata, bibliografskih podataka o korišćenoj literaturi, kao i prethodno publikovanih rezultata doktorandovih istraživanja, koji su proistekli iz njegove disertacije, 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

Među pacijentima ispitivanim u Centru za epilepsije tokom analiziranog jedanaestogodišnjeg perioda identifikovano je 965 pacijenata sa dijagnozom fokalne epilepsije od kojih je približno tri četvrtine imalo nestečenu fokalnu epilepsiju. Oboleli od nestečene fokalne epilepsije su imali duže trajanje bolesti, češće su imali epilepsiju temporalnog reznja i pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju, febrilne napada i jedan spontani epileptički napad u odnosu na pacijente sa stečenom fokalnom epilepsijom. Pacijenti sa nelezionom fokalnom epilepsijom kao i oni sa hipokampalnom sklerozom su značajno češće imali pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju i srodne poremećaje u odnosu na obolele od stečene fokalne epilepsije. Nije nađena statistički značajna razlika u distribuciji lobarnih dijagnoza kod pacijenata sa pozitivnom i negativnom porodičnom anamnezom na epilepsiju i srodne poremećaje. Celokupna grupa pacijenata sa nestečenom fokalnom epilepsijom je imala značajno raniji početak bolesti u odnosu na pacijente sa stečenom fokalnom epilepsijom (13 vs. 18 godina, $p < 0,001$). U celokupnoj grupi obolelih od nestečene fokalne epilepsije, kao i u grupi pacijenata sa nelezionom epilepsijom i epilepsijom kongenitalne ili perinatalne etiologije su pacijenti sa pozitivnom porodičnom anamnezom imali značajno raniji početak bolesti. Šta više, početak bolesti kod pacijenata sa nestečenom fokalnom epilepsijom i pozitivnom porodičnom anamnezom je bio najkasnije do 39. godine života, dok je kod pacijenata sa stečenom fokalnom epilepsijom bio do 44. godine. U grupi pacijenata sa negativnom porodičnom anamnezom, pacijenti sa nestečenom fokalnom epilepsijom, nelezionom fokalnom epilepsijom, ili stečenom fokalnom epilepsijom su oboljevali do 79. godine, dok su pacijenti sa hipokampalnom sklerozom oboleli do 74, a oboleli od epilepsijom kongenitalne ili perinatalne etiologije do 64. godine.

Sekvenciranjem sedam selektovanih gena registrovano je osam varijanti od interesa kod ukupno 10 (10,4%) pacijenata od kojih su sedam nove i nisu prethodno registrovane u ClinVar ili GnomAD. Pet varijanti je klasifikovano kao verovatno patogeno, dve kao varijante nepoznatog značaja i jedna kao verovatno benigna varijanta. Ukupni dijagnostički prinos ovako

dizajniranog panela je iznosio 7,3%, dok je sekvenciranje gena definisanih u Epi4K studiji imalo dijagnostički prinos od 6,2%, a sekvenciranje gena GATOR1 kompleksa 3,1%. Pacijenti koji su bili nosioci varijanti se nisu značajno razlikovali po starosti, polu, starosti na početku i trajanju bolesti, broju isprobanih antiepileptičkih lekova, učestalosti febrilnih napada, povreda glave, pojavi napada sa evolucijom u bilateralne toničko-kloničke napade, klastera napada ili epileptičkog statusa u odnosu na pacijente koji nisu bili nosioci varijanti. Nosioci su značajno češće imali ETL u odnosu na one koji nisu bili nosioci i kada su analizirani svi geni, i kada su analizirani samo geni Epi4K grupe ili GATOR1 kompleksa, ali nisu nađene druge statistički značajne kliničke niti radiološke razlike. Dve nove verovatno patogene varijante su definisane u *DEPDC5* genu kod dve (2,2%) pacijentkinje od kojih je jedna alelska sa ranije opisanom frameshift varijantom i označava moguću mutacionu vruću tačku koja zahteva dalje ispitivanje. Jedna nova verovatno patogena frameshift varijanta je definisana u *NPRL2* genu kod jedne (1,1%) pacijentkinje sa uspešno operativno lečenom epilepsijom temporalnog režnja udruženom sa hipokampalnom sklerozom, što predstavlja prvi opisan slučaj varijante u *NPRL2* genu povezane sa hipokampalnom sklerozom. Jedna nova verovatno patogena frameshift varijanta je definisana u *SCN1A* genu kod dva (2,2%) pacijenta koji nisu u srodstvu koja sugeriše postojanje moguće mutacione vruće tačke ili *founder efekta* u našoj populaciji, što zahteva dalje ispitivanje. Jedna nova verovatno patogena frameshift varijanta je definisana u *PCDH19* genu u mozaičnoj formi kod dva (2,2%) muška pacijenta koja sugeriše postojanje moguće mutacione vruće tačke koja zahteva dalje ispitivanje. Dve nove varijantne nepoznatog značaj su registrovane kod dva (2,2%) pacijenta, jedna u *NPRL3* i druga u *GRIN2A* genu, koje zahtevaju dalje ispitivanje. Jedna prethodno opisana verovatno benigna varijanta je registrovana u *GRIN2A* genu kod jednog (1,1%) pacijenta. Nije registrovana nijedna VOI u *LGII* genu.

D) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

U studiju je uključeno 965 konsektivnih pacijenata sa fokalnom epilepsijom koji su bili ujednačene polne distribucije, a prosečna starost pacijenata pri ispitivanju je bila 32 (5-84) godine, što je slično rezultatima iz prethodnih studija (Dobesberger et al., 2011). Kod preko polovine obolelih je bolest počela do uzrasta od 14 godina, što odgovara rezultatima iz hirurških centara u kojima su vrlo malo zastupljeni pacijenti sa početkom bolesti u kasnijoj životnoj dobi (Mohan et al., 1996). Pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju i epileptičke napade je imalo 160 (16,6%) pacijenata, od kojih je 136 (14,1%) imalo pozitivnu porodičnu anamnezu na

epilepsiju. Najveći broj pacijenata je imao jednog obolelog srodnika, među kojima je kod oko 1/3 to bio srodnik I stepena srodstva. Dvadeset osmoro je imalo dva obolela srodnika, dok je daleko manje obolelih imalo troje ili više obolelih srodnika. Većina drugih studija je ograničila definiciju familijarne epilepsije na postojanje obolelih prvostepenih srodnika i one su našle zastupljenost ovih pacijenata od 5,6% u opštoj populaciji pacijenata sa fokalnom epilepsijom (Peljto et al., 2014), do 12,0% u populaciji pacijenata sa nestečenom fokalnom epilepsijom (Ottman et al., 1997). Jedna studija koja je u analizu uključila srodnike do II stepena srodstva u koju su bili uključeni i srodnici sa jednim spontanim neprovociranim napadom, febrilnim napadima, ali i akutnim simptomatskim napadima, je našla pozitivnu anamnezu na epilepsiju i srodna oboljenja kod čak 20% obolelih (Jain et al., 2004), te rezultati ove disertacije ulaze u opseg onih zabeleženih u prethodnim studijama.

Najčešća lezija u ispitivanoj grupi pacijenata je bila HS, registrovana kod 213 (22,1%) pacijenata koja je ujedno je ujedno i najčešće hirurški lečena epileptogena lezija i shodno tome je tipično najzastupljeniji nalaz magnetne rezonance mozga u centrima koji su primarno orijentisani prema hirurškom lečenju epilepsije. U njima se njena zastupljenost kreće između jedne (Blumcke et al., 2017) i dve trećine pacijenata (de Tisi et al., 2011). Rezultati ovog istraživanja su vrlo slični onim iz serije Nguyen i sar. koji su analizirali 843 pacijenta u adultnom tercijarnom epileptološkom centru u Montrealu u koju su, sem pacijenata koji su razmatrani kao hirurški kandidati bili uključeni i brojni pacijenti upućeni sa drugim indikacijama i među kojima je 17% imalo HS (Nguyen et al., 2013).

Interesantno je da je u ispitivanoj grupi pacijenata nađena slična zastupljenost fokalne kortikalne displazije (kod 107, 11,1% pacijenata), glioze (kod 103, 10,7% pacijenata) i tumora (87, 9,0% pacijenata). U analizama koje su uključivale pacijente sa prvim napadom (King et al., 1998) ili novodijagnostikovanom epilepsijom kod odraslih pacijenata (Hakami et al., 2013), tumori su bili daleko češći od hipokampalne skleroze. Nasuprot tome, u studiji Wieshmann i sar. u kojoj je MR mozga visoke rezolucije rađena isključivo u sklopu prehirurške evaluacije, tumori su činili svega 5%, dok je HS detektovana kod 26% kohorte (Wieshmann, 2003). Fokalna kortikalna displazija i druge kortikalne malformacije su u ovom istraživanju bile visoko zastupljene, ako uzmemo u obzir to da se radi o dominantno adultnoj populaciji pacijenata, što verovatno odražava činjenicu da se u našoj zemlji mali broj dece upućuje na hirurško lečenje epilepsije, kada se u drugim zemljama pacijenti sa epilepsijom udruženom sa kortikalnim malformacijama tipično operišu (Vasilica et al., 2023).

U ispitivanoj grupi pacijenata 253 (26,2%) pacijenata je obolelo od SFE (Slika 47) , što se u visokom stepenu podudara sa epidemiološkim podacima iz Ročesterskog registra (Hauser et al., 1991). Međutim, shodno premisi da je NSFEE zavisna predominantno od urođenih, genetskih faktora, dok je stečena epilepsija uzročno posledično vezana za stečenu noksu, poput traume ili moždanog udara, početak bolesti je bio očekivano raniji (13 vs. 18 godina, $p < 0,001$), pa je samim tim je i bolest duže trajala (17 vs. 12 godina, $p < 0,001$) kod obolelih od NSFEE. Slično ovim rezultatima, epidemiološki podaci iz Ročesterskog registra pokazuju da preko 80% obolelih od epilepsije pre 35. godine boluje od NSFEE ili epilepsije povezane sa kongenitalnim ili perinatalnim uzrokom (Hauser et al., 1993).

Rezultati su pokazali da je učestalost prisustva epilepsije i srodnih poremećaja među srođnicima obolelih bila značajno veća među obolelima od nestečene fokalne epilepsije (19,1% vs. 9,2%, $p = 0,003$), slično rezultatima Studije o familijarnoj epilepsiji Univerziteta Kolumbija (Ottman et al., 1996b). Familijarna pojava epilepsije i srodnih poremećaja u istraživanju je bila najveća kod NLFE, što je saglasno sa rezultatima skorašnje studije pacijenata sa novodijagnostikovanom epilepsijom iz Projekta humane epilepsije sa upotrebom MR mozga od 3 T (Bank et al., 2022) kao i rezultatima ranijih studija (Jain et al., 2004), uključujući onih sprovedenih u pedijatrijskoj populaciji (Callenbach et al., 2003).

Početak epilepsije u ispitivanoj grupi pacijenata je bio kasniji u odnosu na opštu populaciju bolesnika sa epilepsijom u svim etiološkim grupama i odgovarao je onom tipičnom za adultne epileptološke centre (Bautista et al., 2003; French et al., 1993; Gasparini et al., 2013). Pacijenti sa NSFEE u svim grupama su imali raniji početak bolesti u odnosu na pacijente sa SFE, ali u grupi obolelih sa NLFE ova razlika nije dostigla statističku značajnost, verovatno zbog relativno retkog početka NLFE tokom prvih pet godina života tokom kojih je procenat obolelih od NLFE i SFE bio približno isti (12,2% vs. 12,4%). Ovi rezultati su poredivi sa krivama uzrasno zavisne incidencije novodijagnostikovane epilepsije koji su pokazani u Ročesterskom registru (Hauser et al., 1993).

Molekularno-genetička analiza je bila ograničena na set gena, a finalnu grupu pacijenata je činilo 76 (79,2%) pacijenata sa nelezionom fokalnom epilepsijom, 16 (16,7%) pacijenata sa hipokampalnom sklerozom i 4 (4,2%) pacijenta sa fokalnom kortikalnom displazijom. Od njih, 65 (67,7%) je imalo pozitivnu porodičnu anamnezu od kojih je kod 22 (22%) pacijenta najbliži oboleli srođnik bio I, kod 23 (24,0%) II, a kod 20 (20,8%) bio III stepena srodstva. Dvadeset pet pacijenata (26,0%) je imalo više obolelih srođnika. Prethodne studije su u pogledu kliničkih

i radioloških karakteristika ispitanika uključile slične grupe bolesnika (Hildebrand et al., 2016; J. Li et al., 2022; McKnight et al., 2022; Tsai et al., 2018).

Dijagnostički prinos u ovom istraživanju je iznosio 7,3%. Slično rezultatima studije, velika meta analiza je pokazala da je prosečan prinos testiranja genskim panelima u FE iznosio 7%, kao i da je prinos rastao sa brojem uključenih gena (Sheidley et al., 2022). Studija McKnight i sar, do sada najveća analiza upotrebe genskog sekvenciranja kod adultnih pacijenata je pokazala ukupni dijagnostički prinos 10,9% (McKnight et al., 2022), dok je studija u Kanadi je imala dijagnostički prinos 4,3% (J. Li et al., 2022). U studiju Tsai i sar. je bio uključen značajno manji broj obolelih sa pozitivnom porodičnom anamnezom, čime autori objašnjavaju relativno mali prinos koji je iznosio 1,26% kod obolelih od FE bez IO (Tsai et al., 2018). U studiji Perucca i sar. koja je uključila isključivo pacijente sa pozitivnom porodičnom anamnezom kod srodnika do II stepena srodstva, dijagnostički prinos analize sekvenciranja 64 gena je bio čak 12,5% (Perucca et al., 2017b). U jednoj novijoj studiji je pri analizi svega 15 gena pokazana dijagnostički prinos od 8% (Krenn et al., 2020). Ova studija je imala veliki broj sličnosti sa istraživanjem u ovoj disertaciji u pogledu pre svega selekcije pacijenata, a posledično i dobijenim rezultatima.

U istraživanju su detektovane dve nove frameshift varijante u GATOR1 genima koje kao rezultat daju prevremeni terminacioni kodon. Nijedna nije prethodno zabeležena u populacionoj bazi GnomAD ili ClinVar registru klinički relevantnih varijanti. U najvećoj seriji od 73 pacijenta sa varijantama u GATOR1 (Baldassari et al., 2019) je pokazano da su ovako definisane varijante sa veliki stepenom sigurnosti povezane sa bolešću. Jedna varijanta detektovana u istraživanju je bila splice-site varijanta lokalizovana u 18. intronu *DEPDC5*, ona nije nađena u populacionoj bazi GnomAD ili ClinVar registru i imala je SpliceAI skor od 1, što označava visoku verovatnoću njenog poremećaja splajsinga uzrokovanog ovom varijantom. Kako je za in silico predikciju funkcionalnog ishoda u ovoj studiji korišćen savremeni algoritam baziran na mašinskom učenju (Jaganathan et al., 2019), zadovoljeni su kriterijumi za verovatnu patogenost Baldassari i sar. kao i ACMG-AMP (PSV1, PM2) u okviru kojih se kanonične splajsogene varijante ne odvajaju od drugih null varijanti poput frameshift ili nonsense varijanti (Richards et al., 2015).

U studiji je detektovana jedna frameshift varijanta u *SCN1A* genu sa prevremenim terminacionim kodonom, koja nije prethodno opisana u literaturi niti registrovana u ClinVar ili GnomAD. Veći broj patogenih i verovatno patogenih varijanti je detektovana u ovom regionu

u kojem nema registrovanih benignih frameshift varijanti u ClinVar-u. Jedna novija studija od kojih je polovina imala blažu kliničku sliku je pak pokazala predilekciju za nastanak ovih varijanti u D-linker domenima (Chen et al., 2022), kao što je bio u slučaju u istraživanju u ovoj disertaciji.

U istraživanju je registrovana jedna frameshift PCDH19 varijanta sa prevremenim terminacionim kodonom. S obzirom na to da se radi o prethodno neregistrovanoj null varijanti, ona je klasifikovana kao verovatno patogena. Varijanta je nađena kod dva pacijenta koji su obojica muškog pola sa frakcijom varijantnog alela 0,2 kod pacijenta 9 i 0,13 kod pacijenta 10. S obzirom na to da se radi o genu lociranom na X hromozomu, ovakav nalaz je visokosugestivan za postojanje somatskog mozaicizma nastalog rano tokom embrionalnog razvoja. Varijante u *PCDH19* genu se češće registruju kod žena, dok je zastupljenost muškaraca u kohortama nosioca ovih varijanti je nađena u rasponu od 4,5% do 10% i tipično su nađene u mozaičkoj formi (Kolc et al., 2019; Niazi et al., 2019; Shibata et al., 2021), te su rezultati dobijeni istraživanjem u ovoj disertaciji usklađeni sa literaturnim podacima.

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Kovačević Maša, Sokić Dragoslav, Ristić Aleksandar, Berisavac Ivana, Ercegovac Marko, Milićević Ognjen, Vojvodić Nikola. **Familial occurrence of seizure disorders across MRI defined structural focal epilepsy etiology.** J Clin Neurosci. 2024 Mar 19;123:15-22. doi:10.1016/j.jocn.2024.03.010. Epub ahead of print. (M23 IF: 2.0, 2022)

Kovačević Maša, Milićević Ognjen, Branković Marija, Janković Milena, Novaković Ivana, Sokić Dragoslav, Ristić Aleksandar, Shamsani Jannah, Vojvodić Nikola. **Novel variants in established epilepsy genes in focal epilepsy.** Seizure. 2023 Aug;110:146-152. doi:10.1016/j.seizure.2023.06.005. Epub 2023 Jun 7. (M22 IF: 3.0, 2022)

Kovačević Maša, Janković Milena, Branković Marija, Milićević Ognjen, Novaković Ivana, Sokić Dragoslav, Ristić Aleksandar, Shamsani Jannah, Vojvodić Nikola. **Novel GATOR1 variants in focal epilepsy.** Epilepsy Behav. 2023 Apr;141:109139. doi: 10.1016/j.yebeh.2023.109139. Epub 2023 Feb 26. (M23 IF 2.6, 2022)

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija pod naslovom „Značaj genetske analize u definisanju etiologije bolesti kod pacijenata sa fokalnom epilepsijom“ dr Maše Kovačević kao prva studija genetske osnove

fokalnih epilepsija u našoj zemlji, koja je prema broju uključenih pacijenata, njihovoj strukturi, dometu dijagnostičke obrade kao i primenjenim metodama molekularne genetike merljiva sa studijama iz drugih evropskih centara i predstavlja originalni naučni doprinos razumevanju etiologije fokalne epilepsije. Osim toga, ovo istraživanje je bilo fokusirano na definisanje distribucije strukturne etiologije fokalne epilepsije i obuhvatila je veliku i ekstenzivno fenotipski definisanu grupu bolesnika sa fokalnom epilepsijom jednog tercijernog epileptološkog centra. Novije studije ovakvog dizajna su retke i većina ih je fokusirana na specifične populacije, dok su starije studije limitirane dostupnim dijagnostičkim mogućnostima u trenutku njihovog izvođenja. Zbog toga ova studija daje savremen i precizan uvid u strukturu pacijenata epileptoloških centara i ilustruje učestalost etioloških kategorija sa kojima se uobičajeno srećemo u okviru kliničke prakse.

Sa sve većim prepoznavanjem doprinosa genetskih determinanti u nastanku bolesti raste i potreba za utvrđivanjem proporcije bolesnika kod kojih postoje radiološki i klinički pokazatelji genetske osnove. Ranije studije su jasno definisale pozitivnu porodičnu anamnezu, rani početak i odsustvo lezije na MR mozga kao signifikantne prediktor genetske osnove bolesti, ali nijedna od njih nije izučavala učestalost ovih pacijenata u kohortama epileptoloških centara, niti je uzimala u obzir nalaz MR mozga visoke rezolucije koja je postala dijagnostički standard u modernoj epileptologiji. Zbog toga ova studija daje dragocene informacije o zastupljenosti ovih pacijenata u svakodnevnoj praksi, kao i među pacijentima različitog radiološkog nalaza.

U cilju definisanja doprinosa savremene molekularno-genetičke dijagnostike razjašnjenju etiopatogenetskih procesa koji doprinose nastanku fokalne epilepsije analizirana je selektovana grupa pacijenata vrlo slična kohortama uključenih u prethodna istraživanja ovog tipa. Učinjenim sekvenciranjem je postignut visok dijagnostički prinos merljiv sa studijama koje su u analizu uključile daleko veći broj gena, čime je opravdan protokol korišćen pri selekciji pacijenata i još jednom potvrđeno da bolesnici sa fokalnom epilepsijom koji nemaju leziju, imaju pozitivnu porodičnu anamnezu na epilepsiju i srodna oboljenja i imaju početak boleti pre 35. godine života često imaju genetski determinisanu bolest. Istraživanjem je još jednom potvrđen veliki značaj varijanti u *DEPDC5*, *NPRL2*, *SCN1A* i *PCDH19* gena u nastanku fokalne farmakorezistentne epilepsije koja nije praćena značajnom intelektualnom onesposobljenošću čime je definisana potencijalna dijagnostička strategija za genetsko ispitivanje ove grupe bolesnika u uslovima ograničenih dijagnostički resursa. Studijom je definisano pet ranije neopisanih verovatno patogenih varijanti, kao i dve varijante nejasnog kliničkog značaja koje su odlični kandidati za dalje funkcionalne ili segregacione studije. Sem

toga, opisane su nove kliničko-genetske asocijacije koje predstavljaju dobru osnovu za dalje istraživanje u većim grupama pacijenata sa varijantama u specifičnim genima.

Ovim istraživanjem je dokazana opravdanost genetskog testiranja adultnih pacijenata sa sindromski čistom farmakorezistentnom fokalnom epilepsijom., koje obećava dalju perspektivu u uključivanju veće kohorte pacijenata kao i analizi većeg broja gena.

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 Maše Kovačević i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 23.03.2024.

Mentor:

Prof. dr Nikola Vojvodić

Komentor:

Prof. dr Ivana Novaković

Članovi Komisije:

Prof. dr Dragoslav Sokić

Doc. dr Aleksandar Ristić

Prof. dr Ksenija Gebauer-Bukurov
