

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 05.06.2024 godine, odlukom broj 19/XXVI-1/3-MA imenovana je Komisija za ocenu završne doktorske disertacije pod naslovom:

“MOLEKULARNO-GENETIČKA ANALIZA AKVAPORINA 4 I KORELACIJA SA KLINIČKIM KARAKTERISTIKAMA OBOLELIH OD NEUROMIJELITIS OPTIKA SPEKTRA BOLESTI”

kandidata dr Marka Andabaka, zaposlenog u Klinici za neurologiju i psihijatriju za decu i omladinu u Beogradu. Mentor ove teze je Prof. dr Jelena Drulović, a komentor Prof. dr Ivana Novaković.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Tatjana Pekmezović, redovni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Šarlota Mesaroš, vanredni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Borut Peterlin, redovni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Ljubljani, Republika Slovenija

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

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Marka Andabaka napisana je na 113 strana i obuhvata sledeća poglavlja: uvod, ciljevi, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. Disertacija uključuje ukupno 27 tabela i 4 grafikona. Doktorska disertacija je pisana na srpskom jeziku, sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji.

U **uvodu**, kao prvom poglavlju, učinjen je iscrpni istorijski osvrt na saznanja i tokove u medicini koji su bitno doprineli razumevanju koncepta neuromijelitis optika spektra bolesti (NMOSB), uključujući i savremenu definiciju ovog oboljenja, kao posebnog etimološkog i kliničkog entiteta u okviru imunski posredovanih bolesti centralnog nervnog sistema. Potom su izneti relevantni epidemiološki podaci koji su obuhvatili: prevalenciju i incidenciju NMOSB u svetu, kao i dostupne podatke za Republiku Srbiju. U odeljku o epidemiologiji NMOSB u ovoj doktorskoj disertaciji, navedeni su i podaci o demografskim karakteristikama osoba obolelih od ove bolesti,

kao i podaci o etiologiji i faktorima rizika za nastanak NMOSB. Takođe, u uvodu je detaljno prikazan značaj genetičkih činilaca za nastanak i razvoj kako sporadičnih, tako i familijarnih formi NMOSB. U okviru razmatranja genetičke osnove NMOSB obuhvaćena je struktura gena za akvaporin 4, zatim uloga kompleksa gena humanog leukocitnog antigena (HLA), kao i drugih gena van ovog imunogenetičkog lokusa. Takođe, posebno je istaknut značaj istraživanja nuklearnog i mitohondrijskog genoma u razumevanju nasledne osnove NMOSB. Poseban osvrt učinjen je na strukturu i funkciju proteina vodenih kanala – akvaporina 4 (AQP4) u centralnom nervnom sistemu, nakon čega su razmatrani patogenetski i patofiziološki mehanizmi nastanka NMOSB. U odeljku o imunopatogenezi ove bolesti istaknut je značaj serumskih antitela, odnosno imunoglobulina klase G (IgG) usmerenih prema AQP4 epitopima (IgG-AQP4), kao i značaj celularnih elemenata u imunski posredovanom oštećenju koje se sreće u patogenezi NMOSB. Posebno je razmatrana etiopatogeneza seronegativne forme NMOSB. Nakon toga, kratko su opisane tipične patološke i histopatološke karakteristike NMOSB. Dalje, u prvom poglavlju ove doktorske disertacije dat je jasan prikaz kliničkih karakteristika NMOSB uz uporedno opisivanje relevantnog nalaza na magnetnoj rezonanci (MR) mozga i kičmene moždine, nakon čega je posebno obrađen značaj laboratorijskih analiza i dat pregled relevantnih laboratorijskih nalaza u ovoj bolesti. Nakon toga, u odeljku posvećenom dijagnozi i diferencijalno dijagnostičkim razmatranjima navedeni su aktuelno važeći dijagnostički kriterijumi za NMOSB iz 2015 godine (Wingerchuk et al. 2015), kao i najvažnije diferencijalno dijagnostičke mogućnosti kakve su, u prvom redu, multipla skleroza (MS) i bolesti udružene sa antitelima prema mijelin oligodendrocitnom glikoproteinu (engl. *Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Antibody Associated Disease*, MOGAD). Nakon ovoga, u posebnom odeljku u uvodu ove doktorske disertacije iznet je pregled čestih autoimunskih komorbiditeta u odnosu na NMOSB. Poseban odeljak posvećen je lečenju NMOSB uključujući terapiju relapsa bolesti, kao i primenu lekova za prevenciju javljanja relapsa bolesti. Na kraju ovog poglavlja dat je osvrt na prognozu i ishod NMOSB, kao i na kvalitet života osoba obolelih od NMOSB.

Ciljevi istraživanja u okviru ove doktorske disertacije su jasno definisani:

1. Analiza gena *AQP4* kod obolelih od NMOSB i MS
2. Analiza čitavog egzoma obolelih od NMOSB
3. Korelacija genetičkih markera sa kliničkim karakteristikama osoba obolelih od NMOSB
4. Procena kvaliteta života i autonomnih poremećaja kod obolelih od NMOSB i MS.

U narednom poglavlju **materijal i metode** u okviru ove doktorske disertacije jasno i detaljno je predstavljena metodologija istraživanja. Dakle, eksperimentalni deo istraživanja obuhvatio je uzorke dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) ukupno 64 osobe sa NMOSB, zatim uzorke DNK 40 osoba sa MS, kao i 100 uzoraka DNK zdravih osoba (kontrolna grupa). Za sve navedene uzorke DNK učinjeno je sekvenciranje kodirajućih regiona gena *AQP4*, odnosno svih pet egzona metodom po Sangeru (Sanger et al. 1977). U ovom poglavlju su detaljno prikazani i svi metodološki postupci sekvenciranja, uključujući prethodnu obradu uzoraka DNK, kao i amplifikaciju regiona od interesa gena *AQP4* upotrebom lančane reakcije polimeraze (engl. *Polymerase Chain Reaction*, PCR), zatim sam process sekvenciranja, kao i očitavanje dobijenih podataka upotrebom softvera za analizu sekvenciranja v.4.10.1 (engl. *Sequencing Analysis v.4.10.1*; Proizvođač: *AppliedBiosystems*, SAD). Finalna analiza rezultata dobijenih poređenjem ispitivanih sekvenci sa referentnim sekvencama učinjena je pomoću Sequencher 4.10.1 Demo

softvera (Proizvođač: *Gene Codes Corporation*, SAD). Sekvenciranje gena AQP4 učinjeno je u Laboratoriji za molekularnu i genetičku dijagnostiku neuroloških bolesti Klinike za neurologiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbije. Za procenu razlike u frekvenciji varijanti u genu AQP4 među ispitivanim grupama (NMOSB i MS) korišćen je Hi kvadrat test, dok je za ispitivanje korelacije genetičkih markera i kliničkih varijabli pacijenata obolelih od NMOSB upotrebljen Spirmanov koeficijent korelacije. Takođe, za ovih 64 uzoraka DNK pacijenata obolelih od NMOSB učinjeno je sekvenciranje čitavog egzoma (engl. *Whole Exome Sequencing*, WES) koje je obavljeno na Institutu za genomsku medicinu Univerzitetskog kliničkog centra u Ljubljani (Republika Slovenija), u okviru interuniverzitetske saradnje. Analiziran je panel od ukupno 26 gena (sa 32 varijante) prethodno izdvojenih u studiji Tabansky i sar. 2022., koja je obuhvatila pacijente kavkaskog porekla, i za koje je pokazana određena asocijacija sa NMOSB. Od ukupnog seta odabranih gena, za njih 14 sprovedena je i analiza opterećenja (engl. *burden*).

Klinički deo istraživanja sproveden je po tipu studije preseka sa jasno istaknutim uključujućim i isključujućim kriterijuma za uključivanje ispitanika. Ovaj deo istraživanja obuhvatio je ukupno 80 pacijenata sa NMOSB, kao i 100 pacijenata sa MS kod kojih je ispitivan kvalitet života primenom odgovarajućeg validiranog upitnika MSQoL-54 (engl. *Multiple Sclerosis Quality of Life-54*). Za procenu depresivnosti kod ovih ispitanika korišćena je Bekova skala depresivnosti (engl. *Beck's Depression Inventory*, BDI), dok je za procenu disfunkcije autonomnog nervnog sistema upotrebljen validiran COMPASS-31 upitnik (engl. *Composite Autonomic Symptom Score-31*, COMPASS-31). U ovom delu istraživanja, između ostalog, posebno je ispitivan uticaj disautonomije na kvalitet života osoba obolelih od NMOSB i MS. Sve analize sprovedene su uz pomoć Statističkog paketa za socijalne nauke (engl. *Statistical Package for Social Sciences*, SPSS), verzija 17.0. Nivo statističke značajnosti iznosio je $p < 0.05$. Na kraju ovog poglavlja izneta je ocena etičnosti celokupnog istraživanja u okviru ove doktorske disertacije. Istaknuto je da su svi ispitanici uključeni u ovo istraživanje prethodno detaljno informisani usmenim i pismenim putem o nazivu, ciljevima i osnovnoj metodologiji ovog istraživanja, uključujući značaj, kontekst i sve relacije njihovog učešća u ovoj studiji, kao i da su pre započinjanja bilo kojeg procesa u ovom istraživanju svi ispitanici su prethodno dobrovoljno dali saglasnost za učešće u ovoj studiji. Istraživanje u okviru ove doktorske disertacije odobreno je od strane Etičkog odbora Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu odlukom broj 1322/XII-11 od 03.12.2020 godine.

U poglavlju **rezultati** jasno su predstavljeni svi dobijeni rezultati u eksperimentalnom i kliničkom delu istraživanja, koji su između ostalog, prikazani i pomoću ukupno 15 tabela i 4 grafikona.

Diskusija je napisana jasno i pregledno. Prvi deo diskusije odnosio se na eksperimentalno istraživanje gde je detaljnije opisan značaj dobijenih rezultata u kontekstu postavljenih ciljeva, zatim su izneti podaci iz relevantne literature u odnosu na analizirane podatke. Nakon toga, diskusija je nastavljena u okviru rezultata kliničkog dela istraživanja, kada je ukazano na njihov značaj uz prikaz podataka drugih relevantnih i dostupnih istraživanja. U ovom poglavlju doktorske disertacije detaljno je diskutovano o svim rezultatima analiziranih podataka dobijenih tokom ovog istraživanja, kao i njihov značaj, odnose i zaključke drugih relevantnih istraživanja iz dostupne literature.

Zaključci koji su proistekli iz rezultata ovog istraživanja su jasni i taksativno su navedeni u doktorskoj disertaciji. Izdvojeno je ukupno deset zaključaka.

Literatura sadrži listu od ukupno 480 referenci. Citiranje je obavljeno po Vankuverskom modelu.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Provera originalnosti doktorske disertacije kandidata dr Marka Andabaka izvršena je u skladu sa Pravilnikom o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu primenom programa *iThenticate* u Univerzitetskoj biblioteci Svetozar Marković u Beogradu. Tom prilikom dobijen je indeks sličnosti (*Similarity index*) od 9%. Jedini izvor sa kojim je ustanovljen pojedinačni indeks sličnosti od 2% odnosi se na deo naslova doktorske disertacije kandidata koji je napisan na engleskom jeziku (naslovna strana disertacije) sa delom naziva rada “*Clinical characteristics of 153 Brazilian patients with neuromyelitis optica spectrum disorder (NMOSD)*” (Fragoso YD et al. 2019). Ovo preklapanje se odnosi na uobičajene idiome, kao i na sam naziv bolesti na engleskom jeziku i radi se o slučajnom preklapanju. Svi preostali izvori imaju indeks sličnosti $\leq 1\%$ što je posledica citata, naziva pojedinih entiteta i tzv. opštih mesta i podataka, kao i prethodno publikovanih rezultata istraživanja kandidata dr Marka Andabaka, koji su proistekli iz njegove doktorske 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). Sve navedeno ukazuje na originalnost doktorske disertacije “Molekularno-genetička analiza akvaporina 4 i korelacija sa kliničkim karakteristikama obolelih od neuromijelitis optika spektra bolesti” kandidata dr Marka Andabaka te se propisani postupak dalje pripreme za odbranu ove doktorske teze može nastaviti.

C) Kratak opis postignutih rezultata

Eksperimentalni deo istraživanja obuhvatio je uzorke DNK ukupno 64 pacijenata obolelih od NMOSB, 40 uzoraka DNK obolelih od MS kao i 100 uzoraka DNK zdravih osoba kada je sekvenciranjem kodirajućih regiona gena *AQP4* izdvojeno ukupno 7 varijanti od značaja, dok je za istih 64 uzoraka DNK sprovedena i WES analiza. Od ukupno 7 varijanti u genu *AQP4* izdvojenih sekvenciranjem metodom po Sangeru tri varijante (rs35248760, rs778208236 i rs72557968) detektovane u drugom egzonu. Jedna varijanta (rs1839318) detektovana je u egzonu 3, dok je (c.613-10T>A) varijanta izdvojena u segmentu trećeg introna gena *AQP4*. Takođe, dve varijante (rs200498749 i rs2144949828) izdvojene su u egzonu 5. Od ukupno sedam detektovanih varijanti u genu *AQP4*, njih četiri okarakterisano je kao benigne varijante, dok su preostale 3 varijante okarakterisane kao varijante nejasnog značaja. Nije uočena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa (NMOSB, MS, kontrolna grupa) u odnosu na pomenute varijante detektovane u genu *AQP4*, odnosno zaključeno je da ne postoji povezanost dobijenih varijanti u kodirajućim regionima gena *AQP4* sa rizikom od pojave NMOSB, kao ni MS u ovom istraživanju. Kada je u pitanju korelacija ovih varijanti sa definisanim kliničkim karakteristikama obolelih od NMOSB pokazano je da varijanta rs35248760 u genu *AQP4* korelira sa mijelitisom u NMOSB (Spearman 0.299, $p = 0.016$). Sprovedenom WES analizom prethodno odabranog seta gena pacijenata u NMOSB kohorti, nisu izdvojene uzročne varijante, niti specifičan protektivni genotip za NMOSB, dok učinjenom analizom opterećenja (*burden* analiza) u odabranim genima takođe nije utvrđena njihova jasna povezanost sa NMOSB.

Klinički deo istraživanja obuhvatio je ukupno 180 ispitanika, odnosno 80 pacijenata sa NMOSB i 100 pacijenata sa MS, kada je primenom odgovarajućih upitnika (MSQoL-54, BDI) pokazano postojanje viših skorova u MHC domenu MSQoL-54 upitnika kod pacijenata sa NMOSB u odnosu na ispitanike sa MS, dok za domene upitnika BDI, nije postignuta statistički značajna razlika skorova između ove dve grupe ispitanika (NMOSB, MS). Primenom COMPASS-31

upitnika pokazano je da ortostatska intolerancija i poremećaji u domenu pupilomotorne funkcije bili značajno zastupljeniji u kohorti obolelih od MS u odnosu na pacijente sa NMOSB, kao i da je stepen disautonomije povezan sa nižim skorovima kvaliteta života kod obe grupe ispitanika, sa nešto snažnijom korelacijom u kohorti pacijenata sa MS. Takođe, utvrđena je inverzna korelacija između PHC i MHC skorova MSQoL-54 upitnika i totalnog COMPASS-31 skora kod pacijenata sa NMOSB (PHC = -0.420, $p < 0.001$; MHC = -0.484, $p < 0.001$), kao i statistički značajna inverzna korelacija između PHC i MHC skorova MSQoL-54 upitnika i totalnog COMPASS-31 skora kod pacijenata sa MS (PHC = -0.669, $p < 0.001$; MHC = -0.605, $p < 0.001$).

D) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

U najvećem broju slučajeva NMOSB se javlja sporadično, dok su familijarne forme bolesti retke i opisane su kod oko 3% obolelih (Matiello M, et al. 2010). S obzirom na značaj AQP4-IgG u patogenezi NMOSB, Crane i sar. su ispitivali, između ostalog, i uticaj tačkastih mutacija odnosno jednonukleotidnih *missense* varijanti u genu *AQP4* (posebno arginin 19 polimorfizama) na eventualnu produkciju AQP4-IgG, ili mogućeg uticaja na supramolekularnu strukturu proteina AQP4 kada nije uočen značaj ovih varijanti, kako u formiranju specifičnih supramolekularnih AQP4 struktura, tako i sposobnosti vezivanja AQP4-IgG za specifične epitope AQP4 antigena (Crane JM, et al. 2011). U istraživanju u okviru ove doktorske disertacije takođe nije uočena statistički značajna povezanost dobijenih varijanti u genu *AQP4* sa pojavom NMOSB. Sa druge strane, u studiji koja je obuhvatila značajan broj pacijenata sa NMOSB kavkaskog porekla, kao i 1363 zdravih ispitanika (kontrolna grupa), izdvojeno je ukupno 8 jednonukleotidnih varijanti u genu *AQP4* od kojih je 22695167:TA varijanta bila statistički značajno povezana sa NMOSB fenotipom ($p = 0.026$) (Matiello M, et al. 2009). Takođe, u kavkaskoj populaciji pacijenata sa NMOSB, analizom gena *AQP4* izdvojene su varijante čiji značaj u NMOSB nije mogao biti jasno definisan usled malog broja ispitanika, iako su mutacije u egzonu 2 gena *AQP4* (Gln122Gln), kao i u egzonima 3 i 4 detektovane samo kod AQP4-IgG seropozitivnih pacijenata obolelih od NMOSB (García-Miranda P et al. 2019). U studiji u okviru izrade ove doktorske disertacije, takođe je u drugom egzonu gena *AQP4* detektovana pomenuta varijanta rs72557968 (Gln122Gln) kod jednog pacijenta u kohorti obolelih od NMOSB, ali i kod jednog pacijenta sa MS, kao i kod dva subjekta u kontrolnoj grupi čime suštinski nije potvrđen značaj ove varijante za nastanak i razvoj NMOSB. Kada su u pitanju polimorfizmi gena *AQP4* i MS analize polimorfizama gena *AQP4* pokazano je da izdvojene varijante u ovom genu nisu povezane sa razvojem MS (García-Miranda P et al. 2019). Ovakav nalaz je u saglasnosti i sa rezultatima istraživanja u okviru izrade ove doktorske disertacije, kojim je obuhvaćeno ukupno 40 pacijenata sa MS i kod kojih nisu detektovane rizične varijante za pojavu bolesti, što je i očekivano s obzirom na činjenicu da su NMOSB i MS prepoznate kao posebni etiopatogenetski i klinički entiteti (Thompson AJ et al. 2017; Wingerchuk DM et al. 2015). Takođe, u studiji u okviru izrade ove doktorske disertacije nije uočena statistički značajna povezanost dobijenih polimorfizama u genu *AQP4* prilikom poređenja kohorte obolelih od NMOSB, MS i grupe zdravih ispitanika što sugeriše da izdvojene varijante u ovom genu nisu povezane sa nastankom NMOSB, kao ni MS, dok sa druge strane nije izdvojeno postojanje eventualnog protektivnog genotipa u ispitivanim kohortama. Do danas je objavljen mali broj rezultata studija koje su se direktno bavile korelacijom određenih polimorfizama gena *AQP4* kao genetičkih markera sa kliničkim i parakliničkim karakteristikama osoba sa NMOSB. Pa je tako, na primer, u studiji kineskih autora iz 2015 godine pokazano da su polimorfizmi rs1058424 i rs3763043 u 3'-UTR gena *AQP4* bili statistički značajno povezani sa razvojem transverznog mijelitisa kod osoba obolelih od NMOSB, dok su tri varijante u ovom genu (rs1058424, rs335929 u 3'-UTR, kao i rs151244 u regionu promotora) bile udružene sa optičkim neuritisom (Qiu W et al. 2015).

Treba istaći da u studiji u okviru izrade ove doktorske disertacije nije detektovana ni jedna od navedenih varijanti gena *AQP4* kod obolelih osoba sa NMOSB koju su izdvojili Qiu i sar. mada treba imati na umu postojeće razlike (etnička pripadnost), u odnosu na grupu ispitanika u istraživanju u okviru ove doktorske disertacije u kojoj je izdvojena samo jedna varijanta rs35248760 koja je bila povezana sa postojanjem mijelitisa (Spearman 0.299, $p = 0.016$), dok ostale kliničke i parakliničke karakteristike nisu bile statistički značajno asocirane sa varijantama od interesa u genu *AQP4* kod osoba obolelih od NMOSB. Takođe, u istraživanju u okviru ove doktorske disertacije sekvenciranjem nije bio obuhvaćen region promotora kao ni UTR na 5' i 3' kraju DNK lanca u genu *AQP4*. Kada je u pitanju WES analiza, ona je u studiji u okviru izrade ove doktorske disertacije izvedena na prethodno odabranom setu gena koji su bili okarakterisani kao značajni za razvoj NMOSB u istraživanju Tabansky i sar. iz 2022 godine kako bi se izvršila potvrda odnosno replikacija dobijenih rezultata na većem broju ispitanika sa NMOSB u odnosu na rezultate studije koju su sprovedli Tabansky i sar. i koja je, između ostalog, uključila i pacijente bele rase kao i osobe obolele od NMOSB poreklom iz Republike Srbije (Tabansky I et al. 2022). Od ukupno 32 analizirane varijante u setu odabranih gena prema rezultatima studije Tabansky i sar. 2022 potvrđeno je, odnosno replikovano ukupno 12 varijanti u studiji u okviru izrade ove doktorske disertacije u kohorti od 64 pacijenata sa NMOSB. Prema podacima iz dostupne literature, ove replikovane varijante nisu bile povezane sa nastankom NMOSB. Sa druge strane, sprovedenom analizom opterećenja (burden analiza) kojom je obuhvaćen set od 14 gena prethodno izdvojenih u studiji Tabansky i sar. u našoj kohorti pacijenata izdvojen je gen za glukoronidazu beta (*GUSB*), koji je prema podacima iz dostupne literature povezan sa nastankom mukopolisaharidoze tip VII (Grant CL et al. 2024; Tomatsu S et al. 2009), odnosno nedostaju podaci koji bi ukazali na njegovu povezanost sa nastankom NMOSB.

Kada je u pitanju procena kvaliteta života kod osoba obolelih od NMOSB i MS kao i uticaja disfunkcije autonomnog nervnog sistema na kvalitet života ovih osoba u studiji u okviru izrade ove doktorske disertacije pokazano je da postoji statistički značajna povezanost domena u okviru kompozita mentalnog zdravlja kod pacijenata sa NMOSB, u odnosu na ispitanike obolele od MS što sugeriše bolji ukupni kvalitet života obolelih od NMOSB u odnosu na osobe sa MS. Sa druge strane, skor u domenu zadovoljstva seksualnim funkcionisanjem bio je statistički značajno niži kod pacijenata obolelih od NMOSB u odnosu na ispitanike sa MS ($p=0.035$). Kada je u pitanju kompozit fizičkog zdravlja u okviru MSQoL-54 upitnika, nije pokazana statistički značajna razlika između ove dve grupe ispitanika (NMOSB i MS), kako u totalnom odnosno ukupnom skor, tako ni u okviru pojedinačnih domena. Do danas, suštinski nema mnogo objavljenih studija koje su ispitivale odnos kvaliteta života povezanog sa zdravljem između osoba obolelih od NMOSB i pacijenata sa MS, upotrebom MSQoL-54 upitnika. Procena uticaja NMOSB na kvalitet života obolelih osoba u azijskoj populaciji upotrebom MSQoL-54 upitnika pokazala da uticaj bolesti na radni status, poremećaj vizualnog sistema, bol i poremećaj funkcije mokraćne bešike i creva ima snažnu negativnu korelaciju sa kvalitetom života osoba obolelih od NMOSB, ali i da postoji određen stepen negativnog uticaja na ukupno fizičko, emocionalno i mentalno zdravlje ovih osoba (Huang W et al. 2020). Sa druge strane, studija francuskih autora iz 2011 godine ispitivala je nemotorne fenomene vezane za NMOSB, kao što su zamor i poremećaji raspoloženja kod 40 pacijenata na kvalitet života koji je procenjivan upotrebom modifikovanog MSQoL-54 upitnika sa dodatnih 5 stavki, čiji su rezultati upoređeni sa podacima o kvalitetu života MS pacijenata dobijenim u studiji Gerbaud i sar. (Gerbaud L et al. 2006; Chanson JB et al. 2011), kada je pokazano je da nema statistički značajne razlike u domenima upitnika za procenu kvaliteta života, osim u skorovima domena kognitivnog funkcionisanja osoba sa NMOSB, koje je bilo bolje u odnosu na osobe sa MS (Chanson JB et al. 2011), što je većim delom u saglasnosti sa rezultatima dobijenim istraživanjem u ovoj doktorskoj disertaciji, korišćenjem osnovnog MSQoL-54 upitnika kod pacijenata sa NMOSB. Važno je istaći da je u istraživanju u okviru izrade ove doktorske disertacije pokazano da je skor autonomnih funkcija meren COMPASS-31 skalom koji je bio > 0.0 , detektovan kod 100% osoba obolelih od NMOSB, kao i kod 97% osoba sa MS. Medijana domena

ortostatske intolerancije, kao i ukupna proporcija pacijenata zahvaćenih ortostatskom intolerancijom bila je viša u kohorti obolelih od MS u odnosu na pacijente sa NMOSB. Rezultati studije italijanskih autora koja je ispitivala stepen disautonomije kod obolelih od MS u odnosu na zdrave osobe primenom COMPASS-31 upitnika ukazali su na to da su simptomi disautonomije vrlo česti kod osoba obolelih od MS, i to u gotovo svim ispitivanim domenima, uključujući i ortostatsku intoleranciju (Foschi M, et al. 2021). Takođe, u studiji u okviru ove doktorske disertacije medijana domena vezanog za pupilomotornu aktivnost bila je jasno viša kod osoba sa MS u odnosu na kohortu ispitanika obolelih od NMOSB ($p=0.005$). Sa druge strane, proporcija pacijenata zahvaćenih pupilomotornom disfunkcijom bila je veća kod osoba sa NMOSB u našoj prethodnoj studiji, koja je obuhvatila znatno manji broj ispitanika (20 osoba sa NMOSB i 20 osoba sa MS) (Crnošija L et al. 2020). Takođe, istraživanje u okviru izrade ove doktorske disertacije ukazalo je na to da niža opterećenost simptomima disfunkcije ANS (posebno ortostatske intolerancije), zatim, niži EDSS i BDI skor predstavljaju nezavisne prediktore boljeg kvaliteta života procenjivanog MSQoL-54 upitnikom, kako u kohorti osoba sa NMOSB, tako i u kohorti osoba sa MS što je u saglasnosti sa rezultatima studije Yang i sar. objavljene 2023 godine, u kojoj je pokazano da je skor COMPASS-31 skale povezan sa svim domenima kvaliteta života osoba sa NMOSB, primenom generičkog upitnika SF-36 (engl. *36-Item Short Form Survey*) za procenu kvaliteta života (Yang L et al. 2023).

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. **Andabaka M**, Pekmezovic T, Crnosija L, Veselinovic N, Junakovic A, Tamas O, et al. Impact of the autonomic dysfunction on the quality of life in people with NMOSD and MS: An international cross-sectional study. *Mult Scler Relat Disord.* 2023 Nov;79:104953. DOI: 10.1016/j.msard.2023.104953

2. **Andabaka M**, Drulović J, Novaković I. Značaj molekularnih biomarkera u dijagnostici neuromijelitis optika spektra bolesti. *MedPodml.* DOI: 10.5937/mp76-48309.

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija pod nazivom “Molekularno-genetička analiza akvaporina 4 i korelacija sa kliničkim karakteristikama obolelih od neuromijelitis optika spektra bolesti” kandidata dr Marka Andabaka predstavlja jedinstveni integrativni pristup analizi genetičke osnove retke imunski posredovane bolesti centralnog nervnog sistema kakva je NMOSB, kao i procene uticaja disautonomije na kvalitet života obolelih osoba u odnosu na pacijente sa MS. U okviru ovog istraživanja, između ostalog, detektovana je i izdvojena varijanta gena za akvaporin 4 kao potencijalni genetički marker koji bi se mogao da dovede u vezu sa pojavom mijelitisa, kao jedne od dominantnih kliničkih karakteristika NMOSB. Poseban značaj ovog rada ogleda se i u činjenici da je do sada, prema dostupnoj literaturi, objavljen izuzetno mali broj istraživanja koja su obuhvatila značajan kontigent uzoraka DNK pacijenata bele rase sa NMOSB, u okviru čega je vršena korelacija polimorfizama gena za akvaporin 4 sa kliničkim karakteristikama obolelih od NMOSB. Sa druge strane, rezultati ove studije još jednom su istakli kompleksnost nasledne osnove NMOSB, i ukazali na veliki značaj daljih ispitivanja u ovoj oblasti neurogenetike, kako bi se definisala kompleksna genetička arhitektura, a samim tim i svi aspekti nasleđivanja i interakcije genetičkih činilaca sa faktorima spoljašnje sredine, zatim aspekti etiopatogeneze, imunopatologije i patofiziologije, kliničkog ispoljavanja, odgovora na primenjenu terapiju, kao i eventualnog razvoja novih terapijskih pristupa. Takođe, kako je disautonomija prepoznata kao važna klinička

manifestacija NMOSB i MS sa brojnim somatskim, psihičkim i terapijskim implikacijama, istraživanje u okviru ove doktorske disertacije omogućilo je analizu uticaja disfunkcije autonomnog nervnog sistema na kvalitet života osoba obolelih od NMOSB i MS. Na taj način pruženi su značajni podaci o postojanju narušenosti kvaliteta života obolelih osoba zbog prisutnih autonomnih simptoma u NMOSB i MS, čime je omogućeno detaljnije sagledavanje ovih kliničkih karakteristika kod obe bolesti, a pre svega kod NMOSB kao retkog neurološkog entiteta. Takođe, od velikog značaja je i to što su ovim istraživanjem izdvojeni vrlo jasni prediktivni faktori lošijeg kvaliteta života kod NMOSB i MS, što uz prethodno iznete zaključke, pruža relevantne podatke u procesu sveukupnog sagledavanja ovih pacijenata.

Doktorska disertacija “Molekularno-genetička analiza akvaporina 4 i korelacija sa kliničkim karakteristikama obolelih od neuromijelitis optika spektra bolesti” kandidata dr Marka Andabaka odlikuje se vrlo sistematičnim i sadržajnim uvodom, jasno definisanim ciljevima istraživanja, kao i primerenom, pažljivo dizajniranom metodologijom koja je predstavljena jasno za svaki segment istraživanja, odnosno za eksperimentalni i klinički pristup istraživačkog procesa u odnosu na postavljene ciljeve. Rezultati su u celosti prikazani jasno i pregledno, najvećim delom pomoću odgovarajućih tabela i grafikona. Dobijeni rezultati su detaljno diskutovani shodno dostupnoj relevantnoj literaturi na ovom polju istraživanja. Na osnovu celokupnog sagledavanja procesa analize, zatim dobijenih rezultata, kao i sadržaja diskusije izvedeni su vrlo konkretni, jasni i brojni zaključci ove doktorske disertacije.

Na osnovu svega gore navedenog, imajući u vidu originalnost ove doktorske disertacije i dosadašnji naučni rad kandidata, Komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju pod nazivom “Molekularno-genetička analiza akvaporina 4 i korelacija sa kliničkim karakteristikama obolelih od neuromijelitis optika spektra bolesti” kandidata dr Marka Andabaka i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 17.06.2024.

Članovi Komisije:

Prof. dr Tatjana Pekmezović

Prof. dr Šarlota Mesaroš

Prof. dr Borut Peterlin

Mentor:

Prof. dr Jelena Drulović

Komentor:

Prof. dr Ivana Novaković
