

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

Na sednici **Nastavno-naučnog veća** Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 30.06.2023. godine, broj 14/XV-3/3-CIII, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„ Ispitivanje povezanosti promena u mitohondrijskom genomu sa fenotipskim karakteristikama pacijenata sa Leberovom hereditarnom optičkom neuropatijom “

kandidata dr Sanje Petrović Pajić, zaposlene na Klinici za očne bolesti Univerzitetskog Kliničkog Centra Srbije u Beogradu. Mentor je Prof. dr Ivanka Marković, a komentor prof. dr Marko Hawlina.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Dragan Vuković, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Sonja Misirlić-Denčić, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Doc. dr Tanja Kalezić, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
4. Doc. dr Jelena Vasiljević, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
5. Prof. dr Borut Peterlin, profesor Medicinskog fakulteta u Ljubljani

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 Sanje Petrović Pajić napisana je na ukupno 155 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 13 tabela, 32 slike i 43 grafikona. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, spisak publikovanih radova, podatke o komisiji i priloge.

U **uvodu** je definisano šta su to mitohondrije, sa detaljno objašnjenom funkcijom sistema oksidativne fosforilacije i prenosa elektrona, kao i mitohondrijskih bolesti sa posebnim osvrtom na Leberovu hereditarnu optičku neuropatiju (LHON). Na adekvatan način su u potpunosti opisane genetske i fenotipske karakteristike pacijenata sa Leberovom hereditarnom optičkom neuropatijom, kao i najčešće diferencijalno dijagnostičke dileme.

Takođe je prikazan detaljan osvrt na proces dijagnostikovanja pacijenata sa fenotipom LHON-om i predstavljene do sada poznate terapijske metode.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se od utvrđivanja zastupljenosti poznatih i novootkrivenih promena u mtDNK u populaciji pacijenata sa kliničkom slikom LHON-a. Takođe, cilj rada je bio i da se ispita tok bolesti, kliničke i elektrofiziološke karakteristike kod već dijagnostikovanih slučajeva LHON-a i da se uporede sa karakteristikama pacijenata sa atipičnim promenama u mtDNK in a kraju da se ispitaju strukturne promene u retini i endotelu rožnjače kod pacijenata sa LHON-om.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o studiji koja je sprovedena u Očnoj Bolnici, Univerzitetskog Medicinskog Centra Ljubljana, genetske analize su urađene na Kliničkom institutu za genomsku medicinu, Medicinskog fakulteta Univerziteta u Ljubljani, dok je testiranje mitohondrijske funkcije obavljeno na Institutu za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu i na Klinici za endokrinologiju, Univerzitetskog Kliničkog Centra Srbije. Detaljno je opisan način odabira pacijenata, kriterijumi za uključenje u studiju, kao i kriterijumi za isključenje iz studije. Takođe je detaljno objašnjena metodologija svih urađenih genetskih testova kao i kliničkog ispitivanja sprovedenog na pacijentima uključenima u studiju. Za potrebe ove studije svi prethodno dijagnostikovani slučajevi LHONa u populaciji Slovenije su retestirani i nanovo klinički ispitani. Takođe je objašnjena i detaljna metodologija testiranja mitohondrijske funkcije na mononuklearnim ćelijama periferne krvi pacijenata kod kojih su identifikovane nove promene u mitohondrijskoj DNK. Ova studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Komisije Republike Slovenije za medicinsku etiku, Ministarstva zdravlja, Republike Slovenije kao i od 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 242 reference.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Vrednost Similarity indexa dobijenog proverom originalnosti doktorske disertacije kandidata dr Sanje Petrović Pajić korišćenjem programa iThenticate je 4% 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). Najveći stepen preklapanja (181 reč, manje od 1%) bio je sa publikovanim rezultatima proisteklim iz doktorandovih istraživanja, dok je manji stepen preklapanja koji je posledica opštih mesta, kao što su materijal i metode, nazivi oboljenja, enzima i proteina, ličnih imena i bibliografskih podataka pronađen sa još 105 izvora. Za svaki izvor stepen poklapanja je bio manji od 1%.

C) Kratak opis postignutih rezultata

Genetsko testiranje sprovedeno u okviru ove teze obuhvatilo je 82 osobe sa fenotipskim karakteristikama LHON-a u akutnoj ili hroničnoj fazi bolesti i podrazumevalo je identifikaciju jedne od tri česte mutacije uz pomoć multiple ligand zavisne amplifikacije (MLPA), a u slučaju negativnog rezultata i sekvenciranje mitohondrijske DNK metodama sledeće generacije (NGS). Ukoliko ni tada nisu identifikovane promene, rađeno je sekvenciranje sledeće generacije (NGS) celog egzoma, a u nekoliko primera i genoma. Kod 15 pacijenata potvrđeno je postojanje jedne od tri najčešće LHON mutacije, kod 1 pacijenta je utvrđena ranije publikovana retka mutacija, dok su dva pacijenta bila nosioci mutacije u DNAJC30 genu i kod njih je potvrđen autozomno recesivni LHON. Ovi pacijenti su pokazali slične karakteristike kao i mtLHON, ali sa relativno boljom funkcijom kompleksa I na mitohondrijskim testovima i boljom dugoročnom prognozom i zasebno su publicirani.

Istraživanje u okviru ove teze okarakterisalo je tri velike LHON porodice (dve porodice sa tipičnim mutacijama 11778G>A i jedna sa m.3460G>A) sa ukupno 31 slabovidim (potencijalno obolelim) članom, a 10 članova je uključeno u rezultate ove disertacije. Kod 6 pacijenata pronađeno je 5 novih promena u mitohondrijskoj DNK koje su okarakterisane kao mogući uzročnici LHON fenotipa (VUS). Jedna od novoidentifikovanih promena je i m.13042G>T (A236S) u ND5 genu identifikovana kod 6 članova jedne obitelji, 3 obolela LHON pacijenta i 3 nebolela nosioca mutacije. Fenotipske karakteristike ovih pacijenata koje su identične kao promene kod pacijenata sa tipičnim LHON mutacijama, prikazane u okviru ove teze su bile objavljene u zasebnim publikacijama. U cilju utvrđivanja patogenosti novootkrivenih promena u mtDNK izvršeno je testiranje mitohondrijske funkcije u mononuklearnim ćelijama periferne krvi (MNC^{CPK}). Ispitivanje je izvršeno kod pacijenata sa tipičnim mutacijama mtDNK, kao i

kod pacijanata sa novootkrivenim mutacijama, u poređenju sa MNČPK zdravih kontrola odgovarajućeg pola i starosti. Kapacitet oksidativne fosforilacije na nivou kompleksa I u MNČPK pacijenata sa LHON je bio značajno niža u odnosu na uzorke uzete od zdravih ispitanika, uz porast u produkciji superoksidnog anjona, kao i depolarizaciju unutrašnje membrane mitohondrija u uslovima oksidativnog stresa. Mononuklearne ćelije periferne krvi (MNČPK) pacijenata sa novootkrivenim promenama u mtDNK su pokazale odgovarajuće karakteristike kao i MNČPK pacijenata sa tipičnim LHON mutacijama što ukazuje na patogenost novoidentifikovanih promena i omogućuje klasifikaciju ovih varijanti nepoznatog značaja (VUS) kao verovatno patogenih.

Kod 4 pacijenta pronađene su promene u nuklearnoj DNK koje su uzročnici optičke atrofije (Autozomno dominantna optička atrofija kod tri pacijenta i Volframov sindrom kod jednog pacijenta), dok su kod deset pacijenata pronađene promene u egzomu nepoznatog značaja, a u okviru jedne porodice je otkrivena i potencijalno patogena nova mutaciju c.722 C>T p.(Pro241Leu) na genu OAT koji do sada nije povezivana sa optičkom atrofijom. Kod sedam pacijenata pronađen je alternativni uzrok optičke atrofije, dok je kod 13 pacijentata došlo do promene fenotipskih karakteristika te su isključeni iz studije.

Kod 20 pacijenta sa bilateralnom optičkom atrofijom, unatoč svim ispitivanjima, još nisu pronađeni genetski uzroci LHON fenotipa. Kliničke karakteristike ovih pacijenata su upoređene sa karakteristikama genetski potvrđenih LHON pacijenata u cilju pronalaženja kliničkih biomarkera LHON-a i utvrđeno je da u centralnom djelu postoji bolja očuvanost slojeva unutrašnje retine (kompleks ganglijskih ćelija: GCC) kod LHON pacijenata što predstavlja potencijalni klinički biomarker LHON-a. Pošto kod izvesnog broja pacijenata dolazi i do oporavka vidne oštine, upravo ovo relativno očuvanje GCC u centru bi moglo da predstavlja lokalizaciju takozvanih uspavanih ganglijskih ćelija kod LHONa i strukturni temelj za poboljšanje vidne funkcije kod nekih pacijenata sa LHON što je u okviru ove teze i objavljeno.

Elektrofiziološko ispitivanje sprovedeno u okviru ove teze je pored već poznatog diagnostičkog značaja patern elektroretinograma i vidnih evociranih potencijala (PERG i VEP) koji pokazuju disfunkciju ganglijskih ćelija u procesu fenotipske karakterizacije pacijenata sa LHON pokazalo, da i specifični signali oscilatornih potencijala u ERG celog polja pokazuju disfunkciju neurona unutrašnjih slojeva retine u dijagnostici LHON u procesu diferencijalne dijagnoze. Skotopični OP2 i fotopični oscilatorni potencijali ERG-a celog polja na visokim frekvencijama

filtriranja su potencijalni novi retinalni biomarker LHON-a, kao što je prikazano u rezultatima ove teze.

Kod 15 potvrđenih LHON pacijenata analizirane su ćelije endotela rožnjače uz pomoć spekularne mikroskopije i pokazano je da postoji statistički značajno odstupanje od broja endotelnih ćelija koje su normative za datu starosnu kategoriju što govori o mitohondrijskoj disfunkciji i na nivou ćelija endotela.

U okviru ove teze posebno su analizirane i prikazane i dve zasebne grupe genetski potvrđenih LHON pacijenata: pacijenti sa spontanom poboljšanjem vidne oštine i pacijenti sa monokularnim lošim vidom od detinjstva (potencijalna ambliopija). Spontano poboljšanje vidne oštine je povezano sa debljim slojem GCC u centralnom području retine i debljim donjim temporalnim segmentom peripapilarnog sloja nervnih vlakana. Poboljšanje amplitude i latence VEP P100 talasa, amplitude N95 talasa i PERG N95/P50 odnosa su glavne funkcionalne karakteristike spontanog poboljšanja vidne oštine, a poboljšanje amplitude oscilatornih potencijala sugerira postojanje remodelovanja u unutrašnjoj retini.

Rezultati ove teze takođe ukazuju da kada postoji unilateralan slab vid, naročito ukoliko postoji optička atrofija na tom oku, ne treba isključiti mogućnost LHON-a u ranom detinjstvu kao uzroka slabog vida i zahvatanje drugog oka decenijama kasnije.

D) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Proces dijagnostikovanja LHON pacijenata je složen i zahteva multidisciplinarni pristup. U kliničkom okruženju određivanje tipa genetske optičke neuropatije samo na osnovu kliničkog fenotipa nije dovoljno, pa genetsko testiranje predstavlja izuzetno značajan resurs u postavljanju specifične dijagnoze. U slučaju novih ili još nepoznatih mutacija takvi pacijenti predstavljaju zahtevan dijagnostički problem.

Genetsko istraživanje u okviru ove teze identifikovalo je patogenu varijantu u mitohondrijskoj DNK kod 16 pacijenata (15 nosilaca tipične mutacije i jednog pacijenta sa atipičnom ranije publikovanom retkom mutacijom) i 6 pacijenata sa do sada nepublikovanim promenama u mtDNK (retke mutacije). Ovo ukazuje na specifičnost u populaciji Slovenije gde je procenat retkih mutacija u populaciji LHON (Burgar i sar. 2022) pacijenata viši (15%) u poređenju sa podacima iz dostupne literature koje sugeriraju da su retke LHON mutacije uzročne u najviše 5-10% simptomatskih LHON slučajeva (Newman i sar. 2005). Heterogenost fenotipa kod retkih mutacija je velika. Na primer, retka mutacija m.13042G>T (A236S) u ND5 genu koja je

otkrivena u okviru ove disertacije slična je prethodno publikovanoj mutaciji koja na istom mestu u nukleotidu uvodi različitu promenu aminokiseline (A236T), ali je fenotip pacijenata bio potpuno različit (Valentino i sar 2006).

Takođe, u velikom broju slučajeva klinička slika može biti slična i, nakon isključivanja svih poznatih uzroka, može se pojaviti dilema da li se radi o atipičnoj mitohondrijalnoj patološkoj varijanti koja izaziva LHON, ili optičkoj neuropatiji uzrokovanoj još neotkrivenim genetskim poremećajem koji može ili ne mora da utiče na funkciju mitohondrija. Takav primer je nedavno opisana mutacija DNAJC30 (Stenton i sar. 2021). Nakon otkrića autozomno recesivnog LHONa još dva pacijenta iz ovog istraživanja su genetski objašnjena.

Kada se otkrije nova varijanta nejasnog značaja u mtDNK, potrebno je uraditi testiranje mitohondrijske funkcije na ćelijama pacijenta da bi se potvrdila njena patogenost. U okviru rezultata teze pokazano je da je respiratorna funkcija na nivou kompleksa I u MNČPK pacijenata sa LHON bila značajno niža u poređenju sa respiratornom funkcijom u MNČPK kontrola odgovarajućih po polu i starosti, što je u skladu sa istraživanjima (Peverelli i sar. 2021; Brown i sar. 2000; Hofhaus i sar. 1996; Cock i sar. 1995; Angebault i sar. 2011). Mononuklearne ćelije periferne krvi LHON pacijenata uključenih u ovu studiju imale su značajno višu produkciju superoksidnog anjona u odnosu na kontrolne uzorke. Takođe je pokazano da kod MNČPK pacijenata sa LHON dolazi do pada potencijala unutrašnje membrane mitohondrija, odnosno do depolarizacije, koje se uočava čak i u nativnim uslovima, ali je naročito izražen u uslovima oksidativnog stresa (delovanju prooksidansa H₂O₂). Prikazani rezultati su u skladu sa prethodnim istraživanjima (Invernizzi i sar. 2012; Falabela i sar. 2016). MNČPK sa novootkrivenim promenama u mtDNK su imale

približno jednake karakteristike kao i polimorfonukleari pacijenata sa tipičnim LHON mutacijama što ukazuje na patogenost ovih promena i omogućuje reklasifikaciju VUS u verovatno patogene.

I pored detaljnog genetskog ispitivanja sprovedenog u ovoj tezi kod 20 pacijenata nije pronađen genetski uzrok LHON fenotipa. Stoga je u ovoj studiji pokušano da se utvrdi da li kod optičkih neuropatija koje nastaju kao posledica mitohondrijalne disfunkcije poznatog genetskog uzroka mogu postojati neke suptilne razlike u fenotipskoj ekspresiji, u poređenju sa sličnim kliničkim slučajevima bez genetskih indikacija LHON, a u cilju identifikacije kliničkih biomarkera pomoću OCT-a i elektrofiziologije.

OCT segmentacionom analizom su u ovoj tezi poređene debljine svih slojeva retine prema ETDRS prstenovima i poljima u hroničnoj fazi kod LHON pacijenata i pacijenata sa primarnim optičkim neuropatija bez utvrđenog genetskog uzroka i utvrđeno je da u grupi genetski potvrđenih LHON pacijenata postoji različit obrazac istanjenja retine u odnosu na nepotvrđene LHON slučajeve koji je podrazumevao relativno bolju očuvanost kompleksa ganglijskih ćelija u centralnom ETDRS krugu, dok je istanjenje retine na periferiji (srednji i spoljašnji ETDRS prsten) kod LHON grupe bilo veće. Ovo sugerije da uticaj mitohondrijalne disfunkcije na apoptozu ganglijskih ćelija retine i degeneraciju aksona može imati drugačiji gradijent od centra ka periferiji.

Zadebljanje INL i OPL kod LHON-a koje je prikazano u disertaciji u skladu je sa rezultatioma Carbonellija i sar. 2015, Majander i sar. 2017 i Cesareo i sar. 2017, a smatra se kompenzatornim mehanizmom u kome ćelije zauzimaju prostor nastao kao posledica atrofije unutrašnjih slojeva retine (Cesareo i sar. 2017) ili je posledicom remodelacije, na koju sugeriju razlike u oscilatornim potencijalima kod LHON pacijenata.

OCT analiza peripapilarnog RNFL (pRNFL) u hroničnoj fazi bolesti je pokazala istanjenje u svim segmentima, ali sa relativnim očuvanjem nazalnog segmenta i značajnim istanjenjem gornjeg temporalnog kvadranta u grupi genetski potvrđenih LHON pacijenata kao što je pokazano u ranijim studijama (L. Wang i sar. 2018; Q. Wang i sar. 2020; Stenton i sar. 2021).

Poređenjem grupe genetski potvrđenih LHON pacijenata sa grupom pacijenata sa LHON fenotipom, a bez genetske potvrde pokazano je da postoji najveća razlika gornjem temporalnom polju gde je pRNFL bio značajno tanji u LHON grupi i u nazalnom kvadrantu gde je pRNFL bio deblji. Ovo je u skladu sa rezultatima Wang-a i sar. 2018. koji sugerije da i u hroničnoj fazi dolazi do istanjenja pRNFL upravo u gornjem kvadrantu i da je to posledica postepenog odumiranja tzv. uspavanih ćelija koje postoje kod LHON-a, a čiji aksoni se završavaju upravo u gornjim kvadrantima optičkog nerva.

Očuvanje nazalnog pRNFL u grupi LHON pacijenata je u skladu sa publikovanim rezultataima (Barboni i sar. 2010, kao i Asand i sar. 2019) i zajedno sa kontinuiranim istanjivanjem pRNFL-a u superiornom temporalnom polju može biti potencijalni biomarke hroničnog LHON-a.

Smatra se da osnovne elektrofiziološke karakteristike LHON pacijenata potiču od oštećenja retinalnih ganglijskih ćelija (Barboni i sar. 2010; Carelli i sar. 2017). U hroničnoj fazi bolesti svi genetski potvrđeni LHON pacijenti obuhvaćeni ovom studijom imali su redukovani PERG

N95 talas i abnormalan VEP P100 talas (sniženu amplitudu i produženu latencu) koji je čak bio nedetektabilan kod većine pacijenata bez poboljšanja vidne oštrine. Ovo je u skladu sa prethodno publikovanim studijama (Jarc-Vidmar i sar. 2015; Riordan-Eva i sar. 1995; Shibata i sar. 1999; Holder 1997; Mondelli i sar. 2009). Fotopični negativni odgovor (photopic negative response: PhNR) koji se pokazao kao efikasan u detekciji alteracija RGC kod LHON pacijenata (Botelho i sar. 2021; Karanjia i sar. 2017; A. Majander i sar. 2017) je bio značajno redukovano i kod LHON pacijenata prikazanih u ovoj tezi nevezano od oporavka vidne oštrine.

ERG celog polja kod LHON u postojećoj literaturi uglavnom je označavan kao normalan, mada je u nekim istraživanjima pokazano da fotopični b-talas može da bude blago izmenjen (Riordan-Eva i sar. 1995; Salomão i sar. 2004; Howell 1997). Ipak, skotopični (DA) i fotopični (LA) oscilatorni potencijali dobijeni iz ERG-a celog polja mogu dodatno da objasne vidnu disfunkciju prouzrokovanu bolestima unutrašnje retine kao što je pokazano u rezultatima ove teze. Razlike u skotopičnim OP između kontrola i LHON pacijenata su nađene za sumu skotopičnih oscilatornih potencijala, a fotopični OP su bili signifikantno redukovani u poređenju sa kontrolama kada su aplikovani filteri viših frekvencija (100 Hz). Poređenje pojedinačnih OP pokazalo je da su naročito OP2 poremećeni kod LHON pacijenata. Ovo bi moglo da bude posledica degenerativnih promena u sloju neurona unutrašnjeg sloja retine koji su u neposrednom kontaktu sa ganglijskim ćelijama kao što je to slučaj kod pacijenata sa autozomno/dominantnom optičkom atrofijom (Miyata i sar. 2007), ali se ne sme isključiti ni direktan uticaj disfunkcije retinalnih ganglijskih ćelija (Ogden 1973).

Smanjenje broja endotelne ćelije koje je primećeno kod pacijenata sa LHON-om u okviru ove teze sugerise na postojeću mitohondrijsku disfunkciju ne samo u ćelijama retine već i u endotelne ćelijama roznjače što je primećeno i kod nekih drugih genetskih oboljenja povezanih sa mitohondrijalnom patologijom kao što je Kerns-Syre sindrom (Finsterer i sar. 2016; Ortiz i sar. 2017; Dudakova i sar. 2021). Kod LHONa to još nije publicirano, pa je to prva studija, koja ukazuje na takvu disfunkciju endotelne ćelije.

Kao posebno zanimljiva karakteristika LHONa u toj disertaciji je obradjeno i spontano poboljšanje vidne oštrine posle više meseci ili godina. Kod 6 pacijenata iz prikazane kohorte primećen je oporavak vidne funkcije različitog stepena koji je karakterisalo poboljšanjem vidne oštrine, smanjenja centrocekalnog skotoma sa pojavom fenestracija i poboljšanjem kolornog vida. Takođe je došlo do poboljšanja elektrofizioloških karakteristika pacijenata koji se ogledalo u skraćenja latence i normalizaciju amplitude VEP P100 talasa. Ubrzanje provođenja

primećeno u ovoj studiji govori u prilog teorije da se rezolucijom edema optičkog nerva rešava i problem blokade kondukcije po aksonima ili teorije remijelinizacije prethodno delimično demijelinizovanih pošteđenih aksona (Carelli i sar. 2004; Carelli i sar. 2017). Vrednost amplitude PERG N95 talasa se povećala, ali je talas i dalje bio nepravilnog oblika u nivou izolacije, dok je odnos N95/P50 i dalje bio abnormalan, što ukazuje na disfunkciju ganglijskih ćelija (DiMauro i sar. 2013). Poređenjem grupe genetski potvrđenih LHON pacijenata sa i bez poboljšanja vidne oštine dobijena je značajna razlika u ishodnoj vrednosti N95/P50 odnosa što nam ukazuje na potencijalni elektrofiziološki biomarker oporavka. Interesantan rezultat ovog rada je i primećeno longitudinalno poboljšanje OP2 i OP3 kod pacijenata sa poboljšanjem vidne oštine što sugerise izvesni stepen remodelovanja retine. Elektrofiziološki znaci poboljšanja vidne oštine su u skladu sa ranijom studijom koja prijavljuje oporavak PERG i VEP (Holder 1997), dok druga istraživanja ne prijavljuju promenu ni VEP ni PERG (Hrynychak i sar. 1994), verovatno zbog jaćeg oštećenja GCC.

Stukturni oporavak u smislu zadebljanja istanjenih slojeva retine nije bio prisutan, što je u skladu sa dosadašnjim istraživanjima, mada je inicijalno propadanje retinalnih ganglijskih ćelija manje (Barboni i sar. 2010; Borrelli i sar. 2023).

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. **Petrovic Pajic S, Sustar Habjan M, Breclj J, Fakin A, Volk M, Maver A.** *Leber Hereditary Optic Neuropathy in a Family of Carriers of MT-ND5/13042G>T (A236S) Novel Variant. Journal of Neuro-Ophthalmology 2023;00:1–7. doi: 10.1097/WNO.0000000000001820. M21 IF 4.415*
2. **Petrovic Pajic S, Jarc-Vidmar M, Fakin A, Sustar Habjan M, Breclj J, Volk M, Maver A, Peterlin B, Hawlina M.** *Case report: Long-term follow-up of two patients with LHON caused by DNAJC30:c.152G>A pathogenic variant-case series. Front Neurol. 2022;28;13:1003046. M22 IF 4,086*
3. **Petrovic Pajic S, Lapajne L, Vratana B, Fakin A, Jarc-Vidmar M, Sustar Habjan M, Volk M, Maver A, Peterlin B, Hawlina M.** *The Relative Preservation of the Central Retinal Layers in Leber Hereditary Optic Neuropathy. J Clin Med. 2022;11(20):6045. M22 IF 4,964*
4. **Petrović Pajić S, Hawlina M, Marković I.** *Leber hereditary optic neuropathy genotype, phenotype, and biochemical characteristics. Medicinski podmladak. 2024;74:2 DOI 10.5937/mp75-44775*

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „ Ispitivanje povezanosti promena u mitohondrijskom genomu sa fenotipskim karakteristikama pacijenata sa Leberovom hereditarnom optičkom neuropatijom“ dr Sanje Petrović Pajić, predstavlja detaljnu genotipsku i fenotisku karakterizaciju pacijenata sa kliničkom slikom LHONa, a analizom su obuhvaćena svi dosad poznati pacijenti s LHON i drugim genetskim optičkim neuropatijama populacije Republike Slovenije. Pomoću elektrofiziologije, OCT-a i segmentacione analize traženi su klinički biomarkeri LHON-a, testovima mitohondrijske funkcije utvrđena je potencijalna patogenost novootkrivenih mutacija, što predstavlja primer dobre saradnje institucija Slovenije i Srbije. Ova disertacija predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju uticaja pre svega genetskih karakteristika na fenotip pacijenta, ali isto tako i u boljem razumevanju LHON-a kao bolesti i identifikacije potencijalnih biomarkera koji bi doveli do bržeg i lakšeg postavljanja dijagnoze. Specijalnim metodama filtriranja i izdvajanja oscilatornih potencijala ukazano je na značajnu ulogu ERG-a celog polja u fenotipskoj karakterizaciji LHON pacijenata, dok je metodom spekularne mikroskopije utvrđeno da kod LHON pacijenata postoji i smanjenje broja endotelinih ćelija kao odraz mitohondrijske disfunkcije. Ovo istraživanje je takođe pokazalo da se pad respiratorne funkcije na nivou kompleksa I može pratiti u MNČPK pacijenata, što navodi na mogućnost korišćenja ove analize kao dodatnog biomarkera u diferencijalnoj dijagnozi.

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 Sanje Petrović Pajić i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 10.07.2023.

Članovi Komisije:

Prof. dr Dragan Vuković

Prof. dr Sonja Misirlić-Denčić

Doc. dr Tanja Kalezić

Doc. dr Jelena Vasiljević

Prof. dr Borut Peterlin

Mentor 1:

Prof. dr Ivanka Marković

Mentor 2:

Prof. dr Marko Hawlina
