

Биолошки факултет  
Број захтева: 33/152-1  
Датум: 12.6.2015.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ  
ВЕЋУ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ПРИРОДНИХ НАУКА

## ЗАХТЕВ

### за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији за кандидата на докторским студијама

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 162/11-пречишћени текст, 167/12, 172/13 и 178/14), дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији:

КАНДИДАТ: **Милена З. Јанковић**

студент докторских студија на студијском програму Биологија, Генетика.

пријавио је докторску дисертацију под називом:

**„Студија генетичке основе Паркинсонове болести у популацији Србије“.**

из научне области: Биолошке науке.

Универзитет је дана 27.06.2013. године. својим актом под бр. 02 Број: 61206-3158/2-13 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила:

**„Студија генетичке основе Паркинсонове болести код становништва Србије“.**

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 13.03.2015. год, одлуком Факултета под бр. 33/34-13.03.2015. год. у саставу:

	Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
1.	др Владимир Костић	редовни професор	неурологија	Универзитет у Београду- Медицински факултет
2.	др Марија Гућ- Шћекић	редовни професор у пензији 01.10.2014	медицинска генетика	Универзитет у Београду- Биолошки факултет
3.	др Ивана Новаковић	редовни професор	хумана генетика	Универзитет у Београду- Медицински факултет
4.	др Драгана Цветковић	ванредни професор	генетика и еволуција	Универзитет у Београду- Биолошки факултет

**Напомена:** уколико је члан Комисије у пензији навести датум пензионисања.

**Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 12. јуна 2015. године.**

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

- Прилог:**
1. Реферат комисије са предлогом.
  2. Акт Наставно-научног већа факултета о усвајању реферата
  3. Примедбе дате у току стављања реферата на увид у јавности, уколико је таквих примедби било.
  4. Електронска верзија.



УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ  
БИОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Студентски трг 16  
11000 БЕОГРАД  
Република СРБИЈА  
Тел: +381 11 2186 635  
Факс: +381 11 2638 500  
Е-пошта: dekanat@bio.bg.ac.rs

33/152-12.6.2015.

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 59. став 1. тачка 1. Статута Универзитета у Београду-Биолошког факултета, Наставно-научно веће Факултета, на VIII редовној седници одржаној 12.6.2015. године, донело је

### О Д Л У К У

Прихвата се Извештај Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације кандидата:

**Милене Јанковић**, под називом:

**„Студија генетичке основе Паркинсонове болести код становништва Србије“.**

Универзитет је дана 27.06.2013. године. својим актом под бр. 02 Број: 61206-3158/2-13 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације кандидата.

**Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:**

**Б1. Радови у часописима међународног значаја:**

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **M22** Janković MZ, Kresojević ND, Dobričić VS, Marković VV, Petrović IN, Novaković IV, Kostić VS. Identification of novel variants in LRRK2 gene in patients with Parkinson's disease in Serbian population. J Neurol Sci. 2015. pii: S0022-510X(15)00199-9. doi: 10.1016/j.jns.2015.04.002. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25899316.

2. **M21** Kresojević N, Janković M, Petrović I, Kumar K, Dragašević N, Dobričić V, Novaković I, Svetel M, Klein C, Pekmezović T, Kostić V. Presenting symptoms of GBA-related Parkinson's disease. Parkinsonism Relat Disord. 2015. doi: 10.1016/j.parkreldis.2015.04.028 Publication stage: In Press Accepted Manuscript

3. **M21** Kresojević N, Mijajlović M, Perić S, Pavlović A, Svetel M, Janković M, Dobričić V, Novaković I, Lakočević MB, Klein C, Kostić VS. Transcranial sonography in patients with Parkinson's disease with glucocerebrosidase mutations. *Parkinsonism Relat Disord.* 2013;19(4):431-5. doi:10.1016/j.parkreldis.2012.12.006. Epub 2013 Jan 16. PubMed PMID: 23332636.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

Доставити:

- Универзитету у Београду,
- докторанту,
- Стручној служби Факултета.

## НАСТАВНО – НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На V редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 13.03.2015. године, прихваћен је извештај ментора академика проф. др Владимира Костића о урађеној докторској дисертацији **Милене З. Јанковић**, запослене у Неуролошкој клиници КЦС у Београду, под насловом: „**Студија генетичке основе Паркинсонове болести код становништва Србије**” и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: академик др Владимир Костић, редовни професор, Универзитет у Београду – Медицински факултет, др Марија Гућ-Шћекић, редовни професор у пензији, Универзитет у Београду – Биолошки факултет, др Ивана Новаковић, редовни професор, Универзитет у Београду – Медицински факултет и др Драгана Цветковић, ванредни професор, Универзитет у Београду – Биолошки факултет.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Наставно-научном већу подноси следећи

### ИЗВЕШТАЈ

#### ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација **Милене Јанковић** под насловом „**Студија генетичке основе Паркинсонове болести код становништва Србије**” написана је на 192 стране. Дисертацију чине седам поглавља: **Увод** (43 стране), **Циљ рада** (2 стране), **Болесници и методе** (33 стране), **Резултати** (34 стране), **Дискусија** (30 страна), **Закључци** (5 страна) и **Литература** (45 стране). Дисертација садржи 35 слика и 28 табела.

#### АНАЛИЗА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

У **Уводу** тј. уводном делу докторске дисертације изнет је општи приказ проблематике и најважнији литературни подаци релевантни за разумевање истраживања изнетог у тези. Најпре је дат историјски аспект Паркинсонове болести (ПБ), а потом клинички аспект, укључујући моторне и немоторне симптоме, и терапијски приступи у ПБ. Потом је детаљно приказана генетичка основа ПБ, што обухвата класификацију генетичких форми ПБ, као и увид у аутозомно – доминантне форме ПБ, аутозомно – рецесивне форме ПБ и аутозомно рецесивне форме атипичног паркинсонизма. Описани су генски локуси / гени одговорни за поједине типове генетички условљене ПБ, и то редом: PARK8 / LRRK2, PARK17 / VPS35, PARK1 (PARK4) / SNCA, PARK18 / EIF4G1, PARK2 / Parkin, PARK6 / PINK1 PARK7 / DJ-1. У посебном одељку су изнети генетички фактори ризика за ПБ, са нагласком на GBA ген. Гени који су били предмет експерименталног рада: PARK8 / LRRK2, PARK17 / VPS35, PARK2 / Parkin и GBA су нарочито исцрпно представљени, са увидом у позицију и структуру, мутације и експресију сваког од наведених гена. Након генетичке основе изнета су сазнања о патогенези ПБ, са

описом улоге убиквитин – протеазног система и лизозом – зависних путева разградње. На крају уводног дела приказане су нове стратегије у истраживању генетичке основе ПБ.

У поглављу **Циљ рада** су представљени сви главни циљеви обухваћени овом дисертацијом. Основни циљ је утврђивање дистрибуције и спектра мутација у генима PARK2, LRRK2, VPS и GBA код болесника са ПБ са територије Србије. Следећи постављени циљ је испитивање потенцијалне корелације између генотипа и фенотипа код болесника са утврђеним мутацијама, и на крају формулисање препорука за генетичко тестирање болесника са ПБ у Србији.

У оквиру поглавља **Болесници и методе** кандидаткиња је детаљно описала групу анализираних болесника, контролну групу, као и примењене технике молекуларно генетичког испитивања. Истраживање је обухватило 496 болесника са дијагнозом ПБ који се налазе у регистру Неуролошке клинике КЦС у Београду. Дијагноза је постављена на основу критеријума Британске банке мозга, а стадијума болести је процењиван на основу Hoehn и Yahr-ове скале. Контролну групу је чинило 510 испитаника, од тога 143 особе које су неуролошки здраве и старије од 50 година, потом 384 неуролошки здраве особе млађе животне доби, и на крају 19 испитаника који су рођаци болесника са Гошеовом болешћу (ГБ). Испитивање је одобрено одлуком Етичког одбора КЦС бр. 2953/1. Обимно молекуларно генетичко испитивање обухватило је низ метода, које су детаљно описане. Најпре су изнети протоколи изолације ДНК из узорака периферне крви и методологија квантификације ДНК спектрофотометријом. Реакција ланчане полимеризације (PCR) је била следећи корак у анализи, а поред методолошких основа дати су протоколи реакције, са секвенцама прајмера, помоћу којих су умножавани одабрани региони гена PARK2, LRRK2, VPS и GBA. За проверу резултата амплификације коришћена је стандардна електорфореза ДНК на агарозном гелу. Следствена метода секвенцирања по Сангеру, која је употребљена за детекцију супституција, малих делеција и инсерција у анализираним регионима, је такође детаљно описана са навођењем одговарајућих протокола. За *in silico* предикцију фенотипског ефекта нађених генетичких промена коришћени су специјализовани слободно доступни софтвери, и то шест различитих програма за промене у кодирајућим регионима и два програма за промене у егзон/интрон граничним регионима и процену њиховог утицаја на обраду РНК. За све програме наведене су интернет адресе одговарајућих сајтова. Велике делеције и дупликације у гену Parkin анализирани су MLPA методом уз примену комерцијалних китова; описани су принципи ове методе и функционисања употребљених есеја. У завршном делу одељка о методологији наведене су методе статистичке обраде добијених резултата, које обухватају дескриптивну и аналитичку статистику; комплетна статистичка анализа рађена је у статистичком пакету SPSS v17.0.

У поглављу **Резултати** кандидаткиња је систематски и јасно изнела резултате према постављеним циљевима; резултати су детаљно описани и табеларно и графички представљени. У првом делу су приказани резултати анализе гена PARK2/LRRK2. Код укупно 496 болесника вршена је анализа егзона 31, 35 и 41, као и егзон/интрон граница LRRK2 гена, методом директног секвенцирања. У анализу су укључени сви болесници са дијагнозом ПБ, без обзира на године почетка болести и породичну анамнезу. Просечне године почетка болести су биле

52,8 ( $\pm 11,1$ , опсег од 17 до 79 година). У породичној анамнези, чак 90 болесника је пријавило присуство симптома ПБ код неког од својих сродника. У подгрупи од 232 болесника анализа је проширена на егзоне 24, 25, 29, 38 и 40 *LRRK2* гена. Ову подгрупу су чинили болесници са почетком болести после 50. године и/или са позитивном породичном анамнезом за ПБ са потенцијалним аутозомно-доминантним начином наслеђивања; просечна старост на почетку болести је била 58,4 године ( $\pm 11,1$  година; опсег од 31 до 79 година). У кодирајућим регионима *LRRK2* гена детектоване су четири хетерозиготне супституције промењеног смисла: с.4111А>G (p.Ile1371Val), с.4522А>G (p.Ser1508Gly), с.5971А>G (p.Le1991Val) и с.6055G>А (p.Gly2019Ser) код 4 несродна болесника. Промене с.6055G>А и с.4111А>G су познате патогене мутације, док су с.4522А>G и с.5971А>G нове промене, према доступним подацима у литератури. *In silico* анализа је дефинисала ове промене као патогене у по 3 програма. Ниједна од нових детектованих промена кодирајуће секвенце није нађена код 286 контролних хромозома. Осим промена у кодирајућим регионима *LRRK2* гена, детектовано је и 5 промена у некодирајућим регионима гена: с.4536+3А>G, с.5510-9А>G, с.5656+35G>А, с.5948+34Т>С и с.5948+48С>Т. Промена с.4536+3А>G, која је детектована код 2 несродна болесника, као и код 3 контролна субјекта, је софтверском предикцијом окарактерисана као патогена. У погледу фенотипских карактеристика носилаца *LRRK2* мутација, није показана статистички значајна разлика у годинама почетка болести у односу на болеснике без детектованих мутација у *LRRK2* гену, а разлике нису утврђене ни у оквиру других анализираних клиничких карактеристика. Статистички значајна разлика је показана у односу полова, јер је утврђено да је заступљеност мушког пола значајно мања код носилаца мутација у односу на болеснике без мутација, ( $p=0,034$ ), што је потврђено и логистичком регресионом анализом (OR 0,122; CI 0,014-1,056).

У другом делу Резултата изнети су резултати анализе гена *PARK17/VPS35*. Група болесника која је тестирана на присуство мутације с.1858G>А (p.Asp620Asn) у петнаестом егзону *VPS35* гена је била идентична као и група тестирана на присуство мутација у *LRRK2* гену. Наведена мутација, као ни било која друга промена секвенце у егзону 15, није детектована ни код једног болесника.

Трећи део Резултата односи се на анализу *PARK2/Parkin* гена. У анализу *PARK2* гена је укупно укључено 225 болесника са ПБ, а инклузиони критеријум за тестирање су били почетак болести пре 50 године живота и/или позитивна породична анамнеза, која указује на потенцијално аутозомно-рецесивно наслеђивање болести. Распон година почетка болести је био од 17 до 78 година, док су просечне године почетка болести биле приближно 43,7 ( $\pm 11,2$ ). Код свих болесника вршено је секвенцирање свих 12 кодирајућих егзона овог гена као и егзон/интрон граница, а у циљу детекције великих дупликација и делеција кодирајућих региона *PARK2* гена, примењена је MLPA метода. У кодирајућим регионима *PARK2* гена детектовано је 13 различитих хетерозиготних промена: с.101\_102delAG, с.167Т>А, с.245С>А, с.398\_399insACC, с.469G>А, с.600G>А, с.583G>А, с.741С>Т, с.758G>А, с.823С>Т, с.1138G>С, с.1180G>А и с.1310С>Т. У некодирајућим регионима су детектоване следеће промене: с.171+25Т>С, с.413-20Т>С, с.934-22А>G и с.1285+34G>А. MLPA анализом, као хетерозиготне промене су детектоване, појединачно: делеција егзона 2, дупликација егзона 3, трипликација

егзона 3 и дупликација егзона 4, а као хомозиготне дупликација региона егзона 4 до 7, и дупликација региона егзона 5 до 7. Код једног болесника нађена је хомозиготна делеција егзона 2 и хетерозиготна делеција егзона 3. Сумарно, од укупно тестираних 225 болесника са ПБ, четири болесника су имала по 2 мутације у *Parkin* гену (1,78%). Код два болесника су обе мутације биле измене у броју копија кодирајућих региона гена, код једног болесника је једна мутација била измена броја копија кодирајућих региона, док је друга представљала промену у секвенци кодирајућег региона, и код једног болесника су обе мутације биле промене у секвенци кодирајућих региона. Такође, нађено је и 8 болесника (3,55%) који су имали само по једну мутацију, све већ описане у литератури. Од тога, код три болесника је била присутна хетерозиготна промена у броју копија појединачног егзона, док је пет болесника имало промене у секвенци кодирајућих региона. Два болесника су били носиоци промене које нису до сада описане у литератури и чија патогеност није потврђена софтверском предикцијом. Анализа варијансе је показала статистички значајан ранији почетак болести код носилаца две мутације у односу на носиоце једне мутације ( $p=0,001$ ), као и у односу на болеснике без мутација у *Parkin* гену ( $p=0,005$ ). Хетерозиготни носиоци мутација се нису разликовали у годинама почетка болести од болесника без мутација. Статистички значајне разлике нису утврђене код других анализираних клиничких и демографских карактеристика.

У четвртом делу Резултата изнети су резултати анализе GBA гена. На присуство мутација у одабраним егзонима GBA гена тестирано је 481 болесника са ПБ, укључујући и четири болесника оболела од Гошеове болести који су испољавали и симптоме ПБ. Применом методе директног секвенцирања вршена је анализа егзона 8, 9, 10 и 11, као и егзон/интрон граница. Код оболелих од ПБ, распон година почетка болести је био од 17 до 79 година, а просечне године почетка болести су биле 52,9 ( $\pm 11,7$ ). У циљу идентификације асимптоматских носилаца мутација у GBA гену, испитана је група од 15 сродника (најчешће родитељи) оболелих од Гошеове болести. Сумарно, у анализираним кодирајућим регионима GBA гена детектоване су следеће промене појединачног нуклеотида: R329H (c.1103G>A), T369M (c.1223C>T), N370S (c.1226A>G), D380V (c.1256A>T), P391L (c.1289C>T), N392S (c.1292A>G), D409H (c.1342G>C), L444P (c.1448T>C), R463C (c.1504C>T) и R463H (c.1505G>A). Такође, детектована су и три комплексна рекомбинантна алела: Rec $\Delta$ 5 (c.1263–1317del55), [D409H;H255Q] (c.1342G>C, c.882T>G) и RecNcil (L444P+A456P+V460V; c.1448T>C, c.1483G>C, c.1497G>C). Укупно је нађено 58 хетерозиготних промена код болесника са ПБ, 3 сложених хетерозиготних и 1 хомозиготна промена код болесника са ПБ и ГБ, 12 хетерозиготних промена код сродника болесника са ГБ и 17 хетерозиготних промена у групи контрола. Сумарно, описано је 37 болесника (7,7%) који били носиоци мутација у анализираним регионима GBA гена (33 хетерозиготних и 4 хомозиготних или сложених хетерозиготних). У ову групу нису урачунати носиоци познатих полиморфизама T369M и A456P, као ни носиоци синонимне промене V460V. Бол је једини симптом за који је, применом Фишеровог теста егзактне вероватноће, показана статистички значајно већа учесталост код пацијената са мутацијама у GBA гену ( $p=0,045$ ). Ови резултати су потврђени и логистичком регресионом анализом (OR 3,620; CI 1,132-11,583). Нису нађене статистички



значајне разлике у демографским одликама као ни у другим клиничким карактеристикама ПБ болесника са GBA мутацијама у односу на испитанике без мутација.

У поглављу **Дискусија** разматрани су резултати истраживања, који су упоређени су са доступним литературним подацима чиме је истакнут њихов значај. Дискусија је написана садржајно и јасно, и на критички начин анализира резултате приказане у претходном поглављу. Цитирана литература је адекватна за тумачење резултата ове дисертације и на прави начин осликава тренутна сазнања из области. У складу са претходним поглављем у првом делу се дискутују резултати анализе LRRK2 гена. У овом гену је код болесника из Србије нађено пет различитих патогених или потенцијално патогених мутација, од којих су три већ обрађене у литератури. За две мутације које до сада нису описане у литератури није са сигурношћу потврђена патогеност. Укупна учесталост LRRK2 мутација од 1,21%, је у сагласности са резултатима из Европе, али и других делова света. Интересантно је да мутација p.Gly2019Ser, која је пријављена као најраспрострањенија у другим срединама, у нашој кохорти ПБ болесника има учесталост свега 0,2%. Резултати анализе коералација генотипа и фенотипа код LRRK2 мутација у овом истраживању су у сагласности са резултатима других студија. Потом је дискутован налаз везан за једину познату патогену мутацију у VPS35 гену. У овом истраживању та мутација није детектована, што одговара налазима из литературе о њеној ниској општој учесталости у ПБ, која износи око 0,11%. У вези анализе Parkin гена, детаљно је дискутован спектар и значај откривених мутација. У овом истраживању четири болесника (1,78%) су били сложени хетерозиготи за познате мутације, а нађено је још седам различитих хетерозиготних мутација код укупно осам болесника (3,55%). Подаци из других студија су међусобно различити, у зависности од инклузионих критеријума за анализу. У литератури се Parkin мутације налазе код преко 50% болесника са јувенилном формом ПБ, а затим се учесталост смањује, тако да код ПБ касног почетка мање од 1% болесника има две мутације у Parkin гену. У овом истраживању је потврђен ранији почетак ПБ код носилаца две мутације у Parkin гену, док између болесника са једном мутацијом и без детектованих промена није било значајне разлике у времену појаве првих симптома. Супротно овим налазима, неке студије наводе да и носиоци једне мутације имају нешто ранији почетак болести. У литератури се наводи да је постојање Parkin мутација удружено са споријом прогресијом болести и бољим одговором на L-dopu. Ове податке би требало проспективно испитати и код болесника са Parkin мутацијама из Србије. Промене у GBA гену, као релативно нов ризични фактор за ПБ, су посебно детаљно дискутоване. У овом истраживању је у GBA гену откривено 9 различитих мутација промењеног смисла као и три комплексна рекомбинантна алела. Занимљиво је да су испитана и два болесника са Гошеовом болешћу и знацима паркинсонизма, и код обојице су потврђене патогене GBA мутације, било у облику хомозигота или сложеног хетерозигота. Укупна учесталост мутација у GBA гену код болесника из Србије је износила 7,7% и била је значајно већа у односу на учесталост мутација код контрола (1,5%). И друге, пре свега европске и америчке студије, налазе око 5% GBA мутација код болесника са ПБ, што истиче овај фактор као до сада најзначајнији генетички чинилац предиспозиције. У литератури се опсежно

дискутује да ли су GBA мутације удружене са посебним фенотипским одликама ПБ. Већина аутора налази нешто ранији почетак болести и више немоторних симптома (когнитивни дефицит, неуропсихијатријске сметње, халуцинације, аутономна дисфункција). У истраживању спроведеном у оквиру ове докторске дисертације, код носилаца GBA мутације није запажен ранији почетак болести, што се објашњава и чињеницом да није вршена селекција испитаника на основу времена почетка ПБ. Такође, у односу на наводе из литературе, од немоторних симптома је запажена само чешћа појава бола.

На основу добијених резултата изнети су **Закључци** ове докторске дисертације који у потпуности одговарају постављеним циљевима и обухватају најважније ставове изнете у дискусији. У првом закључку се истиче да је утврђена дистрибуција и спектар мутација у генима PARK2, LRRK2, VPS35 и GBA код болесника са ПБ на територији Србије. У LRRK2 гену је нађено пет различитих патогених или потенцијално патогених мутација, од којих две до сада нису описане у литератури. Укупна учесталост LRRK2 мутација је 1,21%, што је у сагласности са резултатима из других средина. Једина позната патогена мутација VPS35 гена није детектована у испитиваној кохорти ПБ болесника, што је сагласности са резултатима других студија и указује да PARK17 није честа форма Паркинсонове болести код болесника на територији Србије. У погледу промена у Parkin гену, четири болесника су били сложени хетерозиготи за познате мутације, а детектовано је још седам различитих хетерозиготних мутација код укупно осам болесника. Две новооткривене промене у овом гену су највероватније бенигне. У GBA гену је откривено 9 различитих мутација промењеног смисла и још три комплексна рекомбинантна алела; укупна учесталост мутација у GBA гену код болесника је износила 7,7% и била је значајно већа у односу на учесталост мутација код контрола (1,5%). Други закључак се односи на потенцијалне корелације између генотипа и фенотипа код болесника са утврђеним мутацијама. Фенотипске карактеристике носилаца мутација у LRRK2 гену се нису значајно разликовале од клиничке презентације код болесника без мутација, док је учесталост женског пола код носилаца мутација (83%) била значајно већа него код болесника без мутација (38%). Болесници са две мутације у Parkin гену су имали ранији почетак болести у односу на болеснике са једном мутацијом или без мутација у овом гену, док остале клиничке карактеристике нису показивале разлику у испољавању у наведеним групама. Код носилаца мутација у GBA гену, клиничка презентација болести се у највећој мери није разликовала у односу на болеснике без мутација; једино се бол као иницијални симптом јављао код 12,5% болесника са мутацијом у GBA гену, наспрам 3,9% код болесника без мутације. Последњи закључак се односи на формиране препоруке за протокол дијагностичког генетичког тестирања ПБ. Према овим препорукама, треба анализирати LRRK2 ген код болесника са типичном ПБ касног почетка, код болесника са нешто ранијим почетком болести ( $\geq 40$  година) и/или позитивном породичном анамнезом, као и код болесника женског пола са позитивном породичном анамнезом, без обзира на године почетка. VPS35 ген треба анализирати код болесника са типичном ПБ касног почетка и позитивном породичном анамнезом са аутозомно-доминантним обрасцем наслеђивања, а код којих није утврђено присуство LRRK2 мутација. Анализа Parkin гена је индикована код болесника са раним почетком болести и позитивном породичном анамнезом, а

посебно у случајевима са почетком болести пре тридесете године живота, без обзира на породичну анамнезу. Анализа мутација GBA гена, као једног од фактора ризика, се препоручује код болесника са типичном ПБ.

У поглављу **Литература** наведене су референтне публикације које обухватају 386 наслова који се адекватно наводе у тексту. На крају је дат списак од 16 интернет адреса сајтова на које се кандидат такође позивала у тексту.

## БИБЛИОГРАФИЈА

Кандидат Милена Јанковић је публиковала 6 библиографских јединица које су проистекле из истраживања спроведених у оквиру израде дисертације, од чега су три рада објављена у целини у часописима међународног значаја са SCI листе. У једном раду (категирија M22) М. Јанковић је први аутор, а у два рада (категирија M21) је коаутор.

### Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

#### B1. Радови у часописима међународног значаја

1. **M22** Janković MZ, Kresojević ND, Dobričić VS, Marković VV, Petrović IN, Novaković IV, Kostić VS. Identification of novel variants in LRRK2 gene in patients with Parkinson's disease in Serbian population. J Neurol Sci. 2015. pii: S0022-510X(15)00199-9. doi: 10.1016/j.jns.2015.04.002. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25899316.
2. **M21** Kresojević N, Janković M, Petrović I, Kumar K, Dragašević N, Dobričić V, Novaković I, Svetel M, Klein C, Pekmezović T, Kostić V. Presenting symptoms of GBA-related Parkinson's disease. Parkinsonism Relat Disord. 2015. doi: 10.1016/j.parkreldis.2015.04.028 Publication stage: In Press Accepted Manuscript
3. **M21** Kresojević N, Mijajlović M, Perić S, Pavlović A, Svetel M, Janković M, Dobričić V, Novaković I, Lakočević MB, Klein C, Kostić VS. Transcranial sonography in patients with Parkinson's disease with glucocerebrosidase mutations. Parkinsonism Relat Disord. 2013;19(4):431-5. doi:10.1016/j.parkreldis.2012.12.006. Epub 2013 Jan 16. PubMed PMID: 23332636.

#### B3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **M34** Milena Jankovic, Valerija Dobricic, Vesna Ralic, Nikola Kresojevic, Ivana Novakovic, Marina Svetel and Vladimir Kostic. Mutation frequency in LRRK2 gene in Parkinson's disease (PD) in Serbia. V Congress of the Serbian Genetic Society with internat. participation. Kladovo - Belgrade, Serbia, September 28th - October 2nd 2014.
2. **M34** Jankovic M., Dobricic V., Kresojevic N., Tomic A., Markovic V., Svetel M., Novakovic I., Kostic V. VPS35 gene variant p.Asp620Asn in patients with

Parkinson's disease in Serbian population. 10th Balkan Congress of Human Genetics and 2nd Alpe Adria Meeting, Bled 10th-12th October, 2013.

3. **M34** Jankovic M., Dobricic V., Kresojevic N., Svetel M., Novakovic I., Kostic V. GBA-associated PD in Serbian population: from epidemiological studies to clinical implementation. 8th annual GEO-PD meeting. Luebeck, Germany, October 17th - 19th 2013.

## МИШЉЕЊЕ И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

Увидом у докторску дисертацију Милене Јанковић, чији смо приказ дали у извештају, као и на основу приложене библиографије и непосредног увида у рад кандидата, сматрамо да је теза написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме и да садржи све одговарајуће елементе неопходне за овакву врсту рада. Докторска дисертација представља оригиналан научни допринос проучавању генетичке основе Паркинсонове болести у Србији. Ова дисертација се издваја по обиму и квалитету спроведених истраживања, а добијени резултати су значајни за различите области биомедицине.

Имајући у виду све претходно наведене податке, као и да је део поменутих истраживања објављен у публикацијама међународног значаја са високим импакт фактором, Комисија позитивно оцењује тезу и са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај извештај и одобри **Милени З. Јанковић** јавну одбрану докторске дисертације под насловом „**Студија генетичке основе Паркинсонове болести код становништва Србије**”.

Београд, 08.05.2015.

Комисија:

---

Академик др Владимир Костић, редовни професор  
Универзитет у Београду -Медицински факултет

---

др Марија Гућ-Шћекић, редовни професор у пензији  
Универзитет у Београду-Биолошки факултет

---

др Ивана Новаковић, редовни професор  
Универзитет у Београду -Медицински факултет

---

др Драгана Цветковић, ванредни професор,  
Универзитет у Београду-Биолошки факултет.