

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На IV редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду-Биолошког факултета, одржаној 25.01.2019. године, прихваћен је извештај ментора проф. Душанке Савић-Павићевић и проф. др Видосаве Ракочевић Стојановић о урађеној докторској дисертацији **Јована З. Пешовића**, истраживача сарадника на Универзитету у Београду-Биолошком факултету, под насловом „**Митотичка и мејотичка нестабилност DMPK експанзија са варијантним поновцима као генетички модификатор фенотипа миотоничне дистрофије типа 1**“, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу др Душанка Савић-Павићевић, редовни професор, Универзитет у Београду-Биолошки факултет, др Видосава Ракочевић Стојановић, редовни професор, Универзитет у Београду-Медицински факултет, и др Горан Брајушковић, редовни професор, Универзитет у Београду-Биолошки факултет. Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација **Јована З. Пешовића** под насловом „**Митотичка и мејотичка нестабилност DMPK експанзија са варијантним поновцима као генетички модификатор фенотипа миотоничне дистрофије типа 1**“ написана је на 155 страна, садржи 25 слика, 18 табела и 135 цитираних извора литературе. Докторска дисертација се састоји од: Насловне стране на српском и енглеском језику, Информације о менторима и члановима Комисије за одбрану докторске дисертације, Захвалнице, Резимеа докторске дисертације на српском и енглеском језику са кључним речима, Садржаја, Текста дисертације, Литературе и Прилога. Текст дисертације чине следећа поглавља: **Увод** (стр. 1-13), **Циљеви** (стр. 14), **Материјал и методе** (стр. 15-57), **Резултати** (стр. 58-112), **Дискусија** (стр. 113-132), **Закључци** (стр. 133-134), **Литература** (стр. 135-147) и **Прилози** (стр. 148-153). Поред наведеног, докторска дисертација садржи Биографију аутора (стр. 154-155) и непагиниране делове који обухватају: Изјаву о ауторству, Изјаву о истовестности штампане и електронске верзије докторске дисертације и Изјаву о коришћењу.

Анализа докторске дисертације:

Увод докторске дисертације даје приказ стања у области и података који су били полазиште за дефинисање предмета изучавања. Организован је у три потпоглавља. У првом потпоглављу дат је клинички опис миотоничне дистрофије тип 1 (ДМ1), која је најчешћа наследна мишићна дистрофија код одраслих особа и праћена је мултисистемским симптомима. ДМ1 је позната као једна од фенотипски најваријабилнијих моногенских болести због чега изучавање корелације генотипа и фенотипа ове болести представља посебан изазов. Кроз детаљан опис клиничких типова ДМ1 приказан је фенотипски континуум болести од асимптоматских адултних носиоца узрочне мутације до новорођенчади са симптомима који озбиљно угрожавају живот. Имајући у виду да су болесници изучавани у овој тези имали јувенилно-адултни тип,

посебно су описане карактеристике овог типа ДМ1, укључујући и њихову варијабилност. У другом потпоглављу кандидат описује молекуларно-генетичку основу ДМ1, која је по својој природи динамична мутација. Узрочна мутација ДМ1 је нестабилна експанзија (повећање броја) СТГ поновака у 3' нетранслатирајућем региону гена *DMPK*. Посебна пажња посвећења је описивању митотичке и мејотичке нестабилности узрочне мутације. Мејотичка нестабилност се најчешће одликује повећањем броја СТГ поновака, посебно када су преносиоци мајке са адултним типом ДМ1. Митотичка нестабилност је ткивно-специфична са тежњом ка повећању броја поновака током живота болесника, тако да појединачне ћелије болесника поседују мутиране *DMPK* алеле са различитим бројем СТГ поновака (соматски мозаицизам). Треће потпоглавље односи се на корелацију генотипа и фенотипа код ДМ1. Број СТГ поновака у гену *DMPK* је главна детерминанта тежине клиничке слике и узраста на почетку болести. Због постојања овакве корелације, мејотичка нестабилност представља генетичку основу антиципације, феномена да се болест у свакој следећој генерацији испољава раније и има тежу клиничку презентацију, док се континуирано повећање броја поновака током времена у соматским ћелијама доводи у везу са прогресијом болести, посебно са узрастом појаве првих симптома. Кандидат истиче да број СТГ поновака ипак објашњава само део фенотипске варијабилности ДМ1, што указује на постојање модификатора фенотипа који по природи могу бити генетички, епигенетички и средински. Такође, кандидат описује и тешкоће у изучавању односа генотипа и фенотипа узрокованих митотичком нестабилношћу *DMPK* експанзија и често разматраним питањем шта је најбоља мера за величину наслеђеног (прогениторног) мутираног алела. Од посебног интереса за полазиште ове тезе је описивање сазнања везаних за варијантне поновке (CCG, CTC, GGC или CAG), расуте међу СТГ поновцима у *DMPK* експанзијама. У тренутку дефинисања предмета ове докторске тезе било је познато да су варијантни поновци присутни код мање од 5% болесника који се често одликују блажим симптомима него што се очекује на основу величине њихове експанзије, или чак испољавају неке необичне симптоме за ДМ1. Таква запажања указала су на то да би варијантни поновци у *DMPK* експанзијама могли бити модификатори фенотипа ДМ1. Такође, кандидат наводи да варијантни поновци описани код других болести нестабилних експанзија поновака могу стабилизирати *wild-type* и мутиране алеле.

У складу са описаним сазнањима о варијантним поновцима у гену *DMPK* и другим генима повезаним са болестима нестабилних експанзија поновака, затим важности мејотичке и митотичке нестабилности за испољавање ДМ1 код датог болесника и у датој породици, као предмет докторске дисертације дефинисано је: изучавање генетичке и епигенетичке структуре варијантних поновака код ДМ1 болесника, затим изучавање мејотичке и митотичке нестабилности варијантних *DMPK* експанзија, као и улоге варијантних поновака као модификатора ДМ1 фенотипа. С тим у вези, у поглављу **Циљеви** дефинисано је седам специфичних циљева:

- 1) Претражити репрезентативну и клинички добро окарактерисану групу ДМ1 болесника, пописаних у Српском регистру за миотоничне дистрофије, на присуство варијантних поновака на 5' и 3' крају *DMPK* експанзија;
- 2) Одредити генетичку структуру *DMPK* експанзија код болесника са идентификованим варијантним поновцима;
- 3) Кроз праћење мејугенерациских преношења *DMPK* алела у ДМ1 породицама, испитати утицај варијантних поновака на мејотичку нестабилност *DMPK* експанзија;
- 4) Кроз квантификацију соматског мозаицизма варијантних *DMPK* експанзија у ћелијама крви узоркованим у два временска тачкама и ћелијама букалне

- слузнице, окарактерисати ткивну специфичност и мутациону динамику митотичке нестабилности варијантних *DMPK* алела;
- 5) Испитати да ли су варијантни *CCG* поновци у *DMPK* експанзијама метиловани, као и да ли су метилована *CpG* острвца узводно и низводно у односу на варијантне *DMPK* експанзије;
 - 6) Испитати повезаност варијантних поновака и клиничких параметара болести, прикупљених након поновног клиничког испитивања свих идентификованих болесника са варијантним *DMPK* експанзијама;
 - 7) Испитати да ли постоји веза између ефекта варијантних поновака на митотичку нестабилност *DMPK* експанзија и узраста појаве првих симптома.

Поглавље **Материјал и методе** организовано је у 13 потпоглавља. У првом потпоглављу дат је детаљан опис узорака ДНК и клиничких података коришћених у овој студији. Студија је обухватила 243 болесника са клинички и молекуларно-генетички потврђеном дијагнозом ДМ1 из 174 породице из Србије. Биолошки узорци крви пацијената прикупљани су у сарадњи са Клиником за неурологију Клиничког центра Србије у периоду од 1997. до 2017. године. Болесници код којих је утврђено присуство варијантних поновака прошли су додатно клиничко испитивање на Клиници за неурологију, које је обухватало неуролошки и офталмолошки преглед, лабораторијске анализе, кардиолошки преглед са електро- и ехокардиографијом, спирометрију и процену општег когнитивног статуса. Код седам болесника, након одређеног времена поново је узоркована крв, док су од пет болесника узети и узорци бриса букалне слузнице. Након детаљног увида у циљеве истраживања, сви испитаници дали су своју сагласност за учешће у овој студији, а студија је одобрена од стране Етичког комитета Клиничког центра Србије у Београду (Одлука број 339/5). У циљу испитивања динамике митотичке нестабилности, четири болесника са перфектним *CTG* поновцима у *DMPK* експанзијама (чистим експанзијама), чији су узорци ДНК из крви били доступни из две временске тачке, представљали су контролну групу. У циљу валидације метода коришћених за испитивање метилације варијантних *DMPK* експанзија, коришћени су узорци ДНК болесника са конгениталном формом ДМ1, Фрагилним X синдромом и Хантингтоновом болешћу. Сви наведени узорци припадају одговарајућим банкама ДНК Центра за хуману молекуларну генетику Биолошког факултета Универзитета у Београду. За потребе ове студије коришћени су и клинички и генетички подаци ДМ1 болесника са чистим *DMPK* експанзијама доступни из Српског регистара за миотоничне дистрофије и базе података Центра за хуману молекулару генетику. У следећих 11 потпоглавља описане су коришћене молекуларно-генетичке методе и дати су протоколи са свим детаљима неопходним за репродуковање експерименталних процедура. За испитивање присуства варијантних поновака на 5' и 3' крајевима *DMPK* експанзија коришћен је специфичан *PCR* за детекцију експанзија поновака, познат под називом *repeat-primed PCR*. У зависности од коришћених прајмера било је могуће детектовати како перфектне *CTG* поновке тако и варијантне *CCG* поновке. Структура варијантних поновака одређена је Сангеровим секвенцирањем *repeat-primed PCR* производа. Величина *DMPK* експанзија одређена је *long-range PCR*-ом праћеним Southern blot хибридизацијом са *CAG*₁₂ *probon*. Испитивање присуства варијантних поновака узводно од 3' краја *DMPK* експанзија вршено је дигестијом *long-range PCR* производа ензимом *SsiI* чије је рестрикционо место 5'-C↓CGC-3'. Квантификација соматске нестабилности *DMPK* експанзија урађена је применом *single-molecule small-pool PCR*-а, који омогућава одређивање величине појединачних мутираних *DMPK* алела. За сваког испитиваног болесника одређена је величина барем 200 алела и добијена је дистрибуција учесталости величине мутираних алела. За испитивање метилације *CCG* поновака у *DMPK* експанзијама дизајниран је

метил-специфичан *repeat-primed* PCR за бисулфитно конвертовану ДНК. Уочено присуство метилације CCG поновака потврђено је применом *repeat-primed* PCR-а на геномској ДНК дигерираној ензимом *SsiI*, који је осетљив на присуство метилованог цитозина. Најзад, валидност метил-специфичног *repeat-primed* PCR-а дизајнираног за *DMPK* локус потврђена је испитивањем метилације CCG поновака метил-специфичним *repeat-primed* PCR-овима дизајнираним за локус *FMR1*, као позитивне контроле за метилацију CCG поновака, и локус *HTT*, као претпостављене негативне контроле. Метилација CpG острваца узводно и низводно од поновака у гену *DMPK* урађена је бисулфитним Сангеровим секвенцирањем. У тринаестом потпоглављу описана је статистичка обрада резултата урађена у софтверском окружењу R и дефинисаним нивоом статистичке значајности од $P < 0.05$ за све урађене анализе. За поређења номиналних променљивих (удео међугенерациских контракција у односу на експанзије, удео мајчиних у односу на очева преношења, удео болесника суспектних на ДМ1 у односу на ДМ2) између група ДМ1 болесника са и без варијантних поновака коришћен је Фишеров егзактни тест. Како би се одабрао одговарајући тест за статистичка поређења континуалних променљивих између група ДМ1 болесника са варијантним и чистим експанзијама (узраст почетка болести и степен миотоније изражен у секундама), најпре је линеарном регресијом тестирана корелација клиничких променљивих са дужином прогениторног алела у групи болесника са јувенилно-адултном формом ДМ1 без варијантних поновака. У случају одсуства корелације између броја CTG поновака и испитиваних клиничких променљивих, поређења су вршена Wilcoxon-Mann-Whitney тестом, након провере нормалности дистрибуције Shapiro-Wilk тестом. Са друге стране, у случају постојања корелације између броја поновака и испитиваних клиничких променљивих, параметри добијених модела линеарне регресије коришћени су за процену могућих одступања. За поређење нивоа соматске нестабилности и узраста почетка болести између болесника са варијантним и чистим *DMPK* експанзијама коришћени су објављени модели линеарне регресије на референтној групи од преко 100 ДМ1 болесника, при чему су модели ретестирани коришћењем 10. перцентила дистрибуције учесталости величине алела као мере за величину прогениторног алела.

Поглавље **Резултати** организовано је у шест потпоглавља. Резултати истраживања су детаљно приказани уз одговарајуће табеле и слике, као и кратко формулисаним закључцима који су произашли из сваког дела истраживања. Варијантни поновци детектовани су само на 3' крају експанзија код 9 од 243 ДМ1 болесника (3,7%) из 5 од 174 породице (2,9%). Код осам болесника идентификовани су CCG поновци организовани као појединачни, кратки или дуги перфектни низови, или као појединачни или правилни низови CCGCTG хексамера. Код преосталог болесника, први пут је описана *DMPK* експанзија са *de novo* насталим CTC поновком. Праћењем четири међугенерациска преношења варијантних *DMPK* експанзија запажена су стабилна преношења или контракције (смањење броја поновака). Коришћењем података из ове и публикованих студија, показано је да се, супротно чистим, варијантне *DMPK* експанзије међугенерациски чешће стабилно преносе или контрахују, посебно када је преносилац мајка. Соматска нестабилност варијантних *DMPK* експанзија, слично чистим, одликовала се ткивном специфичношћу и тежњом ка повећању броја поновака током живота болесника. Међутим, математичким моделовањем показано је да се варијантне *DMPK* експанзије карактеришу нижим нивоом соматске нестабилности, која је праћена мањим повећањем броја поновака током времена. Такође, показано је да су сами варијантни поновци стабилни у ћелијама крви током времена и између ћелија крви и букалне слузнице. Претходно наведени резултати пружили су доказе да различити типови и обрасци варијантних поновака доприносе стабилности *DMPK* експанзија у соматским и

полним ћелијама. У овој докторској тези први пут је показано да су сами ССГ поновци у *DMPK* експанзијама хетерогено метиловани, као и да је хетерогена метилација присутна у СрG острвацима узводно и низводно од поновака. На основу запажања да релативни степен метилације самих ССГ поновака и околних СрG острваца зависи од заступљености и обрасца ССГ поновака, претпостављено је да се метилација иницира на самим ССГ поновцима и локално шири на околна СрG острвца. Неки од болесника са варијантним *DMPK* експанзијама одликовали су се атипичним симптомима, клиничком презентацијом која је пре указивала на миотоничну дистрофију тип 2, као и релативно касним узрастом почетка болести у односу на очекивани према броју поновака. Математичко моделовање је показало да индивидуално-специфичне разлике у нивоу соматске нестабилности имају већи утицај на узраст почетка симптома код болесника са варијантним експанзијама у односу на оне са чистим. Посредно, овај резултат је указао на то да је механизам којим варијантни поновци доприносе каснијем испољавању почетка болести везан за стабилизацију *DMPK* локуса у соматским ћелијама.

Поглавље **Дискусија** је организовано у 6 потпоглавља и даје упоредну анализу оригиналних резултата ове докторске тезе и података из литературе који се односе не само на постојећа знања везана за ДМ1 већ и на остале болести нестабилних експанзија поновака. Такође, кандидат дискутује предности и ограничења примењене методологије и коришћеног дизајна сваког дела студије. Посебну пажњу на крају Дискусије кандидат посвећује клиничком значају резултата ове докторске тезе који говоре у прилог да су варијантни поновци модификатори ДМ1 фенотипа. Истиче да се апликативни значај резултата даље огледа у доприносу око постизања консензуса везаног за генетичко саветовање породица са варијантним поновцима, адекватном регрутовању болесника за клиничке студије и дизајну нових терапеутика који би ефекат *DMPK* експанзија модификовали кроз супримирање њихове соматске нестабилности. Са друге стране, кандидат истиче да откриће метилације ССГ поновака отвара базична питања везана за улогу епигенетичких механизма у стабилизацији *DMPK* локуса.

У поглављу **Закључци** кандидат прецизно и јасно износи главне закључке ове докторске дисертације у складу са постављеним циљевима:

- 1) *DMPK* експанзије са прекидима на 3' крају (СТG)_n низа забележене су код ~3% болесника у групи од 242 болесника из Србије.
- 2) Осам од девет идентификованих болесника имали су ССГ поновке организоване као појединачне, кратке или дуге правилне низове, и/или као појединачне или правилне низове ССГСТG хексамера. Код преосталог болесника, први пут је описана *DMPK* експанзија са *de novo* насталим СТС поновком.
- 3) Различити типови и обрасци варијантних поновака стабилишу *DMPK* експанзије у полним ћелијама, што је запажено кроз чешћа стабилна преношења и контракције варијантних *DMPK* експанзија, посебно када је мајка преносилац.
- 4) Различити типови и обрасци варијантних поновака, укључујући и појединачни *de novo* настали прекид, *in cis* доприносе стабилности *DMPK* експанзија у соматским ћелијама, што се детектује као нижи ниво соматске нестабилности и мање повећање величине експанзија током времена у односу на болеснике са чистим експанзијама.
- 5) Откривено је да су сами ССГ поновци у *DMPK* експанзијама и околна СрG острвца метиловани. Метилација оба типа секвенци је хетерогена и зависи од структуре ССГ поновака, због чега је претпостављено да се метилација иницира и концентрише у оквиру самих ССГ поновака и, затим, локално шири, захватајући узводна и низводна СрG острвца. Остаје отворено питање да ли је метилација ДНК

потенцијални механизам који доприноси стабилности варијантних *DMPK* експанзија.

- 6) Општа клиничка презентација већине болесника са варијантним *DMPK* експанзијама указивала је на ДМ1. Ипак, неки су имали блаже клиничке симптоме од очекиваних, као што су каснији узраст почетка болести, мањи степен захваћености мишића, мањи степен перкусионе миотоније, одсуство когнитивног нарушења, и/или атипичне симптоме, који су често пре указивали на миотоничну дистрофију тип 2. Даље разјашњење који симптоми ДМ1 и у којој мери су последица присуства варијантних поновака, захтева студије на већој групи болесника.
- 7) Услед свог стабилишућег ефекта на *DMPK* локус у соматским ћелијама, варијантни поновци предиспонирају ДМ1 болеснике да развију болест касније од просека, што потврђује њихову улогу модификатора ДМ1 фенотипа.

У поглављу **Литература** је дата листа 135 извора литературе. Цитирани радови су одговарајући, актуелни и омогућили су развој идеје за извођење истраживања ове докторске тезе, и дали смернице за објашњење добијених резултата и извођење закључака. Наведени извори покривају све појединачне области овог истраживања и адекватно су наведени у самом тексту.

У поглављу **Прилози** приказана је дозвола Етичког комитета Клиничког центра Србије за извођење овог истраживања, затим Табеле које приказују ретестиране моделе линеране регресије за соматску нестабилност и узраст на почетку болести са свим релевантним статистичким параметрима, као и линк ка Табели са сировим подацима квантификације соматске нестабилности *DMPK* експанзија у свим анализираним узорцима.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **M21** Pešović J, Perić S, Brkušānin M, Brajušković G, Rakočević-Stojanović V, Savić-Pavićević D. Repeat interruptions modify age at onset in myotonic dystrophy type 1 by stabilizing *DMPK* expansions in somatic cells. **Front Genet.** 2018; 9:601.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00601>
2. **M21** Pešović J, Perić S, Brkušānin M, Brajušković G, Rakočević-Stojanović V, Savić-Pavićević D. Molecular genetic and clinical characterization of myotonic dystrophy type 1 patients carrying variant repeats within *DMPK* expansions. **Neurogenetics.** 2017;18(4):207-218.
<https://doi.org/10.1007/s10048-017-0523-7>

Б2. Радови у часописима домаћег значаја

—

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **M32 (усмена презентација)** Savić-Pavicević D, Pešović J, Perić S, Brkušanić M, Brajušković G, Rakočević-Stojanović V. Identifying modifiers of somatic instability and age at onset in myotonic dystrophy type 1 by modeling genetic data. In Book of Abstracts: 49. Belgrade BioInformatics Conference 2018 (BelBi 2018) Belgrade, Serbia, June 18-22, 2018.
2. **M34** Pesovic J, Peric S, Brkusanin M, BrajuskoVIC G, RakoceVIC-Stojanovic V, Savić-Pavicević D. Variant repeats stabilize expansions and modify age at onset in myotonic dystrophy type 1. Journal of Neuromuscular Diseases, Abstracts of the 15th International Congress on Neuromuscular Diseases (ICNMD XV): S164 (#673). ICNMD XV. Vienna, Austria, July 6 – 10, 2018. doi: 10.3233/JND-189001
3. **M34 (усмена презентација)** Pešović J, Perić S, Brkušanić M, Brajušković G, Stojanović-Rakočević V, Savić-Pavicević D. Dynamics of somatic instability in myotonic dystrophy type 1 patients carrying variant repeats within DMPK expansions. Abstract 037: p. 49. IUBMB 2018 Young Scientist Program. Seoul, Korea. June 2-4, 2018.
4. **M34** Pešović J, Rakočević Stojanović V, Perić S, Brkušanić M, Brajušković G, Romac S, Savić Pavićević D. Variant repeats in DM1 patients might be associated with milder clinical presentation. In: Programme & Abstracts of the 10th International Myotonic Dystrophy Consortium Meeting (IDMC); 2015 June 8-12; Paris, France. p.102.
5. **M34** Pesovic J, RakoceVIC Stojanovic V, Peric S, BrajuskoVIC G, Romac S , Savić Pavicevic D. Variant repeats as genetic modifiers of DM1 – a case report. In: SNC15 Book of Abstracts of the SiNAPSA Neuroscience Conference'15 (SNC'15); 2015 May 15-17; Ljubljana, Slovenija. p. 67.

Б4. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

1. **M64 (усмена презентација)** Pešović J, Perić S, Brkušanić M, Brajušković G, Rakočević-Stojanović V, Savić-Pavicević D. Molecular genetic characterization of myotonic dystrophy type 1 patients carrying variant repeats within DMPK expansions. In: Book of Abstracts. The First Congress of Molecular Biologists of Serbia (CoMBoS); 2017, September 20-22; Belgrade, Serbia. p. 101.
2. **M64** Pešović J, Rakočević-Stojanović V, Perić S, Brkušanić M, Brajušković G, Romac S, Savić Pavićević D (Beograd): Varijantni ponovci kao mogući genetički modifikatori DM1. U: Zbornik radova X/XVI Kongresa neurologa Srbije sa međunarodnim učešćem; 22-24. oktobar 2015; Novi Sad, Srbija. str. P114.

Мишљење и предлог Комисије:

Докторска теза **Јована З. Пешовића** садржи све неопходне елементе за овакав тип рада. Из презентованих резултата закључује се да су постављени циљеви успешно реализовани. Посебан значај тезе огледа се у томе што је кандидат током својих истраживања дошао до потпуно нових сазнања.

Истраживања ове докторске дисертације дају оригинални научни допринос у области генетике митохоничне дистрофије тип 1, и уопштено у области генетике болести нестабилних експанзија поновака. Наиме, варијантни поновци у експанзијама СТG поновака у *DMPK* гену (узрочној мутацији) су од самог открића пре десет година препознати као потенцијални модификатори фенотипа митохоничне дистрофије тип 1 и веома су актуелна тема у студијама везаним за ову наследну болест. Резултати ове докторске тезе пружају релевантне доказе да различити типови и обрасци варијантних поновака (ССG и СТC) стабилизују експанзију СТG поновака у гену *DMPK* како у полним тако и у соматским ћелијама. Кандидат је први пут показао да стабилишући ефекат варијантних поновака у соматским ћелијама доприноси каснијем почетку болести, тако да добијени резултати имају клинички значај. Кроз епигенетичку карактеризацију варијантних *DMPK* експанзија кандидат је дошао до открића да су варијантни ССG поновци у *DMPK* експанзијама метиловани, отварајући питање значаја епигенетичких механизма у стабилизацији *DMPK* експанзија и модификацији клиничке презентације миотоничне дитрофије тип 1.

Део резултата ове докторске тезе објављен је у два научна рада у врхунским међународним часописима (M21) и представљен је на 2 домаћа и 5 међународних научних скупова (укључујући три усмене презентације).

На основу изложеног, Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај Извештај и одобри **Јовану З. Пешовићу** јавну одбрану докторске дисертације под насловом: „**Митотичка и мејотичка нестабилност *DMPK* експанзија са варијантним поновцима као генетички модификатор фенотипа миотоничне дистрофије типа 1**“.

КОМИСИЈА:

др Душанка Савић-Павићевић, редовни професор
Универзитет у Београду-Биолошки факултет

др Видосава Ракочевић Стојановић, редовни професор
Универзитет у Београду-Медицински факултет

др Горан Брајушковић, редовни професор
Универзитет у Београду-Биолошки факултет

У Београду, 01.02.2019. године.