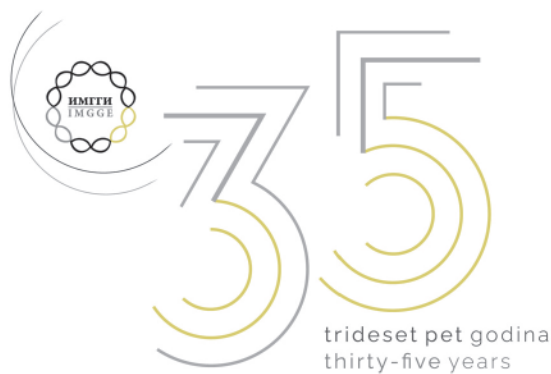


Broj 1 • septembar 2021. N° 1 • September 2021.



Trendovi u **molekularnoj biologiji**  
Trends in **Molecular Biology**



Beograd • Belgrade • 2021.  
IMGGI • IMGGE

# Sadržaj • Content

Personalizovana medicina i COVID-19: značaj genomskog profilisanja pacijenata i bioinformatike <b>Branka Zukić, Biljana Stanković, Nikola Kotur</b>	6	Personalized medicine and COVID-19: the importance of genomic host profiling and bioinformatics
Izotermalna amplifikacija posredovana petljom (LAMP) kao metoda za terensku detekciju SARS-CoV-2 virusa <b>Mila Djisalov, Teodora Knežić, Ljiljana Janjušević, Željko D. Popović, Petar Kosijer, Ivana Gadjanski</b>	21	Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) as a point-of-care SARS-CoV-2 detection method
CRISPR-Cas9 tehnologija: od osnovnih istraživanja do kliničke prakse <b>Marko Panić</b>	33	CRISPR-Cas9 technology: from basic research to clinical application
Primena CRISPR/Cas9 tehnologije u otkrivanju novih molekularnih terapeutika <b>Anita Skakić, Maja Stojilković</b>	42	Application of CRISPR/Cas9 technology in the discovery of new molecular therapeutics
Nova paradigma u dijagnostici retkih bolesti <b>Milica Keckarević Marković, Miljana Kecmanović, Dušan Keckarević</b>	54	Diagnostics of rare diseases: New paradigm
Genetička i epigenetička karakterizacija varijantnih <i>DMPK</i> ekspanzija kao modifikatora fenotipa miotonične distrofije tipa 1 <b>Jovan Pešović, Stojan Perić, Lana Radenković, Vidosava Rakočević-Stojanović, Dušanka Savić-Pavićević</b>	60	Genetic and epigenetic characterization of variant <i>DMPK</i> expansions as a modifier of phenotype in myotonic dystrophy type 1
Molekularna osnova primarne cilijarne diskinezije <b>Marina Anđelković</b>	71	Molecular basis of primary ciliary dyskinesia
Molekularna osnova monogenetskog dijabetesa <b>Jovana Komazec, Milena Ugrin</b>	84	The Molecular Basis of Monogenic Diabetes
Diferencijalna dijagnoza eozinofilnog infiltrata u sluznici jednjaka primenom molekularno-bioloških metoda <b>Nina Ristić, Tijana Išić Denčić, Radmila Janković</b>	96	Differential diagnosis of eosinophilic infiltrate in esophageal mucosa by applying molecular biology methods
Molekularni markeri u sistemskoj sklerozii: geni kandidati i terapijski modaliteti <b>Vesna Spasovski, Miša Vreća</b>	107	Molecular markers in systemic sclerosis: candidate genes and therapeutic modalities
Duga nekodirajuća RNK GAS5 kao novi biomarker u onkologiji <b>Vladimir Gašić, Nataša Tošić</b>	113	Long noncoding RNA GAS5 as a new biomarker in oncology
Prediktivna i prognostička uloga gena p16INK4a, p14ARF i KRAS u karcinomu rektuma čoveka <b>Bojana Kožik, Milena Krajnović, Nikola Kokanov</b>	123	Predictive and prognostic role of p16INK4a, p14ARF and KRAS genes in human rectal carcinoma
Savremena molekularno-biološka ispitivanja prognostičkih faktora papilarnog tiroidnog karcinoma i mogućnost njihove primene u kliničkoj praksi <b>Ilona Đorić, Jelena Janković Miljuš, Sonja Šelemetjev</b>	133	Contemporary molecular-biological investigations of papillary thyroid carcinoma prognostic factors and their potential for application in clinical practice
Nekodirajuće RNK kao perspektiva u dijagnostici i lečenju kardiovaskularnih bolesti <b>Ljiljana Rakićević</b>	146	Non-coding RNAs as a prospect in diagnostics and treatment of cardiovascular diseases
Biološko delovanje polifenola nara na komponente metaboličkog sindroma: implikacije na oksidativni stres <b>Milica Kojadinović i Aleksandra Arsić</b>	152	Biological effect of pomegranate polyphenols on the components of metabolic syndrome: implications on oxidative stress
Biogeni utišavači virulencije vrste <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <b>Milka Malešević, Branko Jovčić</b>	166	Biogenic silencers of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> virulence
Silicijum kao antistres element za biljke izložene toksičnim koncentracijama bakra <b>Dragana Bosnić, Dragana Nikolić, Jelena Samardžić</b>	180	Silicon as an anti-stress element for plants exposed to toxic copper

## **PREDGOVOR**

Molekularna biologija doživljava svoj procvat u XXI veku. Od naučne discipline koja je početkom 1930-ih bila u povojima, i koja je nastojala da objedini genetiku, biohemiju i biofiziku kako bi rasvetlila tajne života, izrasla je u nauku čija su postignuća doprinela velikom napretku u medicini, veterini, poljoprivredi i farmaciji. Uz informaciono komunikacione tehnologije, molekularna biologija je najperspektivnija oblast istraživanja, od koje se očekuje da značajno doprinese boljitku života ljudi u budućnosti.

U Srbiji je molekularna biologija prepoznata relativno rano, pre nego na mnogim drugim meridijanima. Već u školskoj 1972/73. se na Biološkom fakultetu u Beogradu (tada Prirodno-matematički fakultet) osniva smer- molekularna biologija i fiziologija. U našoj zemlji se tako edukuju generacije molekularnih biologa već pola veka. I veliki naučni instituti u Srbiji osnivaju laboratorije u kojima istraživanja prate, a ponekad i predvode, svetske trendove u molekularnoj biologiji. Jedna od tih naučnih institucija je Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo (IMGGI), osnovan 1986. godine u Beogradu. Već 35 godina naučnici iz IMGGI stavljaju najmodernije teme iz molekularne biologije u fokus svojih istraživanja.

Ovaj Tematski zbornik ima za cilj da prikaže aktuelne teme i postignuća iz oblasti molekularne biologije u prethodnoj, 2020. godini i da svedoči o tome kako su naučnici u Srbiji učestvovali u tim svetskim trendovima. Poglavlja su rezultat doktorskih teza mladih molekularnih biologa ali i prikaz aktuelnih istraživanja u kojima je istaknut doprinos naših naučnika. Od godine 2020. se očekivao veliki napredak u mnogim disciplinama zahvaljujući novim saznanjima iz molekularne biologije. Početak godine je doneo pandemiju KOVID-19 bolesti, koja je imala sve karakteristike epidemija iz ranijih vekova. Bili smo na pragu velikog razočaranja. A onda je molekularna biologija upotrebila sve svoje kapacitete, tako što je omogućila karakterizaciju virusa, uzročnika bolesti, za izuzetno kratko vreme. Iz tog razloga metode za detekciju virusa su bile razvijene u rekordnom roku, te je brza i efikasna dijagnostika postala dostupna lekarima. A potom su se pojavile vakcine, rezultat modernih metoda genetičkog inženjerstva. I tako je 2020. godina ipak bila jedinstvena u istoriji, jer je odgovor na epidemiju bio brz i efikasan, zahvaljujući, u velikoj meri, molekularnoj biologiji. Iste godine, Nobelova nagrada za hemiju je dodeljena metodi koja efikasno i tačno edituje humani genom. Vrata medicine budućnosti su se širom otvorila.

Ova sveska bi trebalo da bude prva u nizu godišnjih tematskih zbornika posvećenih aktuelnim temama iz molekularne biologije. Svesni smo kako će ovi rezultati izgledati za deceniju ili dve. Ali, ovo su „znakovi pored puta“ koje je naše vreme ostavilo, osvetljavajući put kojim se ide napred. Mi smo zadivljeni napretkom naše nauke, kad pogledamo u prošlost, ali smo i svesni koji su njeni dometi u odnosu na ono čemu nauka stremi. Radujemo se budućim sveskama i verujemo da će one otvarati nove perspektive i trasirati put napretka.

Nadamo se da će ovaj Tematski zbornik naći put do mladih ljudi, da će ih inspirisati da se opredele za naučni rad, posebno za molekularnu biologiju. Verujemo da će buduće generacije uvideti da naučni rad i u ovoj zemlji može dati doprinos svetskoj nauci a pri tome i dovesti do poboljšanja života ljudi u našoj zemlji. Od svih koji su učestvovali u stvaranju ovog svedočenja o našem vremenu, poruka za vas koji dolazite je:

„Hoćemo li na molekularnu?!“

**Sonja Pavlović**

## IZ RECENZIJA TEMATSKOG ZBORNIKA

### *Trendovi u molekularnoj biologiji*

Tematski zbornik *Trendovi u molekularnoj biologiji* oslikava trenutno stanje i fokus istraživanja u molekularnoj biologiji u Srbiji. Izabrane tematske oblasti i reprezentativni radovi jasno govore o mogućnostima i dometima ove naučne oblasti i spremnosti istraživača u Srbiji da prate trendove i savremene naučne pristupe.

Osim trenutno aktuelnog COVID-19, molekularna biologija je unapredila i obogatila istraživanja u medicini kroz oblast biomedicine. Težište ovog Tematskog zbornika je na rezultatima istraživanja molekularne osnove kompleksnih i retkih bolesti. Proučavanje prokariota dovelo je do mnogih fundamentalnih i revolucionarnih otkrića u molekularnoj biologiji, koja su otvorila put ka biotehnološkoj primeni. Jedno od takvih otkrića je i CRISPR/Cas9 tehnologija za editovanje genoma. Veoma važna oblast istraživanja je i potraga za inovativnim načinima kontrole infekcija izazvanih bakterijama koje su rezistentne na konvencionalne antibiotike. O ovim temama se takođe govori u Tematskom zborniku. Istraživanja u molekularnoj biologiji biljaka ne samo da su proširila znanja o ovim organizmima, već su otvorila put ka primeni savremenih metoda za poboljšanje osobina biljaka i povećanje prinosa. U tom smislu je veoma zanimljiv i ilustrativan rad koji je prikazan u ovom Zborniku.

Tematski zbornik *Trendovi u molekularnoj biologiji* jasno je ukazao na naučni i širi društveni značaj istraživanja u molekularnoj biologiji. Ovim prvim brojem nagoveštava se da će Zbornik ne samo pratiti i dokumentovati najznačajnija dostignuća u molekularnoj biologiji, već da će biti podstrek i inspiracija istraživačima u Srbiji.

#### **Prof. Svetlana Radović, redovni profesor Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu**

Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji“ je sačinjen od 17 poglavlja u kojima su predstavljeni naučni rezultati iz oblasti molekularne biologije koje su ostvarili naučnici iz Srbije. Veliki broj poglavlja iz Zbornika je posvećen istraživanjima iz oblasti biomedicine. Doprinos koji je molekularna biologija dala modernoj medicini je izuzetno veliki. Danas su u kliničkoj praksi mnogobrojni dijagnostički, prognostički i terapijskih molekularni markeri. Posebno je značajno što je medicina u Srbiji pratila svetske trendove, i to zahvaljujući i velikim naporima molekularnih biologa u našoj zemlji.

Najbolji primer postignuća molekularne biomedicine je odgovor ove nauke na pandemiju KOVID-19. Dijagnostika je omogućena uzuzetno brzo jer je molekularna biologija bila spremna za ovaj zadatak. Ipak je razvoj vakcina u fascinantnom roku najveće postignuće ove nauke. Molekularna biologija je pokazala svoju snagu u pravom trenutku i postala najznačajnija nauka u kriznim momentima za čovečanstvo, kako u svetu, tako i u našoj zemlji.

Sigurno je da će ovako koncipiran Tematski zbornik imati budućnost, jer je napredak medicine nemoguće zamisliti bez novih dostignuća molekularne biologije.

#### **Prof. dr Vesna Škodrić-Trifunović, redovni profesor Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu**

Ovaj Tematski zbornik kroz četiri celine daje pregled najznačajnijih ostvarenja u molekularnoj biologiji u svetu, a kojima se bave i istraživači u Srbiji. U okviru 17 preglednih radova prikazani su različiti rezultati - od onih koji su obeležili prethodnu godinu (posvećeni COVID-19 i CRISPR/Cas9 tehnologiji), preko novih dostignuća u biomedicini (retkih i kompleksnih bolesti), do molekularno bioloških istraživanja prokariota i biljaka.

Značaj ovog Zbornika je višestruk, ogleda se ne samo u činjenici da su najrelevantnija saznanja iz navedenih oblasti objedinjena i postala dostupna široj javnosti na maternjem jeziku, već i zbog toga što su radove napisali istraživači iz različitih naučnih instituta (6), fakulteta (3) i klinika (2) iz Srbije, u kojima se ta istraživanja aktivno sprovode. Naime, saznanja o SARS-CoV-2 koronavirusu, uzročniku nove bolesti COVID-19, se kontinuirano uvećavaju i veoma je važno što i naučnici iz naše zemlje daju doprinos u razumevanju ove pandemije. Isto se odnosi i na najnovije tehnologije za manipulaciju molekula DNK, koje su dovele do revolucionarnih pomaka u biomedicinskim naukama. Stoga, prikazana istraživanja molekularne osnove različitih bolesti najsavremenijim metodološkim pristupima, primena dobijenih rezultata u dijagnozi, preciznom predviđanju progresije bolesti i lečenju, kao i razvoju novih molekularnih terapeutika, daju realnu osnovu očekivanjima da će personalizovana medicina uskoro postati široko dostupna.

#### **Dr Gordana Nikčević, naučni savetnik Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerzitet u Beogradu**

## Molekularna osnova monogenetskog dijabetesa

Jovana Komazec, Milena Ugrin

Laboratorija za molekularnu biomedicinu, Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Beograd, Srbija

**Kontakt:** milena.ugrin@imgge.bg.ac.rs

### Apstrakt

Monogeniski dijabetes je heterogen oblik dijabetesa u čiji nastanak je uključen veliki broj gena. Promene u genima uzročnicima monogenetskog dijabetesa narušavaju funkciju  $\beta$ -ćelije pankreasa dovodeći do smanjene ili oštećene sekrecije insulina i, posledično, hiperglikemije kod pacijenata. Produkte ovih gena uglavnom čine transkripcioni faktori, zatim membranski kanali i proteini sa specifičnom funkcijom u ćeliji. Mnogi transkripcioni faktori monogenetskog dijabetesa imaju plejotropno dejstvo, te se kod nosioca promena u ovim genima mogu uočiti ne samo poremećaji u funkcionisanju  $\beta$ -ćelija, već i defekti u drugim organima ili multisistemski poremećaji. Dva glavna oblika monogenetskog dijabetesa su neonatalni dijabetes, koji se javlja u prvih 6 meseci života, i mnogo češći, MODY dijabetes koji nastaje u mlađem odraslom dobu. Najčešći geni uzročnici neonatalnog dijabetesa su geni *KCNJ11*, *ABCC8* i *INS* kao i *lokus 6q24*, dok se u slučaju MODY dijabetesa izdvajaju dva dominantna gena *HNF1A* i *GCK*. Iako je monogeniski dijabetes veoma redak, njegovo prepoznavanje među rasprostranjenijim oblicima dijabetesa je od izuzetnog značaja, s obzirom na to da su terapija, klinička prezentacija, subklasifikacija i prognoza toka bolesti specifični prema genu uzročniku. Savremene tehnologije sekvenciranja (NGS) su pronašle svoje mesto u dijagnozi monogenetskog dijabetesa, budući da je ova metoda nezamenjiva kada je u pitanju analiza velikog broja gena i heterogen fenotip koji se sreće kod ovog tipa dijabetesa. Rastuća saznanja o genima uzročnicima monogenetskog dijabetesa su izdvojila ovaj oblik dijabetesa kao dobrog kandidata za implementaciju relativno novog koncepta, precizne medicine dijabetesa, čiji bi krajnji cilj bio postizanje boljeg kvaliteta života pacijenata.

**Ključne reči:** Neonatalni dijabetes, MODY dijabetes, geni uzročnici monogenetskog dijabetesa, NGS

## The Molecular Basis of Monogenic Diabetes

84

Jovana Komazec, Milena Ugrin

Laboratory for Molecular Biomedicine, Institute of Molecular Genetics and Genetic Engineering University of Belgrade, Belgrade, Serbia

Correspondence: milena.ugrin@imgge.bg.ac.rs

### Abstract

Monogenic diabetes is a heterogeneous form of diabetes resulting from defects in a single gene. Defects in monogenic diabetes-related genes disrupt the  $\beta$ -cells function, leading to reduced or impaired insulin secretion and, consequently, hyperglycemia in patients. Products of these genes are mainly transcription factors, followed by membrane channels and proteins with a specific cell function. Most transcription factors involved in monogenic diabetes have a pleiotropic effect expanding the  $\beta$ -cells disfunction with defects in other organs or multisystem disorders. Two main forms of monogenic diabetes are neonatal diabetes, appearing in the first 6 months of life, and the more common, MODY diabetes, that occurs in young adulthood. The most common genes involved in neonatal diabetes are *KCNJ11*, *ABCC8* and *INS*, followed by the 6q24 locus, while in the case of MODY diabetes the two dominant genes *HNF1A* and *GCK* stand out. Although monogenic diabetes is very rare, its recognition among the more common forms of diabetes is of great importance, since therapy, clinical subclassification and presentation, as well as disease prognosis are gene-specific. Modern sequencing technologies (NGS) have found their place in the diagnosis of monogenic diabetes, as this method is irreplaceable when it comes to the analysis of a large number of genes and the heterogeneous phenotype encountered in these patients. Growing knowledge about monogenic diabetes-related genes has singled out this form of diabetes as a good candidate for the implementation of a relatively new concept, the precision diabetes medicine, whose ultimate goal would be achieving a better quality of life for the patients.

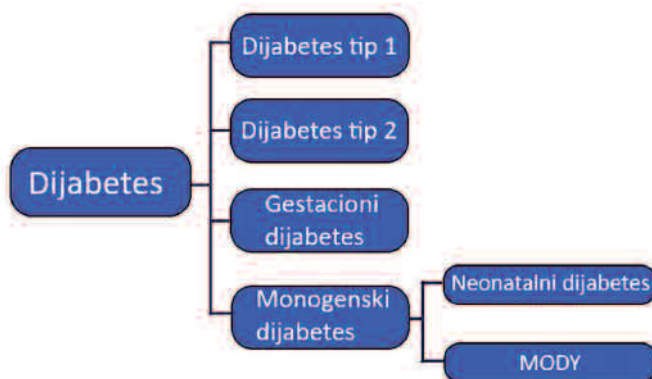
**Key words:** Neonatal diabetes, MODY diabetes, Monogenic diabetes-related genes, NGS

## UVOD

Dijabetes (*Diabetes mellitus*) predstavlja grupu metaboličkih bolesti kojima je zajednički imenitelj hiperglikemija – visok nivo glukoze (šećera) u krvi, nastala zbog deficita u sekreciji insulina ili zbog defekta u njegovom dejstvu ili usled postojanja oba ova poremećaja [1].

Kada se govori o dijabetesu, uglavnom se pominju dva oblika, dijabetes tipa jedan (*Diabetes mellitus* tip 1, DM1) i dijabetes tipa dva (*Diabetes mellitus* tip 2, DM2). Takođe je poznat i gestacioni dijabetes, dok se za monogeniski dijabetes manje zna (Slika 1). Dijabetes tip 1 i dijabetes tip 2 su poligenska obolenja, uzrokovana genskim faktorima, faktorima spoljašnje sredine i načinom života, gestacioni dijabetes specifičan je za stanje trudnoće, dok je monogeniski dijabetes izazvan patogenim varijantama u jednom genu [1, 2]. Sam termin monogeniski dijabetes nije jedinstven, već opisuje veliki broj poremećaja regulacije metabolizma glukoze koji mogu da nastanu usled promena u velikom broju gena (bar 40) dajući isto toliko različitih podtipova [1, 3]. Svi geni dovedeni u vezu sa monogeniskim dijabetesom važni su za diferencijaciju i pravilno funkcionisanje  $\beta$ -ćelija pankreasa. Oni po funkciji koju obavljaju u ćeliji mogu biti transkripcioni faktori, enzimi, proteini sa određenom funkcijom (npr. insulin) ili membranski kanali (Tabela 1). U zavisnosti od gena u kome se desila promena, kao i da li je promena u homozigotnom ili heterozigotnom stanju, fenotip može da varira (Tabela 1) [3].

Monogeniski dijabetes je redak i javlja se kod malog procenta pacijenata sa dijabetesom (1-5%) [4]. Prema vremenu pojavljivanja, deli se na neonatalni dijabetes (Neonatalni dijabetes melitus, NDM), ukoliko se javi u prvih 6 meseci života, i dijabetes adultnog tipa kod mladih (eng. *Maturity-onset diabetes of the Young* - MODY), ukoliko se dijagnostikuje kasnije u adolescentom dobu (Slika 1) [2].



**Slika 1. Uprošćeni šematski prikaz aktuelne klasifikacije dijabetesa.** Na šemi je uprošćena četvrta kategorija dijabetesa - monogeniski dijabetes - koji se nalazi pod opštijim pojmom. Specifični oblici dijabetesa u kojoj je monogeniski dijabetes njen najbrojniji član. Za detaljnu klasifikaciju dijabetesa pogledati reference [1, 2].

### Neonatalni dijabetes i geni uzročnici

Kada se hiperglikemija dijagnostikuje pre 6. meseca života, najčešće je u pitanju neonatalni monogeniski dijabetes [5], dok je pojava DM1 u ovom uzrastu retka [6]. U periodu nakon 6. meseca života neonatalni dijabetes se retko dijagnostikuje, jer je tada uglavnom reč o DM1 [3, 6, 7]. Neonatalni monogeniski dijabetes je veoma redak i procena je da se javlja kod 1 na 100,000 rođene dece [8]. Deli se na tranzijentni neonatalni dijabetes melitus (TNDM) i permanentni neonatalni dijabetes melitus (PNDM) [5]. Dok permanentni NDM zahteva doživotnu primenu terapije, tranzijentni NDM se spontano povlači do 18. meseca života, s tim što ovi pacijenti kasnije u toku života imaju visok rizik dobijanja dijabetesa sa kliničkim odlikama ranog DM2 tipa [9-11].

Za nastanak TNDM odgovoran je nepravilan imprinting lokusa 6q24. Varijante u genima *KCNJ11* i *ABCC8* takođe mogu dovesti do TNDM, međutim ovi geni su mnogo češće odgovorni za nastanak PNDM [9, 12].

Nepravilan imprinting **lokusa 6q24** je odgovoran za pojavu TNDM u oko 70% slučajeva [9]. U ovom regionu, udaljeni jedan od drugog oko 70kb, nalaze se dva gena, *PLAGL1* (eng. *Pleomorphic adenoma gene-like 1*), koji kodira transkripcioni faktor sa cinkanim prstima, i *HYMAI* (eng. *Hydatidiform mole associated and imprinted transcript*), čiji je produkt dugi nekodirajući RNK molekul (eng. *long non-codingRNA, lncRNA*), sa još uvek, neutvrđenom funkcijom [13]. *PLAGL1*, transkripcioni faktor i ko-faktor brojnih proteina i nuklearnih receptora, ima širok spektar uloga u ćeliji učestvujući u modulaciji ćelijskog ciklusa, procesima proliferacije i diferencijacije ćelija, u apoptozi, acetilaciji histona i kao tumor-supresor [14]. Prekomerna ekspresija *PLAGL1* u fetalnom i neonatalnom periodu dovodi do redukcije pankreasa i  $\beta$ -ćelijske mase, oštećene sekrecije insulina i insulinske osetljivosti, kao i promenjene regulaciji gena koji učestvuju u metabolizmu ugljenih hidrata [14]. *PLAGL1* i *HYMAI* geni su imprintovani geni tj, ekspresija se dešava samo



sa paternalnog alela, dok je maternalni alel prirodno utišan kod oba gena. Usled povećane ekspresije paternalnog alela (mehanizmima paternalne uniparentalne dizomije (UDP) ili duplikacije paternalnog alela) ili aktivacije ekspresije maternalnog alela (gubitak metilacije promotora na maternalnom alelu) dolazi do prekomerna ekspresija ova dva gena, što se povezuje sa nastankom TNDM [11].

U **genima *KCNJ11* i *ABCC8***, koji kodiraju dve subjedinice kalijumovog ATP zavisnog kanala ( $K_{ATP}$ ) identifikovan je širok spektar varijanti. U zavisnosti od efekta koji imaju na  $K_{ATP}$  kanal, varijante u ova dva gena mogu da dovedu do pojave različitih bolesti, od kongenitalne hiperinsulinemije, preko MODY dijabetesa i tranzijentnog NDM do permanentnog NDM [12].  $K_{ATP}$  kanal na membrani  $\beta$ -ćelije pankreasa povezuju glukozni metabolizam sa električnom aktivnošću direktno učestvujući u regulaciji sekrecije insulina u odgovoru na date vrednosti glukoze u krvi [12]. Heterozigotne aktivirajuće varijante u *KCNJ11* genu predstavljaju glavni uzrok PNDM [12, 15], a ređe su implikovane u nastanak TNDM [16, 17], dok je obrnuto za varijante u *ABCC8* genu [18]. Aktivirajuće varijante u oba gena onemogućavaju zatvaranje pore  $K_{ATP}$  kanala pri povećanju intracelularnog ATP-a, što sprečava depolarizaciju membrane  $\beta$ -ćelije i sekreciju insulina dovodeći do hiperglikemije (Slika 2) [12]. U većini slučajeva, varijante u *KCNJ11* i *ABCC8* nastaju spontano te vrlo često nije prisutna porodična istorija dijabetesa [12]. Budući da se  $K_{ATP}$  kanali sa subjedinicama kodiranim *KCNJ11* i *ABCC8* genima ekspimiraju i u neuronima i mišićnim ćelijama, određene varijante u ovim genima mogu dovesti do mnogo težeg oblika PNDM koji je udružen sa zastojeom u neuro-motornom razvoju u kombinaciji sa epilepsijom (DEND sindrom, eng. *Developmental delay-epilepsy-neonatal diabetes syndrome*) ili bez (iDEND, *intermediate DEND*) [15, 19, 20].

Varijante u ***INS* genu** su drugi po redu uzrok nastanka PNDM [21]. Heterozigotne varijante *INS* gena utiču na strukturu i biosintezu insulina. Najveći broj do sada detektovanih varijanti ukida mesto za formiranje disulfidnih veza ili narušava postojeće usled čega se javlja nepravilno savijanje proteina. Ovako nepravilno savijen protein ne može da se sekretuje, već se nagomilava u endoplazmatičnom retikulumu (ER) indukujući stres ER i smrt  $\beta$ -ćelije apoptozom [22-24]. Većina ovih varijanti ima dominantno-negativan efekat na insulinski molekul poreklom od *wild-type* alela, a klinička slika može da varira u zavisnosti od mesta u genu gde se desila promena [23]. Kod pacijenata sa varijantama u *INS* genu, dijabetes se javlja nešto kasnije u odnosu na nosioce *KCNJ11* i *ABCC8* varijanti. Iako se varijante mogu naslediti autozomno-dominantno, većina je nastala *de novo* [21].

Homozigotne varijante u genima *GCK* [25], *GATA6* [26], *EIF2AK3* [27], *PDX1* [28], *HNF1B* [29], *NEUROD1* [30] i mnogim drugim [10, 31, 32] odgovorne su za veoma retke oblike PNDM koji je udružen sa drugim sindromima i kod kojih se javljaju poremećaji u strukturi i funkciji drugih organa.

#### *Menadžment pacijenata sa neonatalnim dijabetesom*

Geni *KCNJ11*, *ABCC8* i *INS* su tri najčešća gena odgovorna za nastanak monogenetskog neonatalnog dijabetesa i ukoliko se hiperglikemija detektuje u prvih 6 meseci života potrebno je uraditi genetsko testiranje prvenstveno na ove gene [21]. Na osnovu genetičke etiologije određuje se terapija koja je specifična prema genu uzročniku, i predviđa dalji tok bolesti. Tako se u slučaju varijanti u *KCNJ11* i *ABCC8* genu, daju visoke doze sulfoniluree, umesto insulina, na koju pacijenti veoma dobro reaguju [33, 34]. Usled mutacija, bilo u *KCNJ11* ili *ABCC8* genu, javlja se nemogućnost zatvaranja  $K_{ATP}$  kanala koji reguliše oslobađanje insulina (deficit u sekreciji insulina), dok je endogena produkcija insulina očuvana. Oralno primenjena sulfonilurea premosti ovaj "problem", zatvarajući  $K_{ATP}$  kanale i omogućavajući sekreciju insulina mehanizmom koji je nezavisan od ATP-a (Slika 2) [15]. Suprotno, za nosioce varijanti u *INS* genu, primenjuje se insulin [21]. Pacijenti sa 6q24 TNDM odlikuju se ranijom pojavom dijabetesa u odnosu na pacijente sa *KCNJ11* i *ABCC8* varijantama (prva nedelja vs. deseta nedelja života) [35], kod kojih se za regulaciju hiperglikemije koristi insulin u ranoj fazi (po rođenju), ili niske doze sulfoniluree u slučaju relapsa [11].

#### **MODY dijabetes**

Dijabetes adultnog tipa kod mladih, MODY, je u vreme kada je definisan, predstavljao poseban tip dijabetesa sa odlikama i DM1 i DM2. Javljao se kod dece i adolescenata koji nisu bili gojazni (zajedničko sa DM1), ali nije zahtevao insulin po postavljanju dijagnoze (zajedničko sa DM2) [36].

Klinički, MODY dijabetes predstavlja insulin-nezavisni dijabetes koji nastaje u adolescentnom dobu (pre 25. godine) i koji se nasleđuje na autozomno-dominantan način [36]. Ovim tradicionalnim kriterijumima su dodati i odsustvo autoantitela na  $\beta$ -ćelijske antigene, odsustvo gojaznosti i donekle očuvana endogena produkcija insulina (merljive vrednosti C-peptida). Prisustvo dijabetesa u porodici u dve do tri uzastopne generacije govori u prilog MODY dijabetesu, ali nije nužno budući da promene u genima mogu da nastanu i *de novo* i prvi put se jave kod probanda [37].

Genetički, MODY dijabetes je veoma heterogen što duguje spektru od 14 gena koji su odgovorni za njegov nastanak (Tabela 1B) (OMIM # 606391). U zavisnosti od gena uzročnika, klinička manifestacija, prognoza toka bolesti kao i način lečenja (terapija) variraju, te nije reč o jednom klinički uniformnom tipu dijabetesa, već o četrnaest različitih

MODY podtipova. Geni najčešće odgovorni za MODY dijabetes su *GCK*, *HNF1A*, *HNF4A*, i *HNF1B* (>80% svih MODY slučajeva). Većina studija izdvaja dva gena uzročnika MODY dijabetesa kao izrazito dominantna u populaciji MODY pacijenata. Gen *HNF1A* je vodeći uzročnik MODY dijabetesa u Velikoj Britaniji i Norveškoj detektovan kod, redom, 52% i 45% MODY pacijenata [38, 39], dok je u zemljama južnog regiona Evrope glavni gen uzročnik gen *GCK* detektovan kod bar 50% MODY pacijenata (Španija (80%), Poljska (83%), Grčka (54%), Srbija (50%)) [40-43]. Skorija studija pokazala je da *HNF1B* gen može da bude relativno čest uzročnik MODY dijabetesa, prisutan kod više od 20% MODY pacijenata [43]. Preostali geni predstavljaju retke ili veoma retke uzročnike ovog tipa dijabetesa sa učestalošću koja se kreće oko 1% i manje (Tabela 1B) [4, 44].

*Geni asocirani sa čestim oblicima MODY dijabetesa*

**Gen za enzim glukokinazu (GCK)** nalazi se na 7. hromozomu i čini ga 12 egzona i dva alternativna promotora. Sa takozvanog neuroendokrinog promotora ekspirira se glukokinaza, specifična samo za  $\beta$ -ćelije pankreasa [45]. Glukokinaza je ključni regulatorni enzim metabolizma ugljenih hidrata i katalizuje prvu reakciju glikolitičkog puta, konverziju glukoze u glukozo-6-fosfat (G6P) (Slika 2). Ima presudnu ulogu u regulaciji sekrecije insulina u odnosu na koncentraciju glukoze u krvi (glukozom stimulisana sekrecija insulina, eng. *GSIS*) i predstavlja svojevrsni senzor za glukozu u  $\beta$ -ćelijama [46]. U ovom genu identifikovano je preko 600 različitih varijanti (*missense*, *nonsense*, *frameshift*, *splice site*), koje se, bez primećenog postojanja „*hot spot*“ mesta, javljaju u svim egzonima i promotoru. Najučestalije su *missense* varijante, dok su delecije u *GCK* genu, parcijalne ili delecije celog gena, veoma retke [47]. Za razliku od kodirajućeg regiona, u promotorskom regionu identifikovana je samo jedna varijanta označena kao patogena (-71G>C) [48] i jedan polimorfizam koji je asociran sa povećanjem nivoa glukoze (-30G>A) [49]. Najnovija studija je ukazala na postojanje prvog varijantnog seta u promotorskom regionu (-282C>T, -194A>G, 402C>G) koji može aditivno da utiče na povećanje glikemije kada je glikemija kod pacijenata već narušena [50]. Najveći broj kodirajućih varijanti predstavljaju heterozigotne varijante koje dovode do gubitka funkcije enzima („*loss-of-function*“) i odgovorne su za nastanak GCK-MODY dijabetesa. Ove varijante smanjuju afinitet enzima za supstratom pomerajući glukozni prag na više vrednosti (sa 5mmol/l na 7mmol/l) što dovodi do kasnije aktivacije glukozom stimulisane sekrecije insulina (eng. *GSIS – glucose-stimulated insulin secretion*) (Slika 2) [51]. Pored pomenutih varijanti, javljaju se heterozigotne aktivirajuće varijante koje povećavaju afinitet enzima (uslovi konstantne sekrecije insulina) dovodeći do pojave hiperinsulinemične hipoglikemije, i homozigotne inaktivirajuće varijante ili dvostruko heterozigotne varijante koje su odgovorne za nastanak PNDM [47].

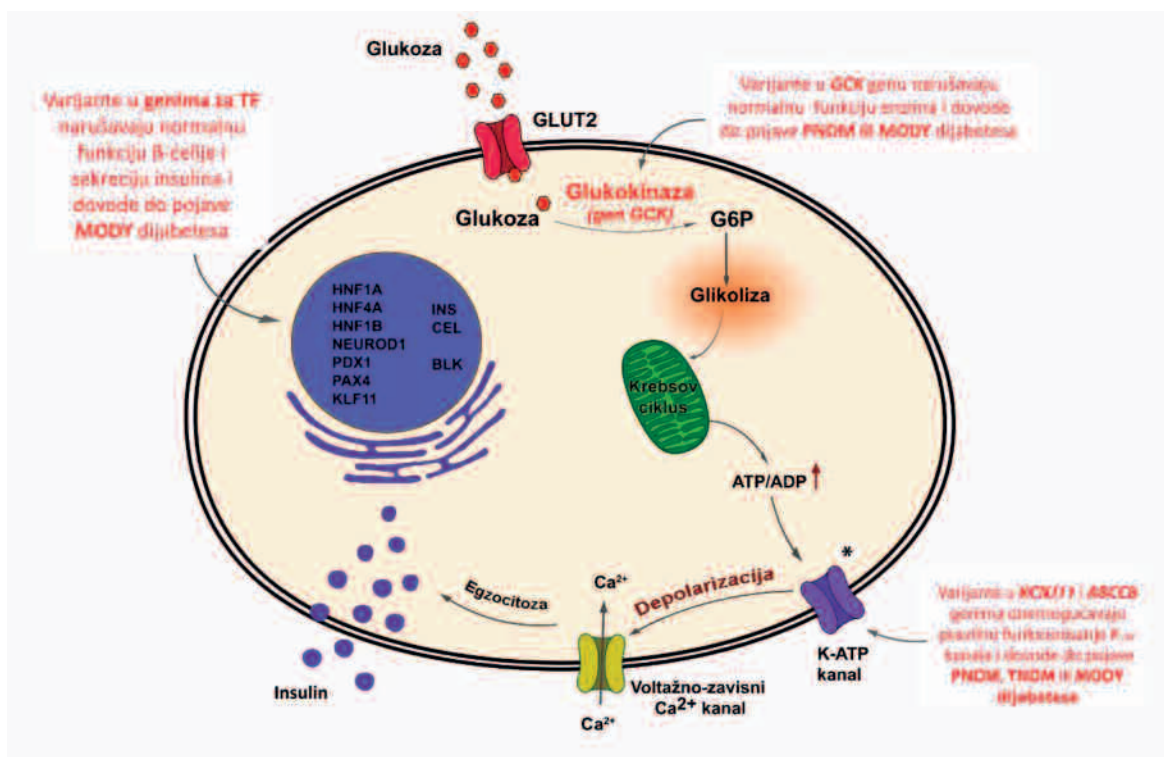
Fenotip GCK-MODY dijabetesa je veoma homogen uprkos velikom broju genskih varijanti koje različito utiču na aktivnost enzima, što se može pripisati kompenzacionoj regulaciji drugog *wild-type* alela [52]. Kod ovih pacijenata regulacija sekrecije insulina je u potpunosti očuvana, ali se dešava pri višoj vrednosti glukoze (između 5.5mmol/l i 8mmol/l) koja odgovara pomećenom glukoznom pragu [51, 53]. GCK-MODY se razlikuje od ostalih MODY podtipova po asimptomatskoj, blagoj i stabilnoj hiperglikemijom koja je prisutna od rođenja, i koja vrlo često ostaje neotkrivena sve do slučajne ili rutinske analize krvi. Budući da je hiperglikemija neprogresivna, a rizik od mikro- i makrovaskularnih komplikacija veoma mali, nosioci ovih varijanti ne zahtevaju terapiju [54]. Izuzetak su trudnice, koje, u zavisnosti od toga kakav je genetički status majke i fetusa, mogu biti podvrgnute insulinskoj terapiji kako bi se sprečile potencijalne komplikacije kod majke i deteta [53, 55].

*Geni koji kodiraju transkripcione faktore HNF familije (HNF1A, HNF4A i HNF1B)*

**HNF1A gen** je esencijalan transkripcioni faktor koji reguliše ekspresiju velikog broja gena u  $\beta$ -ćelijama. Pokazano je da je u ćelijama pankreasa bar 71 gen regulisan HNF1A transkripcionim faktorom [56]. Neki od produkata ovih gena uključeni su u procese regulacije sinteze i sekrecije insulina i odgovora ćelije na povećanje koncentracije glukoze [56, 57] poput gena za insulin (*INS*), *HNF4A* gena (gen uzročnik MODY1 dijabetesa) i *PDX1* gena (gen uzročnik MODY4 dijabetesa) [58]. U bubrežima, gen *HNF1A* reguliše ekspresiju gena *SGLT-2* čiji je produkt natrijumov glukozni transporter u proksimalnim tubulama bubrega [59].

Heterozigotne varijante u genu *HNF1A* dovode do nastanka MODY3 dijabetesa, koji je pored GCK-MODY, jedan od dva najčešća MODY podtipa. U genu *HNF1A* identifikovano je više od 400 različitih varijanti koje su uglavnom svojstvene pojedinačnim familijama. Dominantne su, redom, *missense*, *frameshift* *nonsense*, *splice-site* varijante i *indeli*, a manji postotak čine parcijalne delecije i delecije celog gena. Varijante su pronađene u promotoru i svim egzonima, a egzoni 2 i 4 se izdvajaju kao potencijalna „*hot spot*“ mesta [60]. Promotorske varijante mogu da imaju dualan efekat na ekspresiju gena. Dok većina varijanti, poput c.-283A>C, c.-218T>C, c.-154-160insTGGGGGT smanjuje ekspresiju gena [50, 61], pojedine dovode do povećane ekspresije, npr. c.-128T>C [62]. Bez obzira na efekat, promenjena ekspresija *HNF1A* gena je asocirana sa nastankom MODY dijabetesa. Kada su u pitanju kodirajuće varijante, *in vitro* analize su pokazale da one mogu da dovodu do odsustva ili oslabljenog vezivanja HNF1A transkripcionog faktora za DNK,





**Slika2. Ilustracija  $\beta$ -ćelije pankreasa i osnovnih koraka glukozom stimulisanе sekrecije insulina (eng. GSIS).**

Sa porastom koncentracije glukoze u krvi, iznad bazalnog nivoa ( $\sim 5\text{mmol/l}$ ), glukoza se transportuje u  $\beta$ -ćeliju pankreasa preko glukoznog transportera GLUT2. Ulaskom glukoze u ćeliju glukokinaza (GCK) vrši fosforilaciju glukoze u glukozo-6-fosfat (G6P). U procesima glikolize, Krebsovom ciklusu i oksidativnoj fosforilaciji proizvode se ATP, a povećanje koncentracije ATP-a zatvara kalijumove ATP-zavisne kanale ( $\text{K-ATP}$ ), što dovodi do depolarizacije ćelijske membrane. Depolarizovana membrana je signal za otvaranje voltažno-zavisnih kalcijumovih kanala ( $\text{Ca}^{2+}$ ) i ulaska  $\text{Ca}^{2+}$  jona u ćeliju. Povećanje intracelularne koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  stimuliše egzocitozu insulinskih vezikula i sekreciju insulina.

Crveni tekst: Varijante u genima narušavaju normalnu funkciju produkta gena i dovode do različitih oblika monogenog dijabetesa. Zvezdica (\*) – mesto delovanja sulfoniluree. Sulfonilurea se vezuje za SUR1 subjedinicu  $\text{K-ATP}$  kanala i omogućava zatvaranje kanala, što finalno dovodi do sekrecije insulina.

odsustva ili oslabljene transaktivacije target gena, ili do smanjene stabilnosti HNF1A proteina [57, 63, 64]. Sve ovo ima za posledicu oslabljen odgovor  $\beta$ -ćelije na povećanje koncentracije glukoze, što se manifestuje smanjenom sekrecijom insulina i pojavom hiperglikemije [57, 65].

Priroda ovog dijabetesa je progresivna usled sve većeg propadanja  $\beta$ -ćelija i sve manje sekrecije insulina. Penetrabilnost genskih varijanti u genu *HNF1A* je visoka i do 25. godine života dijabetes će se razviti kod 60% nosilaca varijanti, a do 55. godine skoro kod svih [44]. Inicijalno, usled još uvek dovoljno očuvane endogene produkcije insulina, nosioci genskih varijanti mogu da imaju normalne ili blizu normalne vrednosti glukoze. Vremenom, sve većim propadanjem  $\beta$ -ćelija razvije se hiperglikemija i dijabetes čije je lečenje neophodno kako bi se, sprečile mikro- i makrovaskularne komplikacije svojstvene za ovaj podtip [66].

Nosioci genskih varijanti u genu *HNF1A* su osetljivi na niske doze sulfoniluree. Sulfonilurea se direktno vezuje za svoj receptor (SUR1) koji se nalazi u okviru  $\text{K-ATP}$  zavisnog kanala i stimuliše sekreciju insulina preko njega. Na ovaj način sulfonilurea zaobilazi sve prethodne korake metabolizma glukoze koji su narušeni usled smanjene funkcije HNF1A transkripcionog faktora [67, 68]. Prelazak sa insulina na sulfonilureu je uglavnom veoma uspešan kod ovih pacijenata [69, 70] međutim, usled sve većeg propadanja  $\beta$ -ćelije pankreasa i smanjenja sekrecije insulina, pacijenti postaju neosetljivi na sulfonilureu, te je na kraju insulin neizbežan [70].

**HNF4A gen** se, poput *HNF1A* gena, ekspirira rano tokom embriogeneze u ćelijama jetre, pankreasa i bubrega, ali pre njega [71]. Delujući kao homodimer reguliše ekspresiju velikog broja gena u ćelijama pankreasa, 10 puta većeg nego *HNF1A* gen [56], a sam *HNF1A* gen je jedan od njegovih targeta sa kojim formira unakrsnu regulacionu petlju koja je esencijalna za održavanje diferenciranosti  $\beta$ -ćelija pankreasa [56, 71]. Kao i u slučaju *HNF1A* gena, brojne heterozigotne varijante (*missense*, *frameshift nonsense*, *splice-site*, *indels*) dovode do gubitka funkcije proteina i što je povezano sa nastankom HNF4A-MODY oblika dijabetesa [60].

Fenotip HNF4A-MODY dijabetesa je veoma sličan fenotipu HNF1A-MODY dijabetesa, ali se uočavaju i diskretne razlike koje ih odvajaju jedan od drugog [44]. Tako npr. za HNF1A-MODY dijabetes specifična je pojava glukozurije (ekskrecija glukoze putem urina) [59], dok je specifičnost HNF4A-MODY dijabetesa je dualna priroda glikemije, odnosno postojanje hiperinsulinemične hipoglikemije u neonatalnom periodu koja prelazi u hiperglikemiju kasnije u životu i

<b>Monogeniski dijabetes</b>					
<b>A) Neonatalni dijabetes (1 na 100 000 rođenih)</b>					
Gen	Funkcija gena	Patofiziologija	TN	Fenotip	
<i>Lokus 6q24</i>	Ekspresija sa paternalnog alela	Nepravilan imprinting lokusa 6q24 (ekspresija dva alela)	AD	<b>TNDM:</b> Pojava hiperglikemije u prvim nedeljama života, zastoj u rastu ploda Terapija – Insulin; oralni hipoglikemijski agensi (sulfonilurea)	
<i>KCNJ11</i>	SUR1 Subjedinica $K_{ATP}$ kanala	Poremećaj u sekreciji insulina (nemogućnost zatvaranja $K_{ATP}$ kanala)	AD, AR, <i>de novo</i> .	<b>PNDM, TNDM:</b> Pojava hiperglikemije u prvim nedeljama života, zastoj u rastu ploda. Terapija - Insulin	
<i>ABCC8</i>	Kir6.2 Subjedinica $K_{ATP}$ kanala	Poremećaj u sekreciji insulina (nemogućnost zatvaranja $K_{ATP}$ kanala)	AD, AR, <i>de novo</i> .	<b>TNDM, PNDM:</b> Pojava hiperglikemije u prvim nedeljama života, intrauterin zastoj u rastu ploda. Terapija - Insulin	
<i>INS</i>	Insulin	Poremećaj u biosintezi insulina (nepravilno savijanje proteina)	AD, AR, <i>de novo</i> .	<b>PNDM:</b> Pojava hiperglikemije u prvim nedeljama života, intrauterin zastoj u rastu ploda. Terapija - Insulin	
<b>B) MODY dijabetes</b>					
<b>Najčešći geni uzročnici MODY dijabetesa</b>					
Gen	Funkcija gena	Patofiziologija	TN	Fenotip (% učestalost MODY podtipa)	Raniji naziv
<i>GCK</i>	Glukokinaza (enzim)	Poremećaj u detektovanju glukoze (pomeranje glukoznog praga na više vrednosti)	AD	<b>GCK-MODY (30-50%):</b> blaga, stabilna hiperglikemija, Terapija nije potrebna (ukidanje postojeće)	MODY2
<i>HNF1A</i>	Hepatocitni nuklearni transkripcioni faktor 1A	Progresivno propadanje $\beta$ -ćelije, smanjena produkcija insulina	AD	<b>HNF1A-MODY (30-50%):</b> progresivna hiperglikemija, glukozurija, mikro- i makrovaskularne komplikacije; Terapija - niske doze sulfoniluree	MODY3
<i>HNF4A</i>	Hepatocitni nuklearni transkripcioni faktor 4A	Progresivno propadanje $\beta$ -ćelije, smanjena produkcija insulina,	AD	<b>HNF4A-MODY (5-10%):</b> progresivna hiperglikemija, mikro- i makrovaskularne komplikacije; dualna glikemija, makrozomija. Terapija - niske doze sulfoniluree	MODY1
<i>HNF1B</i>	Hepatocitni nuklearni transkripcioni faktor 1B	Poremećaj u embrionalnom razviću pankreasa, poremećaj funkcije $\beta$ -ćelije	AD, <i>de novo</i> .	<b>HNF1B-MODY (1-5%) i RCAD sindrom:</b> dijabetes asociiran sa abnormalnostima pankreasa, urogenitalnog sistema; varijabilan fenotip, hepatična insulinska rezistencija. Terapija – insulin	MODY5
<b>Retki (&lt;1%) i veoma retki (&lt;&lt;1%) geni uzročnici MODY dijabetesa</b>					
<i>PDX1</i>	Transkripcioni faktor	Poremećaj funkcije $\beta$ -ćelije	AD	<b>PDX1-MODY (&lt;1%):</b> neonatalni dijabetes, pankreasna ageneza. Terapija - dijeta, OHA ili insulin.	MODY4
<i>NEUROD1</i>	Transkripcioni faktor	Poremećaj funkcije $\beta$ -ćelije	AD	<b>NEUROD1-MODY (&lt;1%):</b> dijabetes u odraslom dobu, varijabilan fenotip. Terapija - OHA ili insulin.	MODY6
<i>KLF11</i>	Transkripcioni faktor	Poremećaj funkcije $\beta$ -ćelije	AD	<b>KLF11-MODY (&lt;&lt;1%):</b> fenotip sličan DM2; Terapija - OHA ili insulin.	MODY7
<i>CEL</i>	Karboksil-estar lipaza	Egzokrina i endokrina disfunkcija pankreasa (nepravilno savijanje proteina)	AD	<b>CEL-MODY (&lt;&lt;1%):</b> dijabetes u adultnom dobu, disfunkcija egzokrinog pankreasa, lipomatoza. Terapija - dijeta, OHA ili insulin.	MODY8
<i>PAX4</i>	Transkripcioni faktor	Poremećaj funkcije $\beta$ -ćelije	AD	<b>PAX4-MODY (&lt;&lt;1%):</b> Terapija - dijeta, OHA ili insulin.	MODY9
<i>INS</i>	Insulin	Poremećaj u biosintezi insulina (nepravilno savijanje proteina)	AD	<b>INS-MODY (&lt;1%),</b> pojava u mladom dobu. Terapija – insulin, dijeta, sulfonilurea.	MODY10
<i>BLK</i>	B limfocitna kinaza	Poremećaj u sekreciji insulina	AD	<b>BLK-MODY (&lt;&lt;1%):</b> dijabetes u odraslom dobu.	MODY11
<i>ABCC8</i>	SUR1 Subjedinica $K_{ATP}$ kanala	Poremećaj u sekreciji insulina (nemogućnost zatvaranja $K_{ATP}$ kanala)	AD	<b>ABCC8-MODY (&lt;1%):</b> klinički fenotip sličan HNF1A/4A-MODY Terapija - visoke doze sulfoniluree.	MODY12
<i>KCNJ11</i>	Kir6.2 Subjedinica $K_{ATP}$ kanala	Poremećaj u sekreciji insulina (nemogućnost zatvaranja $K_{ATP}$ kanala)	AD	<b>KCNJ11-MODY (&lt;&lt;1%):</b> pojava dijabetesa u odraslom dobu. Terapija - visoke doze sulfoniluree;	MODY13
<i>APPL1</i>	Adapterski protein u signalnom putu (interakcija sa AKT2 u signalnom putu insulina)	Poremećaj u sekreciji insulina	AD	<b>APPL1-MODY (&lt;&lt;1%):</b> pojava dijabetesa u odraslom dobu. Terapija - dijeta, OHA ili insulin	MODY 14

TN – tip nasleđivanja (AD -autozomno-dominantno, AR – autozomno-recesivno; OHA – oralni hipoglikemijski agensi (npr. sulfonilurea).

Tabela 1. Geni uzročnici najčešćih oblika monogeniskog dijabetesa

rezultuje dijabetesom [72]. Poput pacijenata sa HNF1A-MODY dijabetesom HNF4A-MODY pacijenti su osetljivi na sulfonilureu, te uspešno reaguju na niske doze sulfoniluree [3].

**Gen HNF1B**, ekspirira se ranim fazama embrionalnog razvića, pre *HNF1A* i *HNF4A* gena, i uključen je u organogenezu pankreasa, jetre, urogenitalnog trakta, bubrega, creva i pluća [71]. Budući da učestvuje u regulaciji diferencijacije pomenutih organa, negativan efekat patogenih varijanti je dalekosežniji zbog čega se kod nosioca ovih promena često javljaju multisistemski poremećaji koji zahvataju te organe [73-75].

Genske promene u *HNF1B* genu obuhvataju nukleotidne zamene, manje delecije i insercije nukleotida, ali i parcijalne delecije i delecije celog gena, koje su podjednako učestale kao i *missense* varijante zastupljene sa 31% [74, 76]. Velike delecije su specifične za *HNF1B* gen budući da je gen smešten u regionu hromozoma 17 koji je podložan genomskim rearanžmanima i velikim delecijama koje nastaju nehomologom rekombinacijom [77]. Genske varijante su raspoređene po celom kodirajućem regionu sa dominantnom distribucijom u prva četiri egzona [73].

Varijante u *HNF1B* genu su prvobitno bile asocirane sa pojavom HNF1B-MODY dijabetesa, međutim ustanovljeno je da je prisustvo renalnih aberacija različitog tipa, pre svega cisti, primarna odlika često prisutna i pre pojave dijabetesa [74]. Zbog istovremenog prisustva dijabetesa i cisti na bubrezima HNF1B-MODY dijabetes je prepoznatljiv još i kao *RCAD* sindrom (eng. *Renal Cysts and Diabetes Syndrome*). Pojava cisti na bubrezima je u direktnoj vezi sa smanjenom transkripcionom aktivacijom tzv. cističnih gena *PKHD1*, *PKD1* i *UMOD*, koji se nalaze pod kontrolom *HNF1B* gena [75, 78]. HNF1B je ključni faktor u transkripcionoj mreži koja reguliše diferencijaciju pankreasa tokom embrionalnog razvića, a aberacije u ovom genu su direktno povezane sa hipoplazijom (smanjena masa) i promenama na pankreasu [77]. Ovakve promene se uočavaju kod heterozigotnih nosilaca genskih varijanti u *HNF1B* genu. Pojava dijabetesa kod nosilaca varijanti je posledica disfunkcije  $\beta$ -ćelija usled čega je smanjena sekrecija insulina, što je verovatno posledica pankreasne hipoplazije [75, 77].

Nije pokazano da fenotip HNF1B-MODY pacijenata zavisi od vrste promene u genu, tj, fenotip pacijenata je sličan bez obzira da li se radi o parcijalnoj ili deleciji celog gena ili promeni pojedinačnog nukleotida [76]. Penetrabilnost varijanti je varijabilna te bolest može da nastane rano u detinjstvu ili kasnije u adultnom dobu [78]. HNF1B-MODY ima autozomno-dominantni obrazac nasleđivanja, međutim u oko 50% slučajeva ovaj MODY nastaje spontano, zbog čega ne postoji istorija dijabetesa i/ili bolesti asocirane sa bubrezima u porodici [74]. Nosioci varijanti u *HNF1B* genu, za razliku od nosioca varijanti u *HNF1A/4A* genu nisu osetljivi na sulfonilureu, te se dijabetes reguliše insulinskom terapijom, a za poremećaj funkcije bubrega primenjuje se terapija svojstvena za bolesti bubrega [77].

*Geni asocirani sa retkim i veoma retkim oblicima MODY dijabetesa*

**PDX1 gen** (eng. *Pancreatic duodenal homeobox gene 1*, *PDX1*) kodira PDX1 transkripcioni faktor sa homeodomenom koji je prvobitno identifikovan kao aktivator gena za insulin i somatostatin. U toku ranog embrionalnog razvića ekspirira se u pankreasu za čiju je diferencijaciju neophodan. U adultnoj ćeliji potreban je za održavanje identiteta  $\beta$ -ćelije pankreasa. Regulise ekspresiju nekoliko gena (*INS*, *GLUT2*, *GCK*), uključenih u metabolizam glukoze [79]. Heterozigotne varijante identifikovane u *PDX1* genu su asocirane sa nastankom PDX1-MODY dijabetesa (MODY4), dok su homozigotne i bialelne varijante odgovorne za pojavu neonatalnog dijabetesa [28, 80].

**NEUROD1 gen**, poznat još i kao *BETA2*, kodira neurogeni faktor diferencijacije (NEUROD1), transkripcioni faktor koji se ekspirira u endokrinim ćelijama pankreasa, crevima i određenim neuronima centralnog i perifernog sistema [81]. Pripada familiji bHLH transkripcionih faktora i vezuje se za E-elemente (E-box sequences) u promotorima gena *INS*, *SUR1* (*ABCC8*), *GCK*, *PAX6*, važnih za održavanje glukozne homeostaze, stimulišući njihovu ekspresiju [82-85]. Heterozigotne varijante identifikovane u *NEUROD1* genu su odgovorne za pojavu retkog oblika monogenskog dijabetesa NEUROD1-MODY (MODY6) podtipa. Najveći broj varijanti, uglavnom *frameshift* i *missense*, asociran sa NEUROD1-MODY dijabetesom je identifikovan u transaktivacionom domenu [86]. Nosioci varijanti u NEUROD1 genu odlikuju se varijabilnim fenotipom, a terapija može da varira od dijete do insulina [87-89]. Homozigotne varijante u *NEUROD1* genu dovode do pojave PNDM koji može da bude udružen sa neurološkim poremećajima kao što su zastoj u razvoju, sensorineuralna gluvoća, oslabljen vid, cerebralna hipoplazija [30].

*Krueppel-like factor 11* transkripcioni faktor je produkt **gena KLF11** koji se ekspirira u  $\beta$ -ćelijama pankreasa. Vezuje se za promotor *INS* gena i učestvuje u finoj regulaciji transkripcije gena za insulin (*INS*) delujući i kao represor i kao aktivator transkripcije u zavisnosti od ćelijskih uslova [90, 91]. Regulise i ekspresiju gena *PDX1* gena, odgovornog za pojavu PDX1-MODY dijabetesa, što ukazuje na postojanje složene interakcije ovih gena putem koje se reguliše sekrecija insulina u  $\beta$ -ćelijama pankreasa [90, 92]. Heterozigotne varijante u *KLF11* genu dovode do pojave KLF11-MODY (MODY7) dijabetesa. Pokazano je da ove varijante smanjuju transkripcionu aktivnost KLF11 transkripcionog faktora ili utiču na vezivanje kofaktora, što za posledicu ima redukciju promotorske aktivnosti gena za insulin [91, 93]. Na kliničkom nivou nosioci ovih promena ispoljavaju simptome rano nastalog DM2 ili dijabetesa tipa 1 B [91, 93].



Produkt gena **CEL** je enzim karboksil-estar lipaza, glavna komponenta pankreasnog soka, odgovorna za hidrolizu holesterol estara. Ekspirira se u ćelijama egzokrinog pankreasa, ćelijama mlečnih žlezda, ali ne i u  $\beta$ -ćelijama. Gen **CEL** je veoma polimorfan što duuguje VNTR ponovcima u poslednjem jedanaestom egzonu, kojih je najčešće 16 u zdravoj populaciji [94]. VNTR ponovci nisu od značaja za obavljanje funkcije enzima (ne utiču na katalitičku aktivnost ili aktivaciju enzima), ali jesu za pravilno savijanje, sekreciju i stabilnost [95]. Delecije pojedinačnog nukleotida u jedanaestom egzonu menjaju sekvencu C-terminusa proteina i dovode do nepravilnog savijanja proteina (mutiran protein) koji ima tendenciju da formira ekstracelularne agregate. Ove promene su povezane sa pojavom sindroma egzokrine disfunkcije i dijabetesa, što je još poznato i kao CEL-MODY (MODY8) dijabetes [94]. *In vitro* studije su pokazale da se nakon egzocitoze javlja re-internalizacija agregata mutiranog proteina u acinusne i  $\beta$ -ćelije pankreasa što ima citotoksično dejstvo na ćeliju [96]. Dijabetes nastaje kao posledica prvo propadanja ćelija egzokrinog pankreasa koje potom zahvata i okolne endokrine ćelija, što objašnjava pojavu prvo egzokrine disfunkcije kod nosilaca ovih promena, pa tek onda dijabetesa kasnije u životu [97].

PAX4 (eng. *Paired box 4*) je transkripcioni faktor, produkt **PAX4 gena**, koji se ekspirira rano tokom embrionalnog razvića i neophodan je za diferencijaciju endokrinih progenitorskih ćelija u  $\beta$ -ćelije pankreasa, dok je u adultnom pankreasu važan za regeneraciju  $\beta$ -ćelija [98]. Heterozigotne varijante u **PAX4** genu dovode do pojave retkog PAX4-MODY (MODY 9) dijabetesa, sa heterogenom kliničkom prezentacijom, opisan kod malog broja pacijenata [99, 100].

**INS gen** je asociran sa nastankom NDM. Mnogo ređe, varijante u **INS** genu mogu dovesti do pojave autozomno-dominantnog oblika dijabetesa INS-MODY (MODY10) koji se javlja kasnije i manifestuje blažim kliničkom slikom u odnosu na NDM [21].

B limfocitna kinaza, produkt gena **BLK**, osim u B limfocitima, ekspirira se u  $\beta$ -ćelijama pankreasa. BLK predstavlja modulator sinteze i sekrecije insulina, povećavajući ekspresiju gena **PDX1** i **Nkx6.1** u uslovima visoke koncentracije glukoze. Do sada je samo jedna promena dovedena u vezu sa MODY dijabetesom (BKL-MODY, MODY11), za koju su *in vitro* analize su pokazale da varijanta skoro potpuno suprimira ekspresiju gena **PDX1** i **Nkx6.1** uključenih u regulaciju sinteze i sekrecije insulina [101].

Heterozigotne varijante u genima **KCNJ11** i **ABCC8** retko dovode do autozomno-dominantnog dijabetesa koji se prezentuje u adultnom dobu i dovode do pojave dva MODY podtipova KCNJ11-MODY (MODY12) i ABCC8-MODY (MODY13). Varijante u ovim genima su najčešće odgovorne za nastanak NDM [34, 102, 103].

**Gen APPL1** (eng. *Adaptor Protein, Phosphotyrosine Interaction, PH domain, and leucine zipper containing 1*) je poslednji gen stavljen na listu gena uzročnika MODY dijabetesa (APPL1-MODY, MODY14). Ekspirira se u jetri, adipoznom tkivu, mišićima i pankreasu. APPL1 je protein koji ima više funkcionalnih domena preko kojih stupa u interakciju sa drugim proteinima, uključujući i ključne proteine insulinskog signalnog puta. Opisane su dve heterozigotne varijante asocirane sa MODY dijabetesom koje dovode do gubitka funkcije proteina i smanjene sekrecije insulina [104].

#### *Menadžment pacijenata sa MODY dijabetesom*

Postavljanje dijagnoze MODY dijabetesa je izazov za lekare zbog relativno male učestalosti MODY dijabetesa i preklapanja kliničkih odlika MODY dijabetesa sa DM1 i DM2 [37]. Procena je da 80% pacijenata sa MODY dijabetesom nije prepoznato, već ima dijagnozu jednog od dva najčešća tipa, DM1 ili DM2 [4, 37]. Potraga za MODY dijabetesom među ovim mnogo rasprostranjenijim oblicima je od izuzetnog značaja za pacijente zbog toga što su terapija, dalji klinički tok i prognoza bolesti gen-specifični. Po dobijanju pozitivnog rezultata genetičkog testa, MODY pacijenti najčešće menjaju terapiju. Kod potvrđenih GCK-MODY pacijenata ukida se postojeća terapije, HNF1A/4A-MODY pacijenti mogu da sa egzogenog insulina pređu na niske doze sulfoniluree, a KCNJ11/ABCC8-MODY na visoke doze sulfoniluree [34, 53, 69]. Sa terapijom koja je postavljena na osnovu gena uzročnika pacijenti postižu bolju regulaciju glikemije. Osim terapije, benefiti genetičke dijagnoze se ogledaju i u mogućnosti da se predvidi dalji tok dijabetesa: da li je stabilan (GCK-MODY) ili progresivan (HNF1A/4A-MODY); da li postoji nizak (GCK-MODY) ili visok rizik od vaskularnih komplikacija (HNF1A/4A-MODY) ili da li je udružen sa poremećajima koji zahvataju druge organe (HNF1B-MODY, CEL-MODY) [53, 54, 74]. S obzirom na to da je reč o dijabetesu koji se nasleđuje sa 50% verovatnoće od roditelja, i drugi članovi porodice mogu da se testiraju [4, 54].

#### **Strategije za genetičku analizu monogenetskog dijabetesa**

Postavljanje genetičke dijagnoze monogenetskog dijabetesa podrazumeva sekvenciranje gena i danas postoje različite strategije, od sekvenciranja pojedinačnog gena ili grupe gena do masovnog sekvenciranja velikog broja gena, bilo targetovano sekvenciranje ili sekvenciranje egzoma [43, 105-107]. Odabir strategije zavisi od više faktora: od kliničke slike pacijenta, tehnoloških mogućnosti i finansijske pristupačnosti. Genetička analiza jednog gena ili grupe gena (eng. *single or multi gene-target approach*) podrazumeva da se prethodno na kliničkom nivou odredi MODY podtip

kod pacijenta. Prednost ove strategije je što može biti ekonomski pristupačnija ako se analiziraju jedan ili dva gena, a mana je što ukoliko se ne pronađu promene u datim genima, može se dobiti lažno negativan rezultat, što pacijenta vraća na početak i zahteva nove laboratorijske analize i troškove [108]. Analiza grupe gena, ako se primenjuje klasično sekvenciranje (npr. samo najčešći geni) generalno je vremenski zahtevnija i može se ispostaviti da je skupa (npr. za analizu *GCK*, *HNF1A* i *HNF4A* gena treba ukupno sekvencirati 31 egzon). S toga treba ispitati isplativost ovakve analize i razmotriti NGS pristup (sekvenciranje nove generacije, eng. *Next generation sequencing*, *NGS*) i odgovarajući panel gena (npr. svi *MODY* geni). Sekvenciranje nove generacije je metoda izbora koja sve više nalazi primenu u genetičkim analizama. Ova metoda omogućava sekvenciranje velikog broja gena, reda veličine nekoliko hiljada, za relativno kratko vreme (2-3 dana). Kada se kod pacijenata uoči heterogen fenotip na osnovu kojeg nije moguće pretpostaviti o kom genu uzročniku je reč, sekvenciranje egzoma je preporučena metoda [43, 108]. Iako ekonomski još uvek nije svima pristupačna, ona je nezamenjiva kada je u pitanju veliki broj gena, kao i heterogen fenotip bolesti koji se sreće i kod monogenetskog dijabetesa.

Premda se NGS tehnologijom može očitati sekvenca svih gena od interesa, propust može da nastane kada su u pitanju geni koji se odlikuju velikim delecijama (parcijalne ili delecije celog gena kao u slučaju *HNF1B* gena) ili duplikacijama. Velike delecije nisu isključene ni za *GCK*, *HNF1A/4A* gene, ali su one u njima veoma retke [47, 60]. MLPA (eng. *Multiplex ligation-dependent probe amplification*) metodom mogu da se detektuju velike delecije u *MODY* genima, a MS-MLPA (eng. *Methylation-Specific MLPA*) je pogodna za detekciju aberacija lokusa 6q24 kod TNDM. Kombinovana primena ove dve metode, NGS i MLPA, predstavlja najsveobuhvatniji pristup za detekciju varijanti u genima monogenetskog dijabetesa kod suspektih pacijenata [43, 109].

## ZAKLJUČAK

Zahvaljujući napretku tehnologije otkriven je veliki broj gena koji se dovodi u vezu sa nastankom monogenetskog dijabetesa. Patofiziološki mehanizmi monogenetskog dijabetesa su bolje izučeni i shvaćeni nego kod drugih oblika dijabetesa. Ova rastuća saznanja su izdvojila monogeniski dijabetes u odnosu na ostale oblike po tome što su klinička slika (fenotip), prognoza toka bolesti i pre svega terapija, gen-specifični, sa minimalnim uticajem spoljašnjih (negenetičkih) faktora. Stoga je ovaj tip dijabetesa, monogeniski dijabetes, dobar kandidat za implementaciju relativno novog koncepta, precizne medicine dijabetesa [110, 111]. Primena precizne medicine kod monogenetskog dijabetesa takođe predstavlja platformu za primenu ovog načina lečenja kod drugih, češćih oblika dijabetesa. Na taj način lečenje svakog pojedinačnog pacijenata prilagođava se njegovim potrebama uzimajući u obzir individualne karakteristike (genetička osnova; sredinski uslovi), što pacijentu obezbeđuje najbolju moguću terapiju i prognozu bolesti, i približava krajnjem cilju, a to je bolji kvalitet života.

## ZAHVALNICA.

Izrada ovog rada je omogućena zahvaljujući projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije – broj ugovora 451-03-9/2021-14/200042.

## LITERATURA

1. World Health O. Classification of diabetes mellitus. Geneva: World Health Organization; 2019 2019.
2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care*. 2018;41(Suppl 1):S13-s27.
3. Hattersley AT, Greeley SAW, Polak M, Rubio-Cabezas O, Njølstad PR, Mlynarski W, et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2018;19 Suppl 27:47-63.
4. Firdous P, Nissar K, Ali S, Ganai BA, Shabir U, Hassan T, et al. Genetic Testing of Maturity-Onset Diabetes of the Young Current Status and Future Perspectives. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:253.
5. Barbetti F, D'Annunzio G. Genetic causes and treatment of neonatal diabetes and early childhood diabetes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2018;32(4):575-91.
6. Edghill EL, Dix RJ, Flanagan SE, Bingley PJ, Hattersley AT, Ellard S, et al. HLA genotyping supports a nonautoimmune etiology in patients diagnosed with diabetes under the age of 6 months. *Diabetes*. 2006;55(6):1895-8.
7. lafusco D, Stazi MA, Cotichini R, Cotellessa M, Martinucci ME, Mazzella M, et al. Permanent diabetes mellitus in the first year of life. *Diabetologia*. 2002;45(6):798-804.
8. lafusco D, Massa O, Pasquino B, Colombo C, Iughetti L, Bizzarri C, et al. Minimal incidence of neonatal/infancy onset diabetes in Italy is 1:90,000 live births. *Acta Diabetol*. 2012;49(5):405-8.
9. Temple IK, Gardner RJ, Mackay DJ, Barber JC, Robinson DO, Shield JP. Transient neonatal diabetes: widening the understanding of the etiopathogenesis of diabetes. *Diabetes*. 2000;49(8):1359-66.



10. Rubio-Cabezas O, Ellard S. Diabetes mellitus in neonates and infants: genetic heterogeneity, clinical approach to diagnosis, and therapeutic options. *Horm Res Paediatr*. 2013;80(3):137-46.
11. Temple IK, Shield JP. 6q24 transient neonatal diabetes. *Rev Endocr Metab Disord*. 2010;11(3):199-204.
12. Flanagan SE, Clauin S, Bellanné-Chantelot C, de Lonlay P, Harries LW, Gloyn AL, et al. Update of mutations in the genes encoding the pancreatic beta-cell K(ATP) channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and sulfonylurea receptor 1 (ABCC8) in diabetes mellitus and hyperinsulinism. *Hum Mutat*. 2009;30(2):170-80.
13. Arima T, Drewell RA, Oshimura M, Wake N, Surani MA. A novel imprinted gene, HYMAI, is located within an imprinted domain on human chromosome 6 containing ZAC. *Genomics*. 2000;67(3):248-55.
14. Vega-Benedetti AF, Saucedo C, Zavattari P, Vanni R, Zugaza JL, Parada LA. PLAGL1: an important player in diverse pathological processes. *J Appl Genet*. 2017;58(1):71-8.
15. Gloyn AL, Pearson ER, Antcliff JF, Proks P, Bruining GJ, Slingerland AS, et al. Activating mutations in the gene encoding the ATP-sensitive potassium-channel subunit Kir6.2 and permanent neonatal diabetes. *N Engl J Med*. 2004;350(18):1838-49.
16. Yorifuji T, Nagashima K, Kurokawa K, Kawai M, Oishi M, Akazawa Y, et al. The C42R mutation in the Kir6.2 (KCNJ11) gene as a cause of transient neonatal diabetes, childhood diabetes, or later-onset, apparently type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(6):3174-8.
17. Liu L, Nagashima K, Yasuda T, Liu Y, Hu HR, He G, et al. Mutations in KCNJ11 are associated with the development of autosomal dominant, early-onset type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2013;56(12):2609-18.
18. Ovsyannikova AK, Rymar OD, Shakhshneider EV, Klimontov VV, Koroleva EA, Myakina NE, et al. ABCC8-Related Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY12): Clinical Features and Treatment Perspective. *Diabetes Ther*. 2016;7(3):591-600.
19. Masia R, Koster JC, Tumini S, Chiarelli F, Colombo C, Nichols CG, et al. An ATP-binding mutation (G334D) in KCNJ11 is associated with a sulfonylurea-insensitive form of developmental delay, epilepsy, and neonatal diabetes. *Diabetes*. 2007;56(2):328-36.
20. Zwaveling-Soonawala N, Hagebeuk EE, Slingerland AS, Ris-Stalpers C, Vulmsa T, van Trotsenburg AS. Successful transfer to sulfonylurea therapy in an infant with developmental delay, epilepsy and neonatal diabetes (DEND) syndrome and a novel ABCC8 gene mutation. *Diabetologia*. 2011;54(2):469-71.
21. Edghill EL, Flanagan SE, Patch AM, Boustred C, Parrish A, Shields B, et al. Insulin mutation screening in 1,044 patients with diabetes: mutations in the INS gene are a common cause of neonatal diabetes but a rare cause of diabetes diagnosed in childhood or adulthood. *Diabetes*. 2008;57(4):1034-42.
22. Meur G, Simon A, Harun N, Virally M, Dechaume A, Bonnefond A, et al. Insulin gene mutations resulting in early-onset diabetes: marked differences in clinical presentation, metabolic status, and pathogenic effect through endoplasmic reticulum retention. *Diabetes*. 2010;59(3):653-61.
23. Støy J, Edghill EL, Flanagan SE, Ye H, Paz VP, Pluzhnikov A, et al. Insulin gene mutations as a cause of permanent neonatal diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(38):15040-4.
24. Colombo C, Porzio O, Liu M, Massa O, Vasta M, Salardi S, et al. Seven mutations in the human insulin gene linked to permanent neonatal/infancy-onset diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 2008;118(6):2148-56.
25. Njølstad PR, Søvik O, Cuesta-Muñoz A, Bjørkhaug L, Massa O, Barbetti F, et al. Neonatal diabetes mellitus due to complete glucokinase deficiency. *N Engl J Med*. 2001;344(21):1588-92.
26. Chao CS, McKnight KD, Cox KL, Chang AL, Kim SK, Feldman BJ. Novel GATA6 mutations in patients with pancreatic agenesis and congenital heart malformations. *PLoS One*. 2015;10(2):e0118449.
27. Delépine M, Nicolino M, Barrett T, Golamaully M, Lathrop GM, Julier C. EIF2AK3, encoding translation initiation factor 2-alpha kinase 3, is mutated in patients with Wolcott-Rallison syndrome. *Nat Genet*. 2000;25(4):406-9.
28. De Franco E, Shaw-Smith C, Flanagan SE, Edghill EL, Wolf J, Otte V, et al. Biallelic PDX1 (insulin promoter factor 1) mutations causing neonatal diabetes without exocrine pancreatic insufficiency. *Diabet Med*. 2013;30(5):e197-200.
29. Edghill EL, Bingham C, Slingerland AS, Minton JA, Noordam C, Ellard S, et al. Hepatocyte nuclear factor-1 beta mutations cause neonatal diabetes and intrauterine growth retardation: support for a critical role of HNF-1beta in human pancreatic development. *Diabet Med*. 2006;23(12):1301-6.
30. Rubio-Cabezas O, Minton JA, Kantor I, Williams D, Ellard S, Hattersley AT. Homozygous mutations in NEUROD1 are responsible for a novel syndrome of permanent neonatal diabetes and neurological abnormalities. *Diabetes*. 2010;59(9):2326-31.
31. Lemelman MB, Letourneau L, Greeley SAW. Neonatal Diabetes Mellitus: An Update on Diagnosis and Management. *Clin Perinatol*. 2018;45(1):41-59.
32. Dahl A, Kumar S. Recent Advances in Neonatal Diabetes. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2020;13:355-64.
33. Pearson ER, Flechtner I, Njølstad PR, Malecki MT, Flanagan SE, Larkin B, et al. Switching from insulin to oral sulfonylureas in patients with diabetes due to Kir6.2 mutations. *N Engl J Med*. 2006;355(5):467-77.
34. Bowman P, Flanagan SE, Edghill EL, Damhuis A, Shepherd MH, Paisey R, et al. Heterozygous ABCC8 mutations are a cause of MODY. *Diabetologia*. 2012;55(1):123-7.
35. Letourneau LR, Carmody D, Wroblewski K, Denson AM, Sanyoura M, Naylor RN, et al. Diabetes Presentation in Infancy: High Risk of Diabetic Ketoacidosis. *Diabetes Care*. 2017;40(10):e147-e8.
36. Fajans SS, Bell GI. MODY: history, genetics, pathophysiology, and clinical decision making. *Diabetes Care*. 2011;34(8):1878-84.
37. Shields B, Colclough K. Towards a systematic nationwide screening strategy for MODY. *Diabetologia*. 2017;60(4):609-12.
38. Shields BM, Hicks S, Shepherd MH, Colclough K, Hattersley AT, Ellard S. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): how many cases are we missing? *Diabetologia*. 2010;53(12):2504-8.
39. Søvik O, Irgens HU, Molnes J, Sagena JV, Bjørkhaug L, Ræder H, et al. Monogenic diabetes mellitus in Norway. *Norsk Epidemiologi*. 2013;23(1).
40. Estalella I, Rica I, Perez de Nanclares G, Bilbao JR, Vazquez JA, San Pedro JJ, et al. Mutations in GCK and HNF-1alpha explain the majority of cases with clinical diagnosis of MODY in Spain. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007;67(4):538-46.
41. Fendler W, Borowiec M, Baranowska-Jazwiecka A, Szadkowska A, Skala-Zamorowska E, Deja G, et al. Prevalence of monogenic diabetes amongst Polish children after a nationwide genetic screening campaign. *Diabetologia*. 2012;55(10):2631-5.
42. Tatsi C, Kanaka-Gantenbein C, Vazeou-Gerassimidi A, Chrysis D, Delis D, Tentolouris N, et al. The spectrum of HNF1A gene mutations in Greek patients with MODY3: relative frequency and identification of seven novel germline mutations. *Pediatr Diabetes*. 2013;14(7):526-34.
43. Komazec J, Zdravkovic V, Sajic S, Jesic M, Andjelkovic M, Pavlovic S, et al. The importance of combined NGS and MLPA genetic tests for differential diagnosis of maturity onset diabetes of the young. *Endokrynol Pol*. 2019;70(1):28-36.
44. Lachance CH. Practical Aspects of Monogenic Diabetes: A Clinical Point of View. *Can J Diabetes*. 2016;40(5):368-75.

45. Iynedjian PB. Molecular physiology of mammalian glucokinase. *Cell Mol Life Sci.* 2009;66(1):27-42.
46. Matschinsky FM. Glucokinase, glucose homeostasis, and diabetes mellitus. *Curr Diab Rep.* 2005;5(3):171-6.
47. Osbak KK, Colclough K, Saint-Martin C, Beer NL, Bellanné-Chantelot C, Ellard S, et al. Update on mutations in glucokinase (GCK), which cause maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemic hypoglycemia. *Hum Mutat.* 2009;30(11):1512-26.
48. Gasperiková D, Tribble ND, Stanik J, Hucková M, Misovicová N, van de Bunt M, et al. Identification of a novel beta-cell glucokinase (GCK) promoter mutation (-71G>C) that modulates GCK gene expression through loss of allele-specific Sp1 binding causing mild fasting hyperglycemia in humans. *Diabetes.* 2009;58(8):1929-35.
49. Rose CS, Ek J, Urhammer SA, Glümer C, Borch-Johnsen K, Jørgensen T, et al. A -30G>A polymorphism of the beta-cell-specific glucokinase promoter associates with hyperglycemia in the general population of whites. *Diabetes.* 2005;54(10):3026-31.
50. Komazec J, Ristivojevic B, Zukic B, Zdravkovic V, Karan-Djurasevic T, Pavlovic S, et al. Analysis of the promoter regions of disease-causing genes in maturity-onset diabetes of the young patients. *Mol Biol Rep.* 2020;47(9):6759-68.
51. Matschinsky FM, Magnuson MA. Glucokinase and glycemic disease: from basics to novel therapeutics. Basel: S Karger AG; 2004. ix + 406 pp. p.
52. Sreenan SK, Cockburn BN, Baldwin AC, Ostrega DM, Levisetti M, Grupe A, et al. Adaptation to hyperglycemia enhances insulin secretion in glucokinase mutant mice. *Diabetes.* 1998;47(12):1881-8.
53. Carmody D, Naylor RN, Bell CD, Berry S, Montgomery JT, Tadie EC, et al. GCK-MODY in the US National Monogenic Diabetes Registry: frequently misdiagnosed and unnecessarily treated. *Acta Diabetol.* 2016;53(5):703-8.
54. McDonald TJ, Ellard S. Maturity onset diabetes of the young: identification and diagnosis. *Ann Clin Biochem.* 2013;50(Pt 5):403-15.
55. Dickens LT, Letourneau LR, Sanyoura M, Greeley SAW, Philipson LH, Naylor RN. Management and pregnancy outcomes of women with GCK-MODY enrolled in the US Monogenic Diabetes Registry. *Acta Diabetol.* 2019;56(4):405-11.
56. Odom DT, Zizlsperger N, Gordon DB, Bell GW, Rinaldi NJ, Murray HL, et al. Control of pancreas and liver gene expression by HNF transcription factors. *Science.* 2004;303(5662):1378-81.
57. Haliyur R, Tong X, Sanyoura M, Shrestha S, Lindner J, Saunders DC, et al. Human islets expressing HNF1A variant have defective  $\beta$  cell transcriptional regulatory networks. *J Clin Invest.* 2019;129(1):246-51.
58. Yamagata K. Regulation of pancreatic beta-cell function by the HNF transcription network: lessons from maturity-onset diabetes of the young (MODY). *Endocr J.* 2003;50(5):491-9.
59. Pontoglio M, Prié D, Cheret C, Doyen A, Leroy C, Froguel P, et al. HNF1alpha controls renal glucose reabsorption in mouse and man. *EMBO Rep.* 2000;1(4):359-65.
60. Colclough K, Bellanne-Chantelot C, Saint-Martin C, Flanagan SE, Ellard S. Mutations in the genes encoding the transcription factors hepatocyte nuclear factor 1 alpha and 4 alpha in maturity-onset diabetes of the young and hyperinsulinemic hypoglycemia. *Hum Mutat.* 2013;34(5):669-85.
61. Godart F, Bellanné-Chantelot C, Clauin S, Gragnoli C, Abderrahmani A, Blanché H, et al. Identification of seven novel nucleotide variants in the hepatocyte nuclear factor-1alpha (TCF1) promoter region in MODY patients. *Hum Mutat.* 2000;15(2):173-80.
62. Fang Q, Chen S, Wang Y, Jiang S, Zhang R, Hu C, et al. Functional analyses of the mutation nt-128 T→G in the hepatocyte nuclear factor-1alpha promoter region in Chinese diabetes pedigrees. *Diabet Med.* 2012;29(11):1456-64.
63. Vaxillaire M, Abderrahmani A, Boutin P, Bailleul B, Froguel P, Yaniv M, et al. Anatomy of a homeoprotein revealed by the analysis of human MODY3 mutations. *J Biol Chem.* 1999;274(50):35639-46.
64. Yamagata K, Yang Q, Yamamoto K, Iwahashi H, Miyagawa J, Okita K, et al. Mutation P291fsinsC in the transcription factor hepatocyte nuclear factor-1alpha is dominant negative. *Diabetes.* 1998;47(8):1231-5.
65. Valkovicova T, Skopkova M, Stanik J, Gasperikova D. Novel insights into genetics and clinics of the HNF1A-MODY. *Endocr Regul.* 2019;53(2):110-34.
66. Gardner DS, Tai ES. Clinical features and treatment of maturity onset diabetes of the young (MODY). *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2012;5:101-8.
67. Murphy R, Ellard S, Hattersley AT. Clinical implications of a molecular genetic classification of monogenic beta-cell diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2008;4(4):200-13.
68. Pearson ER, Starkey BJ, Powell RJ, Gribble FM, Clark PM, Hattersley AT. Genetic cause of hyperglycaemia and response to treatment in diabetes. *Lancet.* 2003;362(9392):1275-81.
69. Bacon S, Kythar MP, Rizvi SR, Donnelly E, McCarthy A, Burke M, et al. Successful maintenance on sulphonylurea therapy and low diabetes complication rates in a HNF1A-MODY cohort. *Diabet Med.* 2016;33(7):976-84.
70. Shepherd M, Shields B, Ellard S, Rubio-Cabezas O, Hattersley AT. A genetic diagnosis of HNF1A diabetes alters treatment and improves glycaemic control in the majority of insulin-treated patients. *Diabet Med.* 2009;26(4):437-41.
71. Lau HH, Ng NHJ, Loo LSW, Jasmen JB, Teo AKK. The molecular functions of hepatocyte nuclear factors - In and beyond the liver. *J Hepatol.* 2018;68(5):1033-48.
72. Kapoor RR, Locke J, Colclough K, Wales J, Conn JJ, Hattersley AT, et al. Persistent hyperinsulinemic hypoglycemia and maturity-onset diabetes of the young due to heterozygous HNF4A mutations. *Diabetes.* 2008;57(6):1659-63.
73. Alvelos MI, Rodrigues M, Lobo L, Medeira A, Sousa AB, Simão C, et al. A novel mutation of the HNF1B gene associated with hypoplastic glomerulocystic kidney disease and neonatal renal failure: a case report and mutation update. *Medicine (Baltimore).* 2015;94(7):e469.
74. Edghill EL, Oram RA, Owens M, Stals KL, Harries LW, Hattersley AT, et al. Hepatocyte nuclear factor-1beta gene deletions—a common cause of renal disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23(2):627-35.
75. Clissold RL, Hamilton AJ, Hattersley AT, Ellard S, Bingham C. HNF1B-associated renal and extra-renal disease—an expanding clinical spectrum. *Nat Rev Nephrol.* 2015;11(2):102-12.
76. Bellanné-Chantelot C, Clauin S, Chauveau D, Collin P, Daumont M, Douillard C, et al. Large genomic rearrangements in the hepatocyte nuclear factor-1beta (TCF2) gene are the most frequent cause of maturity-onset diabetes of the young type 5. *Diabetes.* 2005;54(11):3126-32.
77. El-Khairi R, Vallier L. The role of hepatocyte nuclear factor 1 $\beta$  in disease and development. *Diabetes Obes Metab.* 2016;18 Suppl 1:23-32.
78. Bingham C, Hattersley AT. Renal cysts and diabetes syndrome resulting from mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta. *Nephrol Dial Transplant.* 2004;19(11):2703-8.
79. Ahlgren U, Jonsson J, Jonsson L, Simu K, Edlund H. beta-cell-specific inactivation of the mouse Ipf1/Pdx1 gene results in loss of the beta-cell phenotype and maturity onset diabetes. *Genes Dev.* 1998;12(12):1763-8.
80. Fajans SS, Bell GI, Paz VP, Below JE, Cox NJ, Martin C, et al. Obesity and hyperinsulinemia in a family with pancreatic agenesis and MODY caused by the IPF1 mutation Pro63fsX60. *Transl Res.* 2010;156(1):7-14.
81. Naya FJ, Huang HP, Qiu Y, Mutoh H, DeMayo FJ, Leiter AB, et al. Diabetes, defective pancreatic morphogenesis, and abnormal enteroendocrine differentiation in BETA2/neuroD-deficient mice. *Genes Dev.* 1997;11(18):2323-34.

82. Moates JM, Nanda S, Cissell MA, Tsai MJ, Stein R. BETA2 activates transcription from the upstream glucokinase gene promoter in islet beta-cells and gut endocrine cells. *Diabetes*. 2003;52(2):403-8.
83. Kim JW, Seghers V, Cho JH, Kang Y, Kim S, Ryu Y, et al. Transactivation of the mouse sulfonylurea receptor I gene by BETA2/NeuroD. *Mol Endocrinol*. 2002;16(5):1097-107.
84. Marsich E, Vetere A, Di Piazza M, Tell G, Paoletti S. The PAX6 gene is activated by the basic helix-loop-helix transcription factor NeuroD/BETA2. *Biochem J*. 2003;376(Pt 3):707-15.
85. Naya FJ, Stellrecht CM, Tsai MJ. Tissue-specific regulation of the insulin gene by a novel basic helix-loop-helix transcription factor. *Genes Dev*. 1995;9(8):1009-19.
86. Horikawa Y, Enya M. Genetic Dissection and Clinical Features of MODY6 (NEUROD1-MODY). *Curr Diab Rep*. 2019;19(3):12.
87. Gonsorcíková L, Průhová S, Cinek O, Ek J, Pelikánová T, Jørgensen T, et al. Autosomal inheritance of diabetes in two families characterized by obesity and a novel H241Q mutation in NEUROD1. *Pediatr Diabetes*. 2008;9(4 Pt 2):367-72.
88. Liu L, Furuta H, Minami A, Zheng T, Jia W, Nanjo K, et al. A novel mutation, Ser159Pro in the NeuroD1/BETA2 gene contributes to the development of diabetes in a Chinese potential MODY family. *Mol Cell Biochem*. 2007;303(1-2):115-20.
89. Kristinsson SY, Thorolfsdottir ET, Talseth B, Steingrimsdottir E, Thorsson AV, Helgason T, et al. MODY in Iceland is associated with mutations in HNF-1alpha and a novel mutation in NeuroD1. *Diabetologia*. 2001;44(11):2098-103.
90. Perakakis N, Danassi D, Alt M, Tsaroucha E, Mehana AE, Rimmer N, et al. Human Krüppel-like factor 11 differentially regulates human insulin promoter activity in  $\beta$ -cells and non- $\beta$ -cells via p300 and PDX1 through the regulatory sites A3 and CACCC box. *Mol Cell Endocrinol*. 2012;363(1-2):20-6.
91. Neve B, Fernandez-Zapico ME, Ashkenazi-Katalan V, Dina C, Hamid YH, Joly E, et al. Role of transcription factor KLF11 and its diabetes-associated gene variants in pancreatic beta cell function. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(13):4807-12.
92. Fernandez-Zapico ME, van Velkinburgh JC, Gutiérrez-Aguilar R, Neve B, Froguel P, Urrutia R, et al. MODY7 gene, KLF11, is a novel p300-dependent regulator of Pdx-1 (MODY4) transcription in pancreatic islet beta cells. *J Biol Chem*. 2009;284(52):36482-90.
93. Sun Y, Qu J, Wang J, Zhao R, Wang C, Chen L, et al. Clinical and Functional Characteristics of a Novel *<i>KLF11</i> Cys354Phe Variant Involved in Maturity-Onset Diabetes of the Young. *Journal of Diabetes Research*. 2021;2021:7136869.*
94. Raeder H, Johansson S, Holm PI, Haldorsen IS, Mas E, Sbarra V, et al. Mutations in the CEL VNTR cause a syndrome of diabetes and pancreatic exocrine dysfunction. *Nat Genet*. 2006;38(1):54-62.
95. Torsvik J, Johansson S, Johansen A, Ek J, Minton J, Raeder H, et al. Mutations in the VNTR of the carboxyl-ester lipase gene (CEL) are a rare cause of monogenic diabetes. *Hum Genet*. 2010;127(1):55-64.
96. Torsvik J, Johansson BB, Dalva M, Marie M, Fjeld K, Johansson S, et al. Endocytosis of secreted carboxyl ester lipase in a syndrome of diabetes and pancreatic exocrine dysfunction. *J Biol Chem*. 2014;289(42):29097-111.
97. Johansson BB, Torsvik J, Bjørkhaug L, Vesterhus M, Ragvin A, Tjora E, et al. Diabetes and pancreatic exocrine dysfunction due to mutations in the carboxyl ester lipase gene-maturity onset diabetes of the young (CEL-MODY): a protein misfolding disease. *J Biol Chem*. 2011;286(40):34593-605.
98. Wang J, Elghazi L, Parker SE, Kizilocak H, Asano M, Sussel L, et al. The concerted activities of Pax4 and Nkx2.2 are essential to initiate pancreatic beta-cell differentiation. *Dev Biol*. 2004;266(1):178-89.
99. Pongvidhya N, Kooptiwut S, Songtawee N, Doi A, Furuta H, Nishi M, et al. PAX4 mutations in Thais with maturity onset diabetes of the young. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(7):2821-6.
100. Jo W, Endo M, Ishizu K, Nakamura A, Tajima T. A novel PAX4 mutation in a Japanese patient with maturity-onset diabetes of the young. *Tohoku J Exp Med*. 2011;223(2):113-8.
101. Borowiec M, Liew CW, Thompson R, Boonyasrisawat W, Hu J, Mlynarski WM, et al. Mutations at the BLK locus linked to maturity onset diabetes of the young and beta-cell dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(34):14460-5.
102. Breidbart E, Golden L, Gonzaga-Jauregui C, Deng L, Lanzano P, LeDuc C, et al. KCNJ11 Mutation in One Family is Associated with Adult-Onset Rather than Neonatal-Onset Diabetes Mellitus. *AACE Clinical Case Reports*. 2018;4(5):e411-e4.
103. Bonnefond A, Philippe J, Durand E, Dechaume A, Huyvaert M, Montagne L, et al. Whole-exome sequencing and high throughput genotyping identified KCNJ11 as the thirteenth MODY gene. *PLoS One*. 2012;7(6):e37423.
104. Prudente S, Jungtrakoon P, Marucci A, Ludovico O, Buranasupkajorn P, Mazza T, et al. Loss-of-Function Mutations in APPL1 in Familial Diabetes Mellitus. *Am J Hum Genet*. 2015;97(1):177-85.
105. Pihoker C, Gilliam LK, Ellard S, Dabelea D, Davis C, Dolan LM, et al. Prevalence, characteristics and clinical diagnosis of maturity onset diabetes of the young due to mutations in HNF1A, HNF4A, and glucokinase: results from the SEARCH for Diabetes in Youth. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(10):4055-62.
106. Ellard S, Lango Allen H, De Franco E, Flanagan SE, Hysenaj G, Colclough K, et al. Improved genetic testing for monogenic diabetes using targeted next-generation sequencing. *Diabetologia*. 2013;56(9):1958-63.
107. Szopa M, Ludwig-Gałęzowska A, Radkowski P, Skupień J, Zapala B, Płatek T, et al. Genetic testing for monogenic diabetes using targeted next-generation sequencing in patients with maturity-onset diabetes of the young. *Pol Arch Med Wewn*. 2015;125(11):845-51.
108. Gao R, Liu Y, Gjesing AP, Hollensted M, Wan X, He S, et al. Evaluation of a target region capture sequencing platform using monogenic diabetes as a study-model. *BMC Genet*. 2014;15:13.
109. Alkorta-Aranburu G, Sukhanova M, Carmody D, Hoffman T, Wysinger L, Keller-Ramey J, et al. Improved molecular diagnosis of patients with neonatal diabetes using a combined next-generation sequencing and MS-MLPA approach. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2016;29(5):523-31.
110. Riddle MC, Philipson LH, Rich SS, Carlsson A, Franks PW, Greeley SAW, et al. Monogenic Diabetes: From Genetic Insights to Population-Based Precision in Care. *Reflections From a Diabetes Care Editors' Expert Forum*. *Diabetes Care*. 2020;43(12):3117-28.
111. Hattersley AT, Patel KA. Precision diabetes: learning from monogenic diabetes. *Diabetologia*. 2017;60(5):769-77.

## IMPRESUM

### Trendovi u molekularnoj biologiji, 2021.

Izdavač

**Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo,  
Univerzitet u Beogradu**

Uređivački odbor

Dr **Sonja Pavlović**, naučni savetnik,  
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo  
Univerzitet u Beogradu

Dr **Jelena Begović**, naučni savetnik,  
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo  
Univerzitet u Beogradu

Prof. dr **Ivana Novaković**, redovni profesor,  
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof. dr **Dužanka Savić Pavićević**, redovni profesor,  
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Ana Đorđević**, naučni savetnik,  
Univerzitet u Beogradu Institut za biološka istraživanja  
„Siniša Stanković“

Recenzenti

Dr **Svetlana Radović**, redovni profesor,  
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Vesna Škodrić Trifunović**, redovni profesor,  
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Gordana Nikčević**, naučni savetnik,  
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo  
Univerzitet u Beogradu

Dizajn i izrada korica

**Ivan Strahinić**

Štampa

**Curent Print**, Beograd

Periodičnost izlaza publikacije

**Godišnje**

Tiraž

**200 primeraka**

### Autori

Anđelković Marina .....	71
Arsić Aleksandra.....	152
Bosnić Dragana .....	180
Djusalov Mila .....	21
Đorić Ilona .....	133
Gadjanski Ivana .....	21
Gašić Vladimir .....	113
Išić Denčić Tijana .....	96
Janjušević Ljiljana .....	21
Janković Miljuš Jelena .....	133
Janković Radmila .....	96
Jovčić Branko .....	166
Keckarević Dušan .....	54
Keckarević Marković Milica .....	54
Kecmanović Miljana .....	54
Knežić Teodora .....	21
Kojadinović Milica .....	152
Kokanov Nikola .....	123
Komazec Jovana .....	84
Kosijer Petar .....	21
Kotur Nikola .....	6
Kožik Bojana .....	123
Krajnović Milena .....	123
Malešević Milka .....	166
Nikolić Dragana .....	180
Panić Marko .....	33
Perić Stojan .....	60
Pešović Jovan .....	60
Popović D. Željko .....	21
Radenković Lana .....	60
Rakićević Ljiljana .....	146
Rakočević-Stojanović Vidosava .....	60
Ristić Nina .....	96
Samardžić Jelena .....	180
Savić-Pavićević Dužanka .....	60
Šelemetjev Sonja .....	133
Skakić Anita .....	42
Spasovski Vesna .....	107
Stanković Biljana .....	6
Stojiljković Maja .....	42
Tošić Nataša .....	113
Ugrin Milena .....	84
Vreća Miša .....	107
Zukić Branka .....	6

CIP - Каталогизacija y publikaciji  
Народна библиотека Србије, Београд

577.2

**TRENDOVI u molekularnoj biologiji** = Trends in  
Molecular Biology. - 2021, br. 1 (sep.)- . - Beograd :  
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo,  
2021- (Beograd : Curent Print). - 28 cm

Godišnje. - Tekst na srp. i engl. jeziku.  
ISSN 2787-2947 = Trendovi u molekularnoj biologiji  
COBISS.SR-ID 45105929