

Broj 2 • septembar 2022. N° 2 • September 2022.



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



Beograd • Belgrade • 2022.
IMGGI • IMGGE

Pedesetogodišnjica osnivanja studijskog programa molekularna biologija i fiziologija Gordana Matić	8	50th anniversary of the molecular biology and physiology study program
TRPV1: Ciljno mesto dejstva lekova u terapiji različitih stanja Branislava Medić Brkić, Katarina Savić Vujović, Dragana Srebro, Sonja Vučković	15	TRPV1: A Promising drug target for the treatment of various conditions
Geni-modifikatori β -talasemijskih sindroma – novi terapijski pristupi Milena Ugrin	32	Gene modifiers in β -thalassemia syndromes – a new therapy approach
Novi uvid u genetiku naslednih perifernih neuropatija Milica Keckarević Marković, Miljana Kecmanović, Dusan Keckarević	51	Genetics of inherited peripheral neuropathies: renewed data
Savremeni pristupi u istraživanju molekularne osnove karcinoma prostate Zorana Dobrijević, Suzana Matijašević-Joković, Ana Branković, Ana Djordjević, Milica Popović i Goran Brajušković	63	Modern approaches in research of the molecular basis of prostate cancer
Uticaj tumorske mikrosredine na razvoj i progresiju maligniteta Ilona Đorić, Tijana Išić Denčić, Sonja Šelemetjev	75	The effects of tumor microenvironment on malignancy formation and progression
Uloga hsa-miR-93-5p u kolorektalnom karcinomu Jovana Despotović	90	Role of hsa-miR-93-5p in colorectal cancer Jovana Despotović
Antitumorski potencijal novih derivata steroidnih hidrazona Marijana B. Živković	104	Antitumor potential of new steroidal hydrazone derivatives
Molekularna dijagnostika glioblastoma – klinički uticaji <i>IDH</i> mutacija i epigenetičkog utišavanja aktivnosti <i>MGMT</i> gena Nikola Jovanović, Tatjana Mitrović	125	Molecular diagnostics of glioblastoma – clinical impact of <i>IDH</i> mutations and epigenetic silencing of <i>MGMT</i>
Molekularni profil timoma Jelena Perić	143	Molecular profile of thymoma
Ekspresija i funkcija insulina u centralnom nervnom sistemu Tamara Dakić, Predrag Vujović	155	Insulin expression and action in the central nervous system
Neuroprotektivni potencijal progesterona Ivana Guševac Stojanović, Dunja Drakulić	168	Neuroprotective progesterone potential
Uloga dehidroepiandrosterona u moždanoj ishemiji/reperfuziji Marina Zarić Kontić, Jelena Martinović	186	Effect of dehydroepiandrosterone on cerebral ischemia/reperfusion
Hemijski profil i antioksidativna aktivnost crvenih vina klonova autohtone i internacionalnih sorti vinove loze Neda Đorđević	206	Chemical profile and antioxidative activity of red wines obtained from autochthonous and international grape clone varieties
Dihidrohalkoni jabuke florizin i floretin kao nove alelopatske supstance Mariana Stanišić, Slavica Ninković, Nevena Banjac	223	Apple dihydrochalcones phloridzin and phloretin as novel allelochemicals
Dosadašnja postignuća na promeni boje cvetova biljaka metaboličkom modulacijom biosinteze karotenoida Milena Trajković, Sladjana Jevremović, Aleksandar Cingel	238	Recent advances in flower color alteration by metabolic manipulation of carotenoid biosynthesis
Bioinformatički alati za analizu mikroRNK Katarina Zeljić	255	Bioinformatics tools for the analysis of microRNA
Marker porekla kao adut u forenzičkim analizama DNK u kompleksnim slučajevima iz perspektive Y hromozoma Miljana Kecmanović, Milica Keckarević Marković, Dušan Keckarević	275	Lineage marker as a key player in complex forensic cases from the perspective of Y chromosome

Predgovor

Uspostaviti tradiciju je mnogo teže nego realizovati inicijativu. Pokazalo se da je prvi broj tematskog zbornika **Trendovi u molekularnoj biologiji 1** pobudio interesovanje naučne zajednice u Srbiji, tako da drugi broj nije bilo teško sastaviti. Broj poglavlja u tematskom zborniku **Trendovi u molekularnoj biologiji 2** je premašio očekivanja. Kao da je Tematski zbornik simbolično postao - Ko je ko u molekularnoj biologiji u Srbiji. I ponovo se pokazalo da se naučnici u našoj zemlji bave aktuelnim istraživačkim temama i aktivno doprinose napretku molekularne biologije na mnogim poljima. I mladi molekularni biolozi su prikazom svojih doktorskih teza pokazali da prate svetske trendove i savremene naučne pristupe.

Posebnost ovog broja je što se objavljuje u vreme kada obeležavamo jubilej, pedesetogodišnjicu Beogradske škole molekularne biologije, o čemu svedoči tekst u kome je prikazan put razvoja programa za molekularnu biologiju na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Pre više godina na jednom naučnom skupu se govorilo o tome kako saznanja iz molekularne biologije prožimaju sve naučne oblasti koje se bave živim organizmima i kako se može predvideti da će njena primena obeležiti novi vek. Iz auditorijuma je stigao komentar: „Proći će i vaše“. Vreme svedoči da je era molekularne biologije tek počela.

„I šta ćemo sad?“

Sonja Pavlović

Iz recenzija Tematskog zbornika *Trendovi u molekularnoj biologiji*

Drugi broj tematskog zbornika „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ predstavlja nastavak prikazivanja i objavljivanja najznačajnijih naučnih radova proisteklih iz doktorskih disertacija mladih naučnika Srbije, kao i najznačajnijih naučnih rezultata ostvarenih u svetu u oblasti molekularne biologije, u protekloj godini, u kojima su naši naučnici dali svoj doprinos. U ovom broju, prikazano je 18 naučnih radova, od kojih je 12 iz oblasti biomedicine, koji su posvećeni rezultatima ostvarenim u oblasti molekularne biologije retkih bolesti, tumora i centralnog nervnog sistema. Ovi rezultati su od ogromnog značaja za unapređenje dijagnostike i terapije bolesti.

Rezultati koje su naši naučnici ostvarili u oblasti molekularne biologije biljaka prikazani su kroz tri rada, a akcenat u njima je na mogućnosti primene tih rezultata u oblasti ekologije, hortikulture i unapređenja zdravlja ljudi (potraga za ekološki prihvatljivim bioherbicidima, modifikacija boje cveta, biološka aktivnost prirodnih supstanci).

Dva rada su posvećena naprednim metodama u oblasti molekularne biologije i prikazana su u posebnom poglavlju, što smatram veoma važnim.

Posebno bih istakla poglavlje u kojem je prikazan jedan od najznačajnijih naučnih rezultata u svetu u protekloj godini (otkiće receptora za temperaturu i dodir), za koji je dodeljena Nobelova nagrada za fiziologiju i medicinu 2021. godine. Uvodno poglavlje ovog tematskog zbornika posvećeno je značajnom jubileju – pedesetogodišnjici Beogradske škole molekularne biologije, i u njemu je prikazan razvojni put studijskog programa Molekularna biologija i fiziologija na Univerzitetu u Beogradu – Biološkom fakultetu.

Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ nastavlja svoju misiju naučne avangarde započetu prošlogodišnjim brojem. Prikazivanjem najkvalitetnijih i najznačajnijih naučnih rezultata ostvarenih u oblasti molekularne biologije u protekloj godini u kojima su naši mladi naučnici dali svoj ogromni doprinos, prenose se informacije širem krugu istraživača i zaposlenih u različitim oblastima (medicina, farmacija, poljoprivreda), čime se otvaraju mogućnosti za saradnju, a samim tim za primenu rezultata, kao i za nova istraživanja.

Svojom koncepcijom i odabirom radova „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ prate napredak u oblasti molekularne biologije i ne samo da prenose najznačajnije naučne rezultate, već i inspirišu i podstiču nova istraživanja i šire interesovanje za ovu veoma značajnu naučnu oblast. Ovaj zbornik opravdava svoj naziv i nadam se da će se nastaviti trend njegovog objavljivanja i narednih godina.

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

Monografija/Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ je drugi broj u nizu izdanja koje ima za cilj da prikaže naučne rezultate iz oblasti molekularne biologije koje su ostvarili naučnici iz Srbije u prethodnoj godini. Sačinjen je od 18 poglavlja, od kojih 8 predstavlja revijske radove proizašle iz doktorskih disertacija mladih doktora nauka u kojima je prikazan njihov doprinos određenoj naučnoj oblasti molekularne biologije koja je povezana sa temom njihove disertacije. Preostalih 7 poglavlja su prikazi aktuelnih tema iz molekularne biologije u kojima su naši naučnici dali svoj značajni doprinos. Uvodno poglavlje je posvećeno jubileju, pedesetogodišnjici Beogradske škole molekularne biologije, u kome je prikazan put razvoja programa za molekularnu biologiju na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Veliki broj poglavlja iz Zbornika (12) je posvećen istraživanjima iz oblasti biomedicine. Posebno je značajno poglavlje u kome je prikazan doprinos naših istraživača u oblasti kojoj je dodeljena Nobelova nagrada iz medicine za 2021. godinu (receptori za temperaturu i dodir).

Doprinos koji je molekularna biologija dala modernoj medicini je izuzetno veliki. Danas su u kliničkoj praksi u svetu 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. Ovaj Tematski zbornik je svedočanstvo o značajnim postignućima molekularnih biologa u Srbiji koji su doneli napredak našoj medicini i drugim naučnim oblastima.

Monografija/Zbornik je izuzetno zanimljivo koncipiran sa sadržajem koji je na visokom naučnom nivou i koje je značajan izvor informacija za veliki broj naučnika u Srbiji čija se istraživanja više ne mogu zamisliti bez molekularne biologije. Primeri primenljivosti rezultata istraživanja u praksi (medicinskoj i drugima) je poseban kvalitet ovog Zbornika.

Prvi broj Tematskog zbornika „Trendovi u molekularnoj biologiji 1“ je doživeo veliko interesovanje. Interesovanje autora da objave svoj doprinos svetskoj nauci u broju 2 govori da je ovakav sadržaj bio neophodan našoj naučnoj javnosti. Sigurno je da će ovako koncipiran Tematski zbornik imati budućnost, jer je napredak medicine i drugih oblasti (biotehnologija, poljoprivreda, farmacija) nemoguće zamisliti bez novih dostignuća molekularne biologije

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

Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ sadrži naučne rezultate koji su prepoznati na svetskom nivou, a koje su istraživači iz Srbije ostvarili u prethodnoj godini iz ove oblasti. Zbornik je sačinjen od 18 poglavlja, preglednih radova, grupisanih u pet celina. Prva celina je posvećena važnom jubileju, pedesetogodišnjici osnivanja Beogradske škole molekularne biologije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, dok druga sadrži prikaz rezultata naših istraživača iz oblasti fiziologije i medicine za koju je u 2021. godini dodeljena Nobelova nagrada. Najveći broj poglavlja je u okviru treće celine koja se bavi biomedicinom i to molekularnom biologijom retkih bolesti, tumora i centralnog nervnog sistema. Preostale dve celine su posvećene molekularnoj biologiji biljaka i naprednim metodama molekularne biologije. Važno je istaći da su mladi doktori nauka aktivno učestvovali u izradi ovog Zbornika, tako da 8 poglavlja u okviru biomedicine i molekularne biologije biljaka predstavljaju revijske radove proizašle iz njihovih doktorskih disertacija.

Značaj ovog Zbornika je višestruk. Najpre, već drugu godinu za redom se objavljuju najrelevantnija saznanja iz navedenih oblasti koja su proizašla iz rada istraživača iz Srbije i dostupna su široj javnosti na maternjem jeziku. Takođe, svoje radove su napisali istraživači iz različitih naučnih instituta (5) i fakulteta (5) iz Srbije, što ohrabruje da će se u našoj zemlji i dalje nastaviti sa istraživanjima u molekularnoj biologiji koja su aktuelna u svetu.

„Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ je Tematski zbornik u kome su objedinjeni rezultati fundamentalnih i primenjenih istraživanja u molekularnoj biologiji ostvarenih u našoj zemlji u prethodnoj godini. Korišćenjem najnovijih metodoloških pristupa u ovoj oblasti, ali i bioinformatičkih i drugih softverskih alata, postignut je značajan napredak u dijagnozi i primeni novih strategija lečenja mnogih bolesti, forenzičkim analizama, razvoju novih lekova. Ovaj sveobuhvatni prikaz istraživanja, koja se aktivno sprovode u naučnim institutima i na fakultetima u Srbiji, doprinosi saznanjima o značaju koji molekularna biologija ima kako u humanoj i veterinarskoj medicini, poljoprivredi, farmaciji, tako i u razvoju biotehnologije, očuvanju životne sredine i biodiverziteta.

Poseban doprinos Zbornika se ogleda u tome što se u njemu nalaze aktuelni podaci o dostupnosti navedenih savremenih metodologija, čime se otvaraju realne mogućnosti za uspostavljanje novih saradnji među istraživačima, kao i u uspostavljanju inter- i multi-disciplinarnosti i daljem razvoju nauke u Srbiji.

Dr Gordana Nikčević, naučni savetnik

Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerzitet u Beogradu

Novi uvid u genetiku naslednih perifernih neuropatija

Milica Keckarević Marković, Miljana Kecmanović, Dusan Keckarević

Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet, Katedra za biohemiju i molekularnu biologiju,

Centar za forenzičku i primenjenu molekularnu genetiku

Kontakt: milica@bio.bg.ac.rs

Apstrakt

Nasledne periferne neuropatije čini klinički i genetički heterogena grupa bolesti uzrokovanih aksonalnom degeneracijom motornih i senzornih neurona perifernog nervnog sistema. Odlikuju se izrazitom alelskom i lokusnom heterogenošću, a do danas je sa ovom grupom bolesti asocirano više od 1000 mutacija u preko 100 gena. Korišćenjem klasičnih metoda genetičke dijagnostike najveći broj uzročnih mutacija identifikovan je u 4 gena: PMP22, GJB1, MFN2 i MPZ. Najučestaliji tip, CMT1A, uzrokovan je duplikacijom 1,5 Mb u regionu hromozoma 17p11.2 i čini oko 50% svih naslednih perifernih neuropatija. Ovom duplikacijom obuhvaćen je gen PMP22 koji kodira protein mijelinskog omotača. Recipročna delecija ovog regiona asocirana je sa blagom naslednom neuropatijom. Geni GJB1, MFN2 i MPZ se karakterišu širokim spektrom mutacija, a populacione specifičnosti u vidu značajnih odstupanja u zastupljenosti pojedinih mutacija se mogu objasniti efektom osnivača.

Upotrebom masivnog paralelnog sekvenciranja omogućen je napredak u genetičkoj dijagnostici ovih bolesti koji se pre svega ogleda u otkriću novih gena, kao i u otkriću novih mutacija u genima odrađene asociranim sa ovim, ali i sa drugim neurološkim i mišićnim bolestima. Pri tome, verovatnoća za otkrivanje uzročne mutacije koreliše sa pozitivnom porodičnom anamnezom, prisustvom endogamije, ranim početkom i demijelinirajućim oblikom bolesti. Takođe, kod nekih bolesnika je identifikovano i prisustvo strukturnih varijacija koje ne obuhvataju do sada poznate uzroke naslednih perifernih neuropatija, kod kojih je patomehanizam nastanka bolesti i dalje nepoznat.

Ključne reči: Nasledne periferne neuropatije, masivno paralelno sekvenciranje, strukturne varijacije

Genetics of inherited peripheral neuropathies: renewed data

Milica Keckarević Marković, Miljana Kecmanović, Dusan Keckarević

University of Belgrade – Faculty of Biology, Department of Biochemistry and Molecular Biology,

Center for Forensic and Applied Molecular Genetics

Correspondence: milica@bio.bg.ac.rs

Abstract

Inherited peripheral neuropathies (IPN) comprise a clinically and genetically heterogeneous group of disorders caused by axonal degeneration of motor and sensory nerves of peripheral nervous system. So far, more than 1000 mutations in more than 100 genes has been found to be associated with IPN. Using standard molecular-genetic diagnostics, vast number of mutations was identified in following genes: PMP22, GJB1, MFN2 and MPZ. The most frequent, CMT1A, is caused by 1,5 Mbp duplication of 17p11.2 and represents approximately 50% of all IPN. The duplication includes myelin sheath protein gene PMP22, whereas reciprocal deletion is associated with a mild hereditary neuropathy termed HNPP. GJB1, MFN2 and MPZ genes harbour various mutations, whose frequencies vary between populations. Significant differences of individual mutation frequencies could be mostly explained by founder effect.

Massive parallel sequencing methodologies (MPS) brought new discoveries. First of all, new genes were found to be associated with IPN. Then, new mutations in well-known genes previously associated with IPN, but also with other neurological and muscular disorders, were found to be disease-causing. Also, some patients were found to carry structural variants involving regions not previously associated with IPN, with pathomechanism of the disease yet to be resolved. Generally, a positive genetic diagnosis was more likely to be reached in cases with positive history of neuropathy and consanguinity, early onset and/or demyelinating neuropathy.

Keywords: Inherited peripheral neuropathy, massive parallel sequencing, structural variants

Periferne neuropatije čini heterogena grupa bolesti uzrokovanih aksonalnom degeneracijom motornih i senzornih nerava perifernog nervnog sistema. Karakterišu se progresivnim gubitkom funkcije perifernih nerava, pri čemu zahvaćenost i obim gubitka funkcije pozitivno korelišu sa njihovom dužinom. Periferne neuropatije se međusobno razlikuju po etiologiji, patomehanizmu i kliničkoj slici. U zavisnosti od uzroka, mogu se podeliti na stečene (eng. *Acquired Peripheral Neuropathy*, APN) i nasledne periferne neuropatije (eng. *Inherited Peripheral Neuropathy*, IPN). Stečene neuropatije se mogu javiti kao posledica dejstva toksina, uključujući toksično dejstvo lekova, ili mehaničkih povreda, kao i sekundarno, usled metaboličkih poremećaja (dijabetes), nedostataka u ishrani, infekcija i zapaljenskih procesa [1-3]. Nasledne periferne neuropatije su genetički uzrokovane [3, 4]. One se odlikuju izrazitom alelskom i lokusnom heterogenošću i do danas je sa ovom grupom bolesti asocirano više od 1000 mutacija u preko 100 gena [5-7]. Po tipu nerava zahvaćenih degeneracijom, u okviru IPN se mogu razlikovati sledeći entiteti: nasledne motorne i senzorne neuropatije (eng. *Hereditary Motor and Sensory Neuropathy*, HMSN) ili Šarko-Mari-Tut-ova bolest (eng. *Charcot-Marie-Tooth disease*, CMT) kada su zahvaćeni i motorni i senzorni neuroni perifernog nervnog sistema, nasledne motorne neuropatije (eng. *Hereditary Motor Neuropathy*, HMN) uzrokovane predominantnom degeneracijom motornih neurona i nasledne senzorne neuropatije i neuropatije autonomnog nervnog sistema (eng. *Hereditary Sensory and Autonomic Neuropathy*; HSAN) koje obuhvataju neuropatije uzrokovane aksonalnom degeneracijom senzornih i/ili visceralnih nerava. Dalja klasifikacija IPN podrazumeva elektrofiziološke kriterijume, pa se u okviru CMT razlikuju demijelinirajuća forma CMT u okviru koje je najčešća CMT tip 1 (CMT1), koja se odlikuje smanjenjem brzine nervne provodljivosti (eng. *Nerve Conduction Velocity*, NCV), a povezana je sa poremećajima u mijelinaciji vlakana perifernog nervnog sistema, i aksonalna forma CMT u okviru koje je najzastupljenija CMT tip 2 (CMT2), kod koje su očuvane brzine nervne provodljivosti, ali su po pravilu smanjeni intenziteti akcionih potencijala, a kao posledica smanjenog broja funkcionalnih aksona u okviru nervnog vlakna. Kao granična vrednost koristi se brzina nervne provodljivosti motorne komponente (eng. *Motor Nerve Conduction Velocity*, MNCV) nerva *medianus* koja iznosi 38 m/s [8, 9]. Intermedijerna forma bolesti se odlikuje brzinama nervne provodljivosti između 25 i 45 m/s, i, iako se često preklapa sa tipovima CMT1 i CMT2, može pomoći u usmeravanju genetičke dijagnostike bolesti [10, 11]. Normalne vrednosti brzina nervne provodljivosti variraju između 51 i 65 m/s. Dalja klasifikacija se vrši prema tipu nasleđivanja i genu uzročniku. Nasledne periferne neuropatije su progresivne bolesti, i često na samom početku nisu prisutni znaci ili simptomi na osnovu kojih bi moglo preciznije da se odredi o kojoj formi bolesti se radi. Sa druge strane, smanjenje brzina nervne provodljivosti je prisutno na samom početku i predstavlja neprogresivnu komponentu, što je čini pouzdanim dijagnostičkim kriterijumom u svim fazama bolesti. Nasledne periferne neuropatije se mogu javiti izdvojeno, ili kao deo neke multisistemske bolesti ili sindroma. Često se javljaju zajedno sa ataksijom ili spazmom, a postoji i preklapanje u genetičkoj osnovi sa spinocerebelarnim ataksijama (SCA) i naslednim spastičnim paraparezama (eng. *Hereditary Spastic Paraparesis*, HSP) [12-15].

Iako se CMT često mogu jasno podeliti na demijelinirajuću i aksonalnu formu, klinička prezentacija bolesti je posledica aksonalne degeneracije, koja u najvećem broju slučajeva primarno zahvata duža, a zatim i kraća nervna vlakna. Bolest se javlja u detinjstvu ili adolescenciji. Usled degeneracije perifernih nerava dolazi do simetrične, sporoprogredirajuće atrofije distalne muskulature nogu i stopala, i u većini slučajeva konačno zahvata i muskulaturu ruku. Takođe su prisutni gubitak osetljivosti, smanjeni ili ugašeni duboki tetivni refleksi i deformiteti stopala i ruku, kao što je *pes cavus* [10]. Vreme pojave bolesti, brzina progresije, kao i težina kliničke slike pokazuju veliku unutar- i među-familijarnu varijabilnost [16]. Sveprisutnost aksonalne degeneracije neurona perifernog nervnog sistema i korelacija nivoa degeneracije sa dužinom zahvaćenih vlakana ukazuje na to da poremećaj u aksonalnom transportu organela i/ili

metabolita može biti zajednički patomehanizam velikog broja demijelinirajućih i aksonalnih formi bolesti, bez obzira na primarni defekt [17, 18, 19].

Demijelinirajuće CMT predstavljaju najčešću formu naslednih perifernih neuropatija, a autozomno - dominantna forma ove bolesti (CMT1) zastupljena je kod više od 60% pacijenata sa naslednim motornim i senzornim neuropatijama [20]. Najveći broj CMT1 pacijenata nosi mutaciju u nekom od gena za proteine mijelina. Aksoni nervnih vlakana perifernog nervnog sistema sekvencijalno su obmotani višeslojnom strukturom koju formiraju ćelije glije (Švanove ćelije) i koja formira mijelinski omotač. Između delova obmotanih mijelinskim omotačem nalaze se Ranvijeova suženja, regioni aksona u kojima se evocira akcioni potencijal. Na ovaj način, mijelizovana nervna vlakna imaju veće brzine provođenja nervnog impulsa u odnosu na nemijelizovana, što je od posebnog značaja za dugačke aksone. Pored uticaja na brzinu nervne provodljivosti, mijelinski omotač ima zaštitnu ulogu, a posreduje i u signalizaciji i razmeni metabolita između aksona i Švanovih ćelija [21]. U izgradnji mijelinskog omotača učestvuju periferni protein mijelina 22 (eng. *Peripheral Myelin Protein 22*, PMP22), mijelin protein nula ili protein 0 (eng. *Myelin Protein Zero/Protein 0*, MPZ/P0) i male promene u ekspresiji gena *PMP22* i *MPZ/P0* dovode do poremećaja u razvoju i/ili održavanju mijelinskog omotača [22, 23, 24]. CMT1X se odlikuje X vezanim nasleđivanjem i uzrokovana je mutacijama u genu *GJB1* koji kodira protein pukotinaste veze β -1/koneksin 32 (eng. *Gap Junction Protein β -1/Connexin 32*, *GJB1/Cx32*). Od CMT1 i CMT2 razlikuje se, pre svega, po genetičkoj osnovi. Brzina nervne provodljivosti kod pacijenata muškog pola kreće se između 30 i 40 m/s, dok se kod pacijentkinja kreće između 30 i 50 m/s [25]. Patohistološkom analizom uzoraka perifernih nerava pacijenata sa kliničkom dijagnozom CMT1X detektuje se aksonalna atrofija i regeneracija i minimalna de- i re-mijelinacija [26]. Cx32 se nalazi u paranodalnim regionima mijelinskog omotača (neposredno uz Ranvijeova suženja) u regionu nekompaktnog mijelina i u Šmit-Lantermanovim ostrvcima [27], učestvujući u unutarćelijskim pukotinastim vezama i omogućavajući brz transfer malih molekula radialno kroz mijelinski omotač [28, 29]. Kod različitih CMT, uključujući CMT1A (duplikacija *PMP22*), CMT1E (mutacije u *PMP22*) i CMT1B (mutacije u *MPZ*), bilo zbog prevelike ekspresije, bilo zbog promene u aminokiselinskoj sekvenci, formiraju se proteinski agregati koji doprinose patogenezi bolesti. Nagomilavanje proteinskih agregata u endopazmatičnom retikulumu po pravilu pokreću ćelijski odgovor na pogrešno spakovane proteine (eng. *Unfolded Protein Response*, UPR) koji povlači povećanu sintezu šaperona proteina, smanjenje nivoa translacije i povećanu proteozomalnu degradaciju. Iako je u pitanju adaptivni mehanizam, UPR može značajno da utiče na funkcionalnost ćelije, a konačno da dovede i do apoptoze [30-38]. Nemogućnost Švanove ćelije da održi homeostazu i obezbedi adekvatnu komunikaciju sa aksonom posledično dovodi do klinički prepoznatljive aksonalne degeneracije [39].

Aksonalne forme CMT (CMT2) uglavnom su uzrokovane mutacijama u genima čiji proteinski produkti učestvuju u formiranju citoskeleta i ćelijskom transportu (uključujući aksonalni), mitohondrijalnoj dinamici, komunikaciji između organela, kao i translaciji koja se odigrava duž različitih delova aksona. Ovi geni su široko ekspimirani, ali zbog posebnih energetskehteva i osetljivosti (posebno dugačkih, aksona), po pravilu dovode do periferne neuropatije, ne zahvatajući druge sisteme organa, kao ni centralni nervni sistem [40]. Aksonalni transport je energetski zahtevan visoko regulisan proces kojim se transportuju organele i metaboliti, translaciona mašinerija, informacione RNK i signalni molekuli duž aksonalnih mikrotubula [41]. Transport mitohondrija duž aksona, kao i visoko regulisana mitohondrijalna dinamika koja uključuje adekvatno pozicioniranje mitohondrija u regione aksona sa povećanim energetskehtevima, međusobne interakcije, spajanje i odvajanje mitohondrija, interakcije sa drugim organelama (endoplazmatični retikulum, kasni endozomi, lizozomi) su od vitalnog značaja za održavanje strukture i funkcije aksona [19, 40]. Mitofuzin 2 (eng. *Mitofusin 2*, MFN2) lociran u spoljašnjoj mitohondrijalnoj membrani, učestvuje u interakcijama između

mitohondrija, fuziji, kao i njihovom transportu. Uglavnom dominantne, ali i recesivne, mutacije u genu za mitofuzin 2 su najčešći uzrok CMT2, koje su odgovorne za oko 20% aksonalnih neuropatija, i oko 90% teških oblika bolesti [42-45]. Posebnu grupu aksonalnih CMT čine bolesti uzrokovane mutacijama u aminoacil-t-RNK sintetazama (ARS). Posle inicijalnog otkrića dominantne mutacije u genu za glicil-ARS (GARS) [46], kao uzroci dominantnih CMT2 identifikovane su mutacije u genima za različite aminoacil-t-RNK sintetaze (alanin(A)-ARS, histidin(H)-ARS, lizin(K)-ARS, metionin(M)-ARS, triptofan(W)-ARS; tirozin(Y)-ARS) [47-51]. Mehanizam kojim ove mutacije dovode do aksonalne degeneracije nije do kraja jasan, ali eksperimenti pokazuju da nije reč o haploinsuficijenciji, već da se radi o toksičnom efektu mutiranog proteina, koji konačno utiče na efikasnost translacije [52].

Korišćenjem klasičnih metoda genetičke dijagnostike najveći broj mutacija uzročnika naslednih perifernih neuropatija identifikovan je u 4 gena: *PMP22*, *GJB1*, *MFN2* i *MPZ* [53, 54]. Najučestaliji tip, CMT1A, uzrokovan je duplikacijom 1,5 Mb u regionu hromozoma 17p11.2 [55] i čini oko 50% svih IPN [56]. Ovom duplikacijom obuhvaćen je gen *PMP22* koji kodira za protein mijelinskog omotača. Recipročna delecija ovog regiona asocirana je sa blagom naslednom neuropatijom (eng. *Hereditary Neuropathy with Liability to Pressure Palsies*, HNPP) [57]. Geni *GJB1*, *MFN2* i *MPZ* se karakterišu širokim spektrom mutacija, a populacione specifičnosti u vidu značajnih odstupanja u zastupljenosti pojedinih mutacija se mogu objasniti efektom osnivača [58, 59]. Rutinska upotreba metoda masivnog paralelnog sekvenciranja (MPS) dovela je do značajnog napretka u genetičkoj dijagnostici IPN koji se pre svega ogleda u otkriću novih gena asociranih sa bolestima, kao i u otkriću novih mutacija u genima odranije asociranim sa IPN, ali i sa drugim neurološkim i mišićnim bolestima [6]. I pored novih otkrića, tek za 65% CMT pacijenata je identifikovan gen uzročnik, od kojih je u 90% slučajeva to jedan od navedena četiri gena [60-62]. Očekivana uspešnost uspostavljanja genetičke dijagnoze iznosi više od 85% za CMT1, 30-40% za nasledne senzorne neuropatije (HSN), 25-30% za CMT2 i 15-25% za nasledne motorne neuropatije (HMN) [61, 62, 63]. Verovatnoća za otkrivanje uzročne mutacije koreliše sa pozitivnom porodičnom anamnezom, prisustvom endogamije, ranim početkom i demijelinirajućim oblikom bolesti [64].

Tradicionalan pristup genetičkoj dijagnostici - koji je podrazumevao detaljnu kliničku i elektrofiziološku evaluaciju pacijenta, a zatim analizu pojedinačnih gena u skladu sa utvrđenim algoritmima; u poslednje vreme je, osim u slučaju CMT1 (u kom se prvenstveno radi ciljana detekcija duplikacije *PMP22* gena), zamenjen sekvenciranjem nove generacije. Kao metoda prvog izbora u velikom broju laboratorija radi se sekvenciranje genskih panela koji uključuju analizu gena do sada asociranih sa naslednim perifernim neuropatijama, ali i sa naslednim spastičnim paraparezama, spinocerebelarnim ataksijama, miopatijama, kao i bolestima motoneurona [65-69]. Ovi paneli obuhvataju egzone, granice egzona i introna, ali i druge regione za koje je pokazano da promena u sekvenci ili broju kopija (eng. *Copy Number Variation*, CNV) može uzrokovati pojavu neuropatije. To mogu biti različiti regulatorni regioni kao što su promotori, 5' i 3' netranslirajući regioni (*GJB1*) [64, 70], te pojačivači (*PMP22*) [71-73]. Simultanom analizom gena asociranih sa neuropatijama obuhvaćen je veliki broj kombinacija fenotipa i gena uzročnika, a imajući u vidu da iste ili različite mutacije u istom genu mogu da dovedu do različitih prezentacija bolesti, kao i do različitih bolesti. Pa tako, mutacije u *MPZ* mogu biti uzročnik CMT1, CMT2, intermedijerne forme [74-76], kao i kongenitalnog, posebno teškog oblika bolesti, poznatijeg kao Dežerin-Sota sindrom (*Dejerine-Sottas*) [77]. Delecija *PMP22*, pored HNPP, može biti asocirana sa kliničkom prezentacijom CMT2 [78]. Posledice mutacije u genu za Atlastin GTP-azu 1 (eng. *Atlastin GTPase 1*, *ATL1*) se mogu ispoljiti u centralnom nervnom sistemu (CNS) i dovesti do nasledne spastične parapareze (HSP), ili uzrokovati perifernu neuropatiju (HSAN) bez zahvaćenosti CNS-a [64, 65], dok mutacije u genu za Dinamin 1 (eng. *Dynamain 1*, *DNM1*), pored periferne neuropatije, mogu uzrokovati

i miopatiju [66], a u genu za Fosfoinozimid 5-fosfatazu (eng. *Phosphoinositide 5-Phosphatase, FIG4*) bolesti motoneurona [67, 68]. Takođe, pokazano je da različite mutacije u istom genu mogu biti povezane sa različitim obrascima nasleđivanja (autozomno - dominantno i autozomno - recesivno nasleđivanje mutacija u genima za protein ranog odgovora na rast 2 ili kroks 20 (eng. *Early Growth Response-2/Krox 20, EGR2/Krox 20*), laki polipeptid proteina neurofilamenta (eng. *Neurofilament Protein, Light Chain, NEFL*) i za protein indukovani gangliozidom asocirani sa diferencijacijom 1 (eng. *Ganglioside-Induced Differentiation-Associated Protein 1, GDAP1*)) [6]. Analizom definisanih genskih panela smanjuje se vreme i obim bioinformatičke podrške neophodne za analizu rezultata, a broj utvrđenih varijanti nepoznatog značaja (eng. *Variants of Uncertain Significance, VUS*) je sveden na minimum, kao i mogućnost iznenadnih i sekundarnih otkrića (eng. *Incidental and Secondary Findings*). Na ovaj način je pojednostavljena i procedura komunikacije sa pacijentima. Sa druge strane, veliki broj novootkrivenih gena uzročnika IPN je identifikovan upravo analizom čitavog egzoma (eng. *Whole Exome Sequencing, WES*) ili varijantom analize koja uključuje klinički relevantne gene (analizom kliničkog egzoma), a konačno i analizama čitavog genoma (eng. *Whole Genome Sequencing, WGS*). Ovi pristupi su zahtevniji, kako u operativnom tako i u finansijskom smislu, ali omogućavaju identifikaciju novih gena uzročnika, a posebno imajući u vidu široku ekspresiranost velikog broja gena asociranih sa perifernim neuropatijama i sveprisutnost njihovih proteinskih produkata u različitim tkivima i organima. WGS analize takođe omogućavaju identifikaciju potencijalno uzročnih regiona i van kodirajuće sekvence. U zavisnosti od primenjene metode, dobija se u manjem ili većem obimu značajna količina informacija i potrebno je, dodatnim analizama (pretragom literature, pretragom prisustva učestalosti i fenotipske prezentacije varijanti u humanim genomima referentnih i drugih populacija, pretragama baza nukleotidnih sekvenci, *in silico* analizama mutiranih proteina, dodatnim MPS ili ciljanim analizama genoma roditelja ili analizama pedigreea, analizama transkriptoma i/ili funkcionalnim analizama) selektovati varijante i odvojiti potencijalne uzročnike bolesti od benignih i verovatno benignih varijanti. Analizom genskih panela, kao i drugim aplikacijama, značajan broj dobijenih VUS nukleotidnih varijanti su upravo heterozigotne mutacije koje dovode do gubitka funkcije (eng. *Loss-of-Function, LoF*) u genima asociranim sa neuropatijama, a za koje je predviđeno ili ranije potvrđeno da imaju recesivan efekat [64]. Ovakve mutacije ukazuju na moguće postojanje drugih *cis* i/ili *trans* faktora koji bi mogli da dovedu do inaktivacije i druge, naizgled, funkcionalne kopije gena. U zavisnosti od prethodno primenjene metodologije, to mogu, između ostalog, biti regioni koji nisu bili obuhvaćeni sekvenciranjem (nekodirajući regioni kod analiza egzoma), regioni koji iz tehničkih razloga nisu adekvatno pokriveni analizama kao npr. homopolimerni nizovi u koje se po pravilu uvode greške prilikom priprema biblioteka i regioni bogati G-C parovima koji se slabo amplifikuju lančanom reakcijom polimeraze (eng. *Polymerase Chain Reaction, PCR*) [79]. Takođe, standardnim metodama MPS-a koje uključuju umnožavanje ciljanih regiona PCR-om, te sekvenciranje preklapajućih regiona veličine 150-300 bp, nije moguće detektovati ili precizno locirati kompleksne strukturne rearanžmane, često neutralne po broju kopija, te nedetektabilne i drugim metodama, a koji u pojedinim slučajevima mogu objasniti fenomen nedostatka nasledljivosti (eng. *Missing Heritability*) [80]. Sa pojavom nove generacije sekvenciranja, posebno sekvenciranja pojedinačnih molekula DNK u realnom vremenu (eng. *Long-Read High Fidelity (Hi Fi) Single Molecule, Real-Time (SMRT) sequencing*) [81] kojim je omogućena analiza molekula DNK dužine i do nekoliko desetina hiljada baznih parova, bez umnožavanja PCR-om i praktično bez grešaka, otvara se mogućnost analize homopolimernih nizova, G-C bogatih sekvenci, a takođe i kompleksnih strukturnih varijacija [82]. Region u kome mapira detektovana strukturna varijacija može obuhvatiti gen ili gene od ranije asocirane sa perifernim neuropatijama, u kom slučaju se dodatnim analizama može utvrditi na koji način genetički rearanžman utiče na ekspresiju gena, te utvrditi genotip-fenotip korelacija. Do danas je opisano nekoliko desetina različitih strukturnih varijacija kod pacijenata sa naslednim perifernim neuropatijama, od kojih većina

obuhvata poznate gene – uzročnike IPN [83]. Sa druge strane, ukoliko rearanžman ne obuhvata protein – kodirajuće gene ili analize transkriptoma i funkcionalne analize ne ukazuju na poremećaje u njihovoj ekspresiji, patomehanizam nastanka bolesti za sada bi ostao nepoznat, a uzroke treba dalje tražiti i na nivou promena u arhitekturi hromatina [83].

Literatura:

1. England JD, Asbury AK. Peripheral neuropathy. *The Lancet* 2004; 363 (9427): 2151-2161.
2. Benoy V, d`Ydewalle C, Van Den Bosch L. Charcot-Marie-Tooth Disease and Other Peripheral Neuropathies. *Young Perspectives for Old Diseases* 2015;1: 269.
3. Weis J, Claeys KG, Roos A, Azzedine H, Katona I, Schröder JM *et al.* Towards a functional pathology of hereditary neuropathies. *Acta Neuropathol* 2017;133: 493-515.
4. Baets J, De Jonghe P, Timmerman V. Recent advances in Charcot-Marie-Tooth disease. *Current Opinion in Neurology* 2014;27 (5): 532-540.
5. Timmerman V, Strickland AV, Züchner S. Genetics of Charcot-Marie-Tooth (CMT) Disease within the Frame of the Human Genome Project Success. *Genes (Basel)* 2014;5(1): 13-32.
6. Eggermann K, Gess B, Häusler M, Weis J, Hahn A, Kurth I. Hereditary Neuropathies. *Dtsch Arztebl Int.* 2018;115(6): 91-97.
7. Pisciotta C, Shy ME. Neuropathy. *Handb Clin Neurol.* 2018;148: 653-665.
8. De Visser M. Diagnostic criteria for autosomal dominant hereditary motor and sensory neuropathy type Ia. *Neuromuscul Disord* 1993;3(1): 77-9.
9. De Jonghe P, Timmerman V, Ceuterick C, Nelis E, De Vriendt E, Löfgren A *et al.* (1999) The Thr124Met mutation in the peripheral myelin protein zero (MPZ) gene is associated with a clinically distinct Charcot-Marie-Tooth phenotype. *Brain* 1999;122: 281-90.
10. Reilly M. Classification and diagnosis of inherited neuropathies. *Ann Indian Acad Neurol* 2009;12: 80-8.
11. Bassam BA. Charcot-Marie-Tooth Disease Variants—Classification, Clinical, and Genetic Features and Rational Diagnostic Evaluation. *Journal of Clinical Neuromuscular Disease* 2014;15(3): 117-128.
12. Mathis S, Goizet C, Tazir M, Magdelaine C, Lia AS, Magy L *et al.* Charcot-Marie-Tooth diseases: an update and some new proposals for the classification. *J Med Genet* 2015;52(10): 681-690.
13. Rossor AM, Carr AS, Devine H, Chandrashekar H, Pelayo-Negro AL, Pareyson D *et al.* Peripheral neuropathy in complex inherited diseases: an approach to diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2017;88(10): 846-863.
14. Goizet C, Boukhris A, Mundwiler E, Tallaksen C, Forlani S, Toutain A *et al.* Complicated forms of autosomal dominant hereditary spastic paraplegia are frequent in SPG10. *Hum Mutat* 2009;30(02): E376-E385.
15. Caramins M, Colebatch JG, Bainbridge MN, Scherer SS, Abrams CK, Hackett EL *et al.* Exome sequencing identification of a GJB1 missense mutation in a kindred with X-linked spinocerebellar ataxia (SCA-X1). *Hum Mol Genet* 2013;22(21): 4329-4338.
16. Lupski JR and Garcia CA. Charcot-Marie-Tooth peripheral neuropathies and related disorders. In *Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, 8th ed., ed. Scriver CR *et al.*, 2000; New York: McGraw-Hill.
17. Baloh RH. Mitochondrial dynamics and peripheral neuropathy. *Neuroscientist.* 2008;14(1): 12-8.
18. Saporta MA, Shy ME. Inherited peripheral neuropathies. *Neurol Clin.* 2013;31(2):5 97-619.
19. Pareyson D, Saveri P, Sagnelli A, Piscoquito G. Mitochondrial dynamics and inherited peripheral nerve diseases. *Neurosci Lett.* 2015;596: 66-77.
20. Numakura C, Shirahata E, Yamashita S, Kanai M, Kijima K, Matsuki T *et al.* () Screening of the early growth response 2 gene in Japanese patients with Charcot-Marie-Tooth disease type 1. *J Neurol Sci* 2003 ;210(1-2): 61-4.
21. Funfschilling U, Supplie LM, Mahad D, Boretius S, Saab AS, Edgar J *et al.* Glycolytic oligodendrocytes maintain myelin and long-term axonal integrity. *Nature* 2012;485(7399): 517-21.
22. Jerath NU, Shy ME. Hereditary motor and sensory neuropathies: Understanding molecular pathogenesis could lead to future treatment strategies. *Biochim Biophys Acta* 2015;1852(4): 667-78.
23. Niemann A, Berger P, Suter U. Pathomechanisms of mutant proteins in Charcot-Marie-Tooth disease. *Neuromolecular Med* 2006;8(1-2): 217-42.
24. Roa BB, Warner LE, Garcia CA, Russo D, Lovelace R, Chance PF *et al.* Myelin protein zero (MPZ) gene mutations in nonduplication type 1 Charcot-Marie-Tooth disease. *Hum Mutat* 1996;7(1): 36-45.
25. Nicholson G, Nash J. Intermediate nerve conduction velocities define X-linked Charcot-Marie-Tooth neuropathy families. *Neurology* 1993;43(12): 2558-64.
26. Schenone A, Mancardi GL. Molecular basis of inherited neuropathies. *Current Opinion in Neurology* 1999;12: 603-616.
27. Bergoffen J, Trofatter J, Pericak-Vance MA, Haines JL, Chance PF, Fischbeck KH. Linkage localization of X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Am J Hum Genet* 1993.52(2): 312-8.

28. Balice-Gordon RJ, Bone LJ, Scherer SS. Functional gap junctions in the Schwann cell myelin sheath. *J Cell Biol* 1998;142(4): 1095-104.
29. Bone LJ, Deschênes SM, Balice-Gordon RJ, Fischbeck KH, Scherer SS. Connexin32 and X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurobiol Dis* 1997;4(3-4):2 21-30.
30. Notterpek L, Snipes GJ, Shooter EM. Temporal expression pattern of peripheral myelin protein 22 during in vivo and in vitro myelination. *Glia* 1999;25(4): 358-69.
31. Fortun J, Dunn WA, Jr., Joy S, Li J, Notterpek L. Emerging role for autophagy in the removal of aggresomes in Schwann cells. *J Neurosci*. 2003;23(33): 10672-80.
32. Fortun J, Verrier JD, Go JC, Madorsky I, Dunn WA, Notterpek L. The formation of peripheral myelin protein 22 aggregates is hindered by the enhancement of autophagy and expression of cytoplasmic chaperones. *Neurobiol Dis* 2007;25(2): 252-65.
33. Fortun J, Go JC, Li J, Amici SA, Dunn WA, Jr., Notterpek L. Alterations in degradative pathways and protein aggregation in a neuropathy model based on PMP22 overexpression. *Neurobiol Dis* 2006;22(1): 153-64.
34. Lee S, Bazick H, Chittoor-Vinod V, Al Salihi MO, Xia G, Notterpek L. Elevated Peripheral Myelin Protein 22, Reduced Mitotic Potential, and Proteasome Impairment in Dermal Fibroblasts from Charcot-Marie-Tooth Disease Type 1A Patients. *Am J Pathol*. 2018;188(3): 728-38.
35. Wrabetz L, D'Antonio M, Pennuto M, Dati G, Tinelli E, Fratta P *et al*. Different intracellular pathomechanisms produce diverse Myelin Protein Zero neuropathies in transgenic mice. *J Neurosci* 2006;26(8): 2358-68.
36. Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmicreticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8(7): 519-29.
37. Hetz C, Chevet E, Oakes SA. Proteostasis control by the unfolded protein response. *Nat Cell Biol* 2015;17(7): 829-38.
38. Saporta MA, Shy BR, Patzko A, Bai Y, Pennuto M, Ferri C *et al*. MpzR98C arrests Schwann cell development in a mouse model of early-onset Charcot-Marie-Tooth disease type 1B. *Brain* 2012;135: 2032-47.
39. Krajewski KM, Lewis RA, Fuerst DR, Turansky C, Hinderer SR, Garbern J *et al*. Neurological dysfunction and axonal degeneration in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Brain* 2000;123(7): 1516-27.
40. McCray BA, Scherer SS. Axonal Charcot-Marie-Tooth Disease: from Common Pathogenic Mechanisms to Emerging Treatment Opportunities. *Neurotherapeutics* 2021;18(4): 2269-2285.
41. Beijer D, Sisto A, Van Lent J, Baets J & Timmerman V. Defects in Axonal Transport in Inherited Neuropathies. *J Neuromuscul Dis* 2019;6: 401-419.
42. Zuchner S, De Jonghe P, Jordanova A, Claeys KG, Guergueltcheva V, Cherninkova S *et al*. Axonal neuropathy with optic atrophy is caused by mutations in mitofusin 2. *Ann Neurol* 2006;59: 276-281.
43. Feely SM, Laura M, Siskind CE, Sottile S, Davis M, Gibbons VS *et al*. MFN2 mutations cause severe phenotypes in most patients with CMT2A. *Neurology* 2011;76: 1690-1696.
44. McCorquodale DS 3rd, Montenegro G, Peguero A, Carlson N, Speziani F, Price J *et al*. Mutation screening of mitofusin 2 in Charcot-Marie-Tooth disease type 2. *J Neurol* 2011;258: 1234-1239.
45. Pipis M, Feely SME, Polke JM, Skorupinska M, Perez L, Shy R *et al*. Natural history of Charcot-Marie-Tooth disease type 2A: a large international multicentre study. *Brain* 2020;143: 3589-3602.
46. Antonellis A, Ellsworth RE, Sambuughin N, Puls I, Abel A, Lee-Lin SQ *et al*. Glycyl tRNA synthetase mutations in Charcot-Marie-Tooth disease type 2D and distal spinal muscular atrophy type V. *Am J Hum Genet* 2003;72: 1293-1299.
47. Jordanova A, Irobi J, Thomas FP, Van Dijck P, Meerschaert K, Dewil M *et al*. Disrupted function and axonal distribution of mutant tyrosyl-tRNA synthetase in dominant intermediate Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Nat Genet* 2006;38: 197-202.
48. Safka Brozkova D, Deconinck T, Griffin LB, Ferbert A, Haberlova J, Mazanec R *et al*. Loss of function mutations in HARS cause a spectrum of inherited peripheral neuropathies. *Brain* 2015;138: 2161-2172.
49. Tsai PC, Soong BW, Mademan I, Huang YH, Liu CR, Hsiao CT *et al*. A recurrent WARS mutation is a novel cause of autosomal dominant distal hereditary motor neuropathy. *Brain* 2017; 140: 1252-1266.
50. McLaughlin HM, Sakaguchi R, Liu C, Igarashi T, Pehlivan D, Chu K *et al*. Compound heterozygosity for loss-of-function lysyl-tRNA synthetase mutations in a patient with peripheral neuropathy. *Am J Hum Genet* 2010;87: 560-566.
51. Gonzalez M, McLaughlin H, Houlden H, Guo M, Yo-Tsen L, Hadjivassiliou M *et al*. Exome sequencing identifies a significant variant in methionyl-tRNA synthetase (MARS) in a family with late-onset CMT2. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013;84: 1247-1249.
52. Niehues S, Bussmann J, Stefes G, Erdmann I, Kohrer C, Sun L *et al*. Impaired protein translation in Drosophila models for Charcot-Marie-Tooth neuropathy caused by mutant tRNA synthetases. *Nat Commun* 2015;6: 7520.

53. *Inherited Peripheral Neuropathies Mutation Database - IPNMD*, 2007.
54. Keckarevic-Markovic M, Milic-Rasic V, Mladenovic J, Dackovic J, Kecmanovic M, Keckarevic D *et al*. Mutational analysis of GJB1, MPZ, PMP22, EGR2, and LITAF/SIMPLE in Serbian Charcot-Marie-Tooth patients. *J Peripher Nerv Syst* 2009;14(2): 125-36.
55. Lupski JR, de Oca-Luna RM, Slauchaupt S, Pentao L, Guzzetta V, Trask BJ *et al*. DNA duplication associated with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Cell* 1991;66(2): 219-32.
56. Katona I, Wu X, Feely SM, Sottile S, Siskind CE, Miller LJ, *et al*. PMP22 expression in dermal nerve myelin from patients with CMT1A. *Brain* 2009;132: 1734-40.
57. Chance PF, Alderson MK, Leppig KA, Lensch MW, Matsunami N, Smith B *et al*. DNA deletion associated with hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Cell* 1993;72(1): 143-51.
58. Dackovic J, Keckarevic-Markovic M, Komazec Z, Rakocevic-Stojanovic V, Lavrnic D, Stevic Z *et al*. Hereditary motor and sensory neuropathy Lom type in a Serbian family. *Acta Myol* 2008;27(2): 59-62.
59. Keckarevic Markovic MP, Dackovic J, Mladenovic J, Milic-Rasic V, Kecmanovic M, Keckarevic D *et al*. An algorithm for genetic testing of Serbian patients with demyelinating Charcot-Marie-Tooth. *Genet Test Mol Biomarkers* 2013;17(1): 85-7.
60. Saporta AS, Sottile SL, Miller LJ, Feely SM, Siskind CE, Shy ME. Charcot-Marie-Tooth disease subtypes and genetic testing strategies. *Ann Neurol* 2011;69(1): 22-33.
61. Murphy SM, Laura M, Fawcett K, Pandraud A, Liu YT, Davidson GL *et al*. Charcot-Marie-Tooth disease: frequency of genetic subtypes and guidelines for genetic testing. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012;83(7): 706-10.
62. Fridman V, Bundy B, Reilly MM, Pareyson D, Bacon C, Burns J *et al*. CMT subtypes and disease burden in patients enrolled in the Inherited Neuropathies Consortium natural history study: a cross-sectional analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015;86(8): 873-8.
63. Rossor AM, Polke JM, Houlden H, Reilly MM. Clinical implications of genetic advances in Charcot-Marie-Tooth disease. *Nat Rev Neurol* 2013;9(10): 562-71.
64. Cortese A, Wilcox JE, Polke JM, Poh R, Skorupinska M, Rossor AM *et al*. Targeted next-generation sequencing panels in the diagnosis of Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurology*. 2020;94(1): e51-e61.
65. Hübner CA, Kurth I. Membrane-shaping disorders: a common pathway in axon degeneration. *Brain* 2014;137: 3109-21.
66. Timmerman V, Clowes VE, Reid E. Overlapping molecular pathological themes link Charcot-Marie-Tooth neuropathies and hereditary spastic paraplegias. *Exp Neurol*. 2013;246: 14-25.
67. Jungbluth H, Wallgren-Pettersson C, Laporte J. Centronuclear (myotubular) myopathy. *Orphanet J Rare Dis*;3: 26.
68. Chow CY, Zhang Y, Dowling JJ, Jin N, Adamska M, Shiga K *et al*. Mutation of FIG4 causes neurodegeneration in the pale tremor mouse and patients with CMT4J. *Nature* 2007;448(7149): 68-72.
69. Chow CY, Landers JE, Bergren SK, Sapp PC, Grant AE, Jones JM *et al*. Deleterious variants of FIG4, a phosphoinositide phosphatase, in patients with ALS. *Am J Hum Genet*. 2009;84(1): 85-8.
70. Cortese A, Manole A, Ashokkumar B. Functional validation of non-coding variants of GJB1 in patients with CMTX1. *Neuromuscul Disord* 2017;27: S25.
71. Zhang F, Seeman P, Liu P, Weterman MA, Gonzaga-Jauregui C, Towne CF *et al*. Mechanisms for nonrecurrent genomic rearrangements associated with CMT1A or HNPP: rare CNVs as a cause for missing heritability. *Am J Hum Genet* 2010;86(6): 892-903.
72. Jones EA, Lopez-Anido C, Srinivasan R, Krueger C, Chang LW, Nagarajan R *et al*. Regulation of the PMP22 gene through an intronic enhancer. *J Neurosci* 2011;31(11): 4242-50.
73. Jones EA, Brewer MH, Srinivasan R, Krueger C, Sun G, Charney KN *et al*. Distal enhancers upstream of the Charcot-Marie-Tooth type 1A disease gene PMP22. *Hum Mol Genet*. 2012;21(7): 1581-91.
74. Hayasaka K, Himoro M, Sato W, Takada G, Uyemura K, Shimizu N *et al*. Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 1B is associated with mutations of the myelin P0 gene. *Nat Genet* 1993;5(1): 31-4.
75. Kleffner I, Schirmacher A, Gess B, Boentert M, Young P. Four novel mutations of the myelin protein zero gene presenting as a mild and late-onset polyneuropathy. *J Neurol* 2010;257(11): 1864-8.
76. Marrosu MG, Vaccargiu S, Marrosu G, Vannelli A, Cianchetti C, Muntoni F. Charcot-Marie-Tooth disease type 2 associated with mutation of the myelin protein zero gene. *Neurology* 1998;50(5): 1397-401.
77. Floroskufi P, Panas M, Karadima G, Vassilopoulos D. New mutation of the MPZ gene in a family with the Dejerine-Sottas disease phenotype. *Muscle Nerve* 2007;35(5): 667-9.

78. Rudnik-Schöneborn S, Tölle D, Senderek J, Eggermann K, Elbracht M, Kornak U *et al.* Diagnostic algorithms in Charcot-Marie-Tooth neuropathies: experiences from a German genetic laboratory on the basis of 1206 index patients. *Clin Genet* 2016;89(1): 34-43.
79. Pipis M, Rossor AM, Laura M, Reilly MM. Next-generation sequencing in Charcot-Marie-Tooth disease: opportunities and challenges. *Nat Rev Neurol* 2019;15(11): 644-656.
80. Theunissen F, Flynn LL, Anderton RS, Mastaglia F, Pytte J, Jiang L *et al.* Structural Variants May Be a Source of Missing Heritability in sALS. *Front Neurosci* 2020;14: 47.
81. Eid J, Fehr A, Gray J, Luong K, Lyle J, Otto G *et al.* Real-time DNA sequencing from single polymerase molecules. *Science* 2009;323(5910): 133-8.
82. Mantere T, Kersten S, Hoischen A. Long-Read Sequencing Emerging in Medical Genetics. *Front Genet* 2019;10: 426.
83. Cutrupi AN, Brewer MH, Nicholson GA, Kennerson ML. Structural variations causing inherited peripheral neuropathies: A paradigm for understanding genomic organization, chromatin interactions, and gene dysregulation. *Mol Genet Genomic Med* 2018;6(3): 422-433.



IMPRESUM

Trendovi u molekularnoj biologiji, 2022.

Izdavač

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

Urednik

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

Uređivački odbor

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 izlaženja publikacije

Godišnje

Tiraž

100 primeraka

Autori

Aleksandar Cingel.....	238
Ana Branković.....	63
Ana Djordjević.....	63
Branislava Medić Brkić.....	15
Dragana Srebro.....	15
Dunja Drakulić.....	168
Dusan Keckarević.....	51, 275
Goran Brajušković.....	63
Gordana Matić.....	8
Ilona Đorić.....	75
Ivana Guševac Stojanović.....	168
Jelena Martinović.....	186
Jelena Perić.....	143
Jovana Despotović.....	90
Katarina Savić Vujović.....	15
Katarina Zeljić.....	223
Mariana Stanišić.....	255
Marijana B. Živković.....	104
Marina Zarić Kontić.....	186
Milena Trajković.....	238
Milena Ugrin.....	32
Milica Keckarević Marković.....	51, 275
Milica Popović.....	63
Miljana Kecmanović.....	51, 275
Neda Đorđević.....	206
Nevena Banjac.....	223
Nikola Jovanović.....	125
Predrag Vujović.....	155
Sladjana Jevremović.....	238
Slavica Ninković.....	223
Sonja Šelemetjev.....	75
Sonja Vučković.....	15
Suzana Matijašević-Joković.....	63
Tamara Dakić.....	155
Tatjana Mitrović.....	125
Tijana Išić Denčić.....	75
Zorana Dobrijević.....	63

CIP - Каталогизacija u publikaciji
Nародна библиотека Србије, Београд

577.2

TRENDOVI u molekularnoj biologiji = Trends in
Molecular Biology. - 2022, br. 2 (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