

bi se u djece uočile crno obojene pelene.⁶ Iako dijagnostička potvrda alkaptonurije nije komplicirana, a temelji se na kvantitativnom određivanju HTA u urinu, samo 21% bolesnika prepoznato je prije prve godine života.^{2,4}

Trenutačno ne postoji specifično i učinkovito etiološko liječenje, ali holistički pristup liječnika bolesniku važan je za poboljšanje kvalitete života i sprječavanje invaliditeta. Suportivna terapija, npr., upotreba nesteroidnih antireumatika i fizikalne terapije, korisna je u liječenju arthropatije. Međutim, očekivano trajanje života bolesnika je nepromijenjeno, a uzroci smrti su isti kao u općoj populaciji.^{1,2,4} Niti-zinon, kompetitivni inhibitor 4-hidroksifenilpiruvat dioksidaze, znatno smanjuje stvaranje i izlučivanje HTA urinom, međutim, dugoročna učinkovitost i nuspojave ovakvog liječenja nepoznate su. Identificiranje gena za alkaptonuriju pruža potencijal za novi terapijski pristup koji uključuje zamjensku terapiju rekombinantnim enzimom.⁴ U uznapredovaloj bolesti kirurška zamjena zglobova i aortalne valvule obično rezultira znatnim poboljšanjem kvalitete života. Većina bolesnika s ohronozom treba ortopedsku operaciju, uključujući i našu bolesnicu (totalna endoproteza lijevog kuka). Srednja dob kirurške zamjene zgloba je 55 godina.²

Zaključak

Iako je alkaptonurija rijetka bolest i ne utječe bitno na mortalitet, rano prepoznavanje simptoma, postavljanje dijagnoze i adekvatno simptomatsko liječenje znatno poboljšavaju kvalitetu života ovih bolesnika. Bolesnici s alkaptonurijom vrlo često su dugo godina liječeni pod kri-

vom dijagnozom te prolaze nepotrebne i skupe dijagnostičke postupke. Napredak u ortopediji i kardiokirurgiji omogućio je brojnim bolesnicima s alkaptonurijom poboljšanje kvalitete života i smanjenje invalidnosti.

Važno je razgovarati s bolesnikom o njegovim potrebama i očekivanjima vezanima za bolest, razmisliti o potencijalnim ugrožavajućim čimbenicima (ortopedska operacija, zamjena aortalne valvule) i čimbenicima rizika (osteoporoza, progresivna ateroskleroza), obaviti genetičko savjetovanje, educirati bolesnika o prehrani i tjelesnoj aktivnosti (ciljane medicinske vježbe i aerobne aktivnosti kao što su plivanje, vožnja bicikla i sl.).

LITERATURA

1. Verma SB. Early detection of alkaptonuria. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2005;71:189–91.
2. Phornphutkul C, Introne WJ, Perry MB, Bernardini I, Murphey MD, Fitzpatrick DL i sur. Natural history of alkaptonuria. *N Engl J Med* 2002;347:2111–21.
3. Kontinen YT, Hoikka V, Landtman M, Saari H, Santavirta S, Metsärinne K i sur. Ochronosis: a report of a case and a review of literature. *Clin Exp Rheumatol* 1989;7:435–44.
4. Fisher AA, Davis MW. Alkaptonuric ochronosis with aortic valve and joint replacements and femoral fracture: a case report and literature review. *Clin Med Res* 2004;2:209–15.
5. Balaban B, Taskaynatan M, Yasar E, Tan K, Kalyon T. Ochronotic spondyloarthropathy: spinal involvement resembling ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol* 2006;25:598–601.
6. Mishra V, Ranganath LR. Pigmented sclera: a diagnostic challenge? *Postgrad Med J* 2004;80:491.
7. Mistry JB, Bukhari M, Taylor AM. Alkaptonuria. *Rare Dis* 2013;1:e27475.

PROLAZNI NEONATALNI DIJABETES UZROKOVAN NOVOM AKTIVIRAJUĆOM MUTACIJOM KCNJ11-GENA I USPJEŠNO PREVOĐENJE NA TERAPIJU SULFONILUREJOM

TRANSIENT NEONATAL DIABETES CAUSED BY ACTIVATING NOVEL KCNJ11 GENE MUTATION AND SUCCESSFUL TRANSFER TO SULPHONYLUREA THERAPY

GORDANA STIPANČIĆ, MARIJA POŽGAJ ŠEPEC, LAVINIA LA GRASTA SABOLIĆ*

Deskriptori: Šećerna bolest – farmakoterapija, genetika; Bolesti novorođenačke dobi – farmakoterapija, genetika; Antidi-jabetici – terapijska primjena; Glibenklamid – terapijska primjena; Receptori sulfonilureje – genetika; Inzulin – terapijska primjena; KATP kanali – genetika; Mutacija

Sažetak. Neonatalni diabetes mellitus (NDM) rijetka je monogenska forma dijabetesa koja se klinički prezentira uglavnom do 6. mjeseca života. Javlja se u obliku trajnog i prolaznog NDM-a. Dok je u trajnom NDM-u liječenje nužno cijeli život, u prolaznom NDM-u nakon nekoliko tjedana ili mjeseci liječenja dolazi do remisije, a samo oko 50% oboljelih doživi relaps bolesti tijekom adolescencije ili u ranoj odrasloj dobi. Mutacije ABCC8 ili rjeđe KCNJ11-genâ koji kodiraju pod-jedinice kalijeva kanala (K_{ATP}-kanal) ovisnog o adenozin trifosfatu uzrok su bolesti u manje od 30% oboljelih. Prikazujemo svoju bolesnicu s prolaznim NDM-om uzrokovanim novom aktivirajućom mutacijom KCNJ11-gena s učinkom na Kir6.2-podjedinicu K_{ATP}-kanala i uspješno prevođenje s inzulinske terapije na terapiju sulfonilurejom. Genetička analiza

* Klinika za pedijatriju, KBC Sestre milosrdnice (doc. dr. sc. Gordana Stipančić, dr. med.; Marija Požgaj Šepc, dr. med.; prim. Lavinia La Grasta Sabolić, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Doc. dr. sc. G. Stipančić, Klinika za pedijatriju, KBC Sestre milosrdnice, Vinogradska cesta 29, 10000 Zagreb, Hrvatska, e-mail: gordana.stipancic@zg.t-com.hr

Primljeno 30. rujna 2016., prihvaćeno 3. srpnja 2017.

učinjena je u 22. godini života, 12 godina nakon relapsa bolesti te nakon 10 godina inzulinske terapije. Nakon 3 mjeseca terapije peroralnim preparatom sulfonilureje normalizirala se razina HbA1c, a potom i razina inzulina te C-peptida. **Zaključak:** Potvrdom monogenetskog oblika dijabetesa genetička analiza može promijeniti terapijski pristup s pozitivnim učinkom na kontrolu i tijek bolesti, kvalitetu života te otvara mogućnost genetičkog savjetovanja.

Descriptors: Diabetes mellitus – drug therapy, genetics; Infant, newborn, diseases – drug therapy, genetics; Hypoglycemic agents – therapeutic use; Glyburide – therapeutic use; Sulfonylurea receptors – genetics; Insulin – therapeutic use; Katp channels – genetics; Mutation

Summary. Neonatal diabetes mellitus (NDM) is a rare monogenic form of diabetes that usually presents within the first six months of life. It occurs in the form of transient and permanent NDM. Permanent NDM requires life-long treatment while TNDM resolves few weeks or months after treatment initiation, with relapse occurring only in around 50% of patients during their adolescence or young adult life. Mutations in ABCC8, or less often in KCNJ11 gene (coding subunit of the ATP-sensitive potassium channel (K_{ATP} channel)) cause the disease in less than 30% of all patients. We present our female patient with transient NDM caused by a novel activating KCNJ11 mutation in the Kir6.2 subunit of the K_{ATP} channel and her successful transfer from insulin to sulphonylurea therapy. Genetic testing was done at the age of 22 years, 12 years after disease relapse and ten years of insulin treatment. Three months after transfer to sulphonylurea therapy HbA1c levels normalised, followed by normalisation of C-peptide and insulin values as well. **Conclusion:** Using genetic analysis to confirm monogenic form of diabetes changes the therapeutical approach with positive effect on disease control and course and opens the possibility of genetic counseling.

Liječ Vjesn 2017;139:224–229

Neonatalni dijabetes mellitus (NDM) rijetka je monogenetska forma dijabetesa koja se klinički prezentira većinom do 6. mjeseca života. Protutijela na β -stanicu gušterače uglavnom su negativna. Sustav humanih leukocitnih antigena (HLA) sukladan je onom u općoj populaciji, a ne u bolesnika sa šećernom bolesti tipa 1 (ŠB1).^{1,2}

NDM se javlja u trajnom i prolaznom obliku. Dok je u trajnom NDM-u liječenje nužno cijeli život, u prolaznom NDM-u nakon nekoliko tjedana ili mjeseci liječenja inzulinom dolazi do remisije bolesti. Pretpostavlja se da će oko 50% oboljelih doživjeti relaps bolesti najčešće tijekom adolescencije ili u ranoj odrasloj dobi.^{3,4} Nije potpuno jasno zašto do relapsa dolazi samo u nekih bolesnika i zbog čega upravo tijekom adolescencije. Masa β -stanica gušterače povećava se u postnatalnom razdoblju procesom umnažanja.^{5,6} Iako je funkcija β -stanica u prolaznom NDM-u oštećena, čini se da upravo povećanje njihove mase u postnatalnom razdoblju dovodi do remisije bolesti. Kasniji relaps vjerojatno je uzrokovan fiziološkom ili stečenom smanjenom osjetljivošću na inzulin, na što β -stanice u tih bolesnika ne mogu odgovoriti njegovim pojačanim izlučivanjem.^{2,7}

Prema novijim istraživanjima, provedenim u populacijama europskih zemalja, učestalost NDM-a iznosi oko 1 : 90.000 živorođene djece. 10 – 40% oboljelih ima prolazni NDM.^{8,9}

Do danas su poznata 22 gena odgovorna za razvoj NDM-a, s mutacijom 21 gena i poremećajem metilacije na kromosomu 6q24. Većina gena uzrokuje trajni, a tek nekoliko njih prolazni NDM. Etiološka dijagnoza moguća je danas u više od 80% oboljelih, ali i nadalje ostaje nerazjašnjen uzrok u barem 20% bolesnika, i to ponajprije u onih s trajnim NDM-om.¹⁰ Genska osnova dovodi do poremećaja u funkciji β -stanice, njezina razaranja ili do poremećaja u razvoju gušterače.⁴ NDM je većinom izolirana bolest, ali u nekih bolesnika razni poremećaji prošireni su i na druge organske sustave, što može definirati određena sindromska stanja i na taj način usmjeriti genetičku analizu.⁴

Manji broj bolesnika s NDM-om ima prolazni NDM. Najčešće je uzrokovan pojačanim izražajem gena na kromosomu 6q24 očeva podrijetla. U manje od 30% oboljelih uzrok je u mutaciji ABCC8 ili rjeđe KCNJ11-genâ koji kodiraju dvije podjedinice kalijeve kanala ovisnog o adenozin trifosfatu (K_{ATP} -kanal) na membrani β -stanice gušterače. U

tom obliku bolesti postoji mogućnost zamjene inzulinske terapije peroralnim preparatom sulfonilureje, što poboljšava i stabilizira kontrolu bolesti.^{11,12}

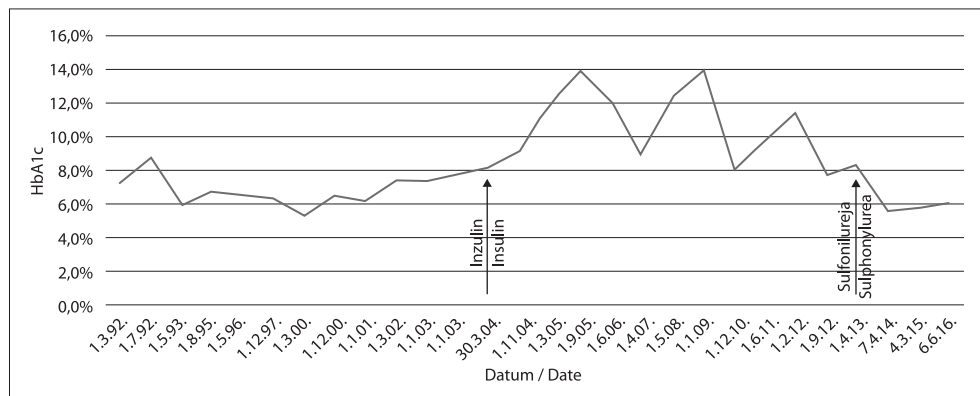
Prikazujemo svoju bolesnicu s prolaznim NDM-om uzrokovanim novom aktivirajućom mutacijom KCNJ11-gena i uspješno prevođenje na terapiju sulfonilurejom u ranoj odrasloj dobi, nakon 10 godina neuspješne inzulinske terapije.

Prikaz bolesnice

A. D., žensko dojenče rođeno u lipnju 1991. godine u Zagrebu, hospitalizirano je u dobi od 5 mjeseci u stanju teške dijabetičke ketoacidoze (DKA). Radi se o drugom djetetu mladih i zdravih roditelja, Albanaca iz Makedonije, koji nisu u krvnom srodstvu. Stariji brat tada u dobi od 4,5 godina bio je zdrav. Prema obiteljskoj anamnezi, djed se liječio od epilepsije, a šećerne bolesti nema. Trudnoća je protekla uredno, dovršena terminskim spontanom porođajem u rodilištu, rodna masa (RM) 2,9 kg, rodna dužina (RD) 50 cm, 50 c, 0,0 SDS, APGAR 8/9. Zbog perinatalnog infekta provedena je antibiotska terapija, acidoza je korigirana parenteralnom hidracijom i bikarbonatima, zbog hipokalcemije primala je nadoknadu kalcijem, a zbog hiperbilirubinemije (maks. bilirubin 229 $\mu\text{mol/l}$) bila je tretirana fototerapijom, uredno je BCG-irana. Dojena, a s 4,5 mjeseci uvedena dohrana. D₃-vitamin dobivala od 2. mjeseca života. Od 1. mjeseca života ima jak osip u pelenskoj regiji koji na primijenjenu terapiju ne regredira. Do bolesti koja je uzrokovala hospitalizaciju nije bila akutno bolesna, težina je uredno napredovala, psihomotorički razvoj tekao je uredno.

Bolest započinje pet dana prije hospitalizacije, kada dijete postaje neraspoloženo, klonulo i teško diše. Treći dan bolesti počinje povraćati nakon svakog obroka, ima proljevaste zelene stolice bez primjesa, nadalje je klonulo i teško diše zbog čega mjerodavni liječnik započinje liječenje penicilinom. Sljedećeg dana dijete je potpuno klonulo, ubrzano dubokog disanja, usna šupljina obložena bijelim naslagama te se nakon pregleda u mjerodavnoj ambulanti upućuje u bolnicu.

Kod prijma moribundno (umiruće) žensko dojenče, sivih i hladnih okrajina, T_{rek} 36 °C, dah intenzivna mirisa na acetone, ubrzanih, dubokih respiracija (Kussmaulovo disanje) 40/min, puls 150/min, velika fontanela 2 × 2 cm, upala, tur-



Slika 1. Kretanje HbA1c tijekom praćenja
Figure 1. HbA1c values during follow-up

gor oslabljen, sluznice suhe, sluznica usne šupljine prekrivena bijelim naslagama soora na ranjivoj, krvarećoj podlozi. Perigenitalno velik defekt kože uz deskvamaciju. Tjelesna duljina iznosila je 65 cm, 75 c, 0,7 SDS, tjelesna masa (TM) 5,96 kg, tjelesna masa u odnosu prema tjelesnoj duljini iznosila je 81%.

Nalazi učinjenih pretraga upućivali su na tešku DKA s glikemijom 33,7 mmol/l, pH 7,0, HCO₃ 4,0 mmol/l, BE – 23,5. U elektrolitskom statusu Na 141,3 mmol/l, K 4,1 mmol/l, Cl 102,6 mmol, uz ureju 11,2 mmol/l i kreatinin 384 μmol/l. Na rendgenskoj snimci pluća nalaz je bio uredan, hemokultura negativna, stolica bakteriološki i na rotavirus negativna.

Provedena je terapija DKA koja je uključivala nadoknadu tekućine i elektrolita uz trajnu intravensku primjenu humanog inzulina brzog djelovanja, a nakon normalizacije i stabilizacije glikemije i acidobaznog poremećaja nastavljeno je sa supkutanom primjenom inzulina uz reguliranu dojenačku prehranu. Upotrijebljeni su humani inzulini, brzo djelujući (Actrapid HM) i srednje dugodjelujući (Insulatard HM) prema konvencionalnom tipu liječenja, u dvije doze na dan, prije doručka i večere.

Titar antitijela na inzulin učinjen nekoliko dana nakon uvođenja inzulinske terapije iznosio je 2,3%, dok druga antitijela na β-stanicu Langerhansovih otočića u trenutku prezentacije bolesti nisu određivana.

HLA-tipizacijom utvrđeni su ovi antigeni: HLA-A1, 3; HLA-B8, 35; HLA-C7, 16; HLA-DRB1*3, 13; HLA-DQB1*2, 6.

C-peptid u 24-satnom urinu 0,7 nmol/24 h [referentni raspon (RR) 10 – 50 nmol/24 h].

Nakon 2 mjeseca inzulinske terapije bolest ulazi u potpunu remisiju i liječenje se nastavlja prema pravilima uravnotežene prehrane uz ograničenje jednostavnih ugljikohidrata. Samo jedanput, tijekom liječenja pneumonije, nekoliko dana bila je potrebna i inzulinska terapija. U daljnjem tijeku bolesti je shvaćena remisijom ŠB1 te je savjetovan nastavak uravnotežene prehrane na što je razina glikemije natašte bila uredna, a nakon obroka odgovarala poremećenoj toleranciji glukoze. Razina HbA1c bila je u rasponu od 5,9 do 6,2% (41 – 44 mmol/l). Do relapsa bolesti, koji se prvo očitovao glikemijom natašte iznad 7,0 mmol/l, dolazi u 10. godini života. Liječenje je nastavljeno uravnoteženom prehranom, a razina HbA1c iznosila je između 6,2 i 7,4% (44 – 57 mmol/mol). Titrovi antitijela na dekarboksilazu glutaminske kiseline (GAD) i tirozin-fosfatazu (IA 2) bili su i nadalje negativni, a razina C-peptida u serumu i urinu ispod RR-a. U dobi od 12 godina zbog daljnjeg porasta glikemije i razine HbA1c uvedena je intenzivirana inzulinska terapija prvo humanim inzulinom, a potom inzulinskim analogima.

Tablica 1. Biokemijski odgovor pacijentice s TNDM-om na terapiju glibenklamidom (HbA1c, C-peptid i vrijednosti glikemije)

Table 1. Biochemical response of the patient with TNDM to the glibenclamide therapy (HbA1c, C peptide and blood glucose values)

Mjesec/godina Month/year	03/13	01/14	06/16
TV (cm)/ TT (kg)	168,7/54,2	169,4/53,2	169,7/51,5
Height (cm)/Weight (kg)	168,7/54,2	169,4/53,2	169,7/51,5
ITM (kg/m ²) c, SDS	19,0 (11,2; -1,21)	18,5 (6,2; -1,54)	17,8 (4,4; -1,70)
BMI (kg/m ²) p, SDS	19,0 (11,2; -1,21)	18,5 (6,2; -1,54)	17,8 (4,4; -1,70)
Glikemija 0 h – 2 h Blood glucose 0 h – 2 h	7,9 – 9,9	6,5 – 3,0	5,5 – 3,1
C-peptid 0 h – 2 h / C peptide 0 h – 2 h nmol/L	< 0,03 – 0,1 (r. v. 0,3 – 2,4)	0,17 – 0,86 (r. v. 0,3 – 2,4)	0,57 – 0,94 (r. v. 0,37 – 1,47)
C-peptid urin Urine C peptide (nmol/24 h) (r. v. 10 – 50)	0,78	11,56	14,19
Glibenklamid Glibenclamide mg/kg/day	0,05	0,10	0,10
HbA1c (%)	8,3	6,0	6,0
Mmol/mol	67	42	42

Dozom inzulina do 0,85 j/kg/dan nije postignuta zadovoljavajuća kontrola bolesti i razina HbA1c iznosila je od 7,4 do 12,7% (57 – 115 mmol/mol) (slika 1.). Tijekom bolesti nije zabilježena nijedna epizoda DKA, a ni teška hipoglikemija.

Djevojčica nije pokazivala odstupanja u neurološkom razvoju, ali tijekom školovanja bile su prisutne teškoće u učenju, posebno u savladavanju matematike. Psihološko testiranje pokazalo je intelektualno funkcioniranje u širim granicama normale za dob, kategorija ispod prosjeka [REVISK IQ 81 (verb. 86, neverb. 75)].

Genetička analiza na NDM, učinjena u 22. godini života sekvenciranjem KCNJ11-gena, utvrdila je novu, do sada neutvrđenu mutaciju krivog smisla na eksonu 1 (c.145A > T; p.I49F), zamjenu adenina tiaminom (A > T-mutacija) u 145. nukleotidu, što rezultira supstitucijom izoleucina fenilalaninom na kodonu 49. Time je potvrđena dijagnoza NDM-a uzrokovanog heterozigotnom aktivirajućom mutacijom Kir6.2-podjedinice K_{ATP}-kanala. Budući da mutacija nije potvrđena u roditelja, radi se o *de novo* mutaciji.

U ožujku 2013. godine u bolesnice je u bolničkim uvjetima inzulinska terapija zamijenjena oralnim pripravkom sulfonilureje prema protokolu University of Exeter, Medical School, Velika Britanija.¹³ Antropometrijska i biokemijska obilježja djevojke navedena su na tablici 1. Tada primje-

njivana količina inzulina iznosila je 0,85 j/kg/d. Davani su brzodjelujući inzulinski analog prije glavnih obroka i dugodjelujući inzulinski analog u 10 i 22 sata. Uvedena je terapija glibenklamidom uz postupno izostavljanje inzulina. Potpuna obustava inzulinske terapije postignuta je u 2. tjednu liječenja. Maksimalna doza glibenklamida 6 mjeseci nakon početka liječenja iznosila je $2 \times 3,5$ mg (0,13 mg/kg na dan), uz doručak i večeru. Potom je doza snižavana, da bi nakon 9 mjeseci liječenja iznosila $2 \times 2,6$ mg (0,10 mg/kg na dan), a takva je i danas, tri godine nakon promjene terapije.

Tri mjeseca nakon uvođenja terapije sulfonilurejom postignuto je znatno poboljšanje razine HbA1c koje je prisutno do danas (slika 1.). Nakon 9 mjeseci normalizirala se i razina C-peptida natašte i 2 sata nakon obroka (tablica 1.). Na posljednjoj kontroli u lipnju 2016. godine djevojka je u dobi od 25 godina antropometrijskih i biokemijskih obilježja navedenih na tablici 1. Nisu zabilježeni neželjeni učinci glibenklamida, kao ni naznake kroničnih komplikacija šećerne bolesti. Spremna je za prijelaz u daljnju skrb internista dijabetologa.

Rasprava

Prema nama dostupnim podacima, ovo je u nas prvi prikaz bolesnice s prolaznim NDM-om. Genetička potvrda mutacije KCNJ11-gena provedena u mladoj odrasloj dobi, 12 godina nakon relapsa bolesti, omogućila je uspješno prevođenje na terapiju oralnim preparatom sulfonilureje. Do sada je u nas objavljen prikaz bolesnika s trajnim NDM-om uzrokovanim mutacijom na istom genu.¹⁴

Do danas je utvrđena genska osnova za većinu prolaznih NDM-a. U manje od 30% oboljelih to je aktivirajuća mutacija ABCC8, a rijetko KCNJ11-gena, što je bio slučaj u naše bolesnice. Ovi geni smješteni su na kromosomu 11p15.1 i kodiraju dvije podjedinice, SUR1 i Kir6.2, K_{ATP}-kanala na membrani β-stanice gušterače.^{11,12} K_{ATP}-kanal ima važnu ulogu u procesu izlučivanja inzulina potaknutoga glukozom. Sastoji se od četiri Kir6.2-podjedinice s unutarnje strane i četiri SUR1-podjedinice s vanjske strane kanala, koje su ujedno i receptori za sulfonilureju. Povećani ulaz i metabolizam glukoze u β-stanici porastom omjera ATP/ADP (adenozin difosfat) s učinkom na Kir6.2-podjedinicu dovodi do zatvaranja K_{ATP}-kanala i depolarizacije stanične membrane, što uzrokuje otvaranje kalcijeva kanala, ulazak kalcija u stanicu te potiče lučenje inzulina. Aktivirajuća mutacija KCNJ11-gena za Kir6.2-podjedinicu održava K_{ATP}-kanal trajno otvorenim zbog čega se ne izlučuje inzulin i razvija hiperglikemija.¹⁵ Takav tijek može se promijeniti preparatima sulfonilureje koji učinkom na SUR1-podjedinicu K_{ATP}-kanala bez utjecaja glukoze zatvaraju K_{ATP}-kanal i potiču izlučivanje inzulina.¹⁶ Ta spoznaja omogućila je liječenje mnogih bolesnika s NDM-om peroralnim pripravkom, što znatno poboljšava kvalitetu kontrole bolesti koja u tih bolesnika nikada ne zadovoljava uz terapiju inzulinom. Naša bolesnica nakon relapsa bolesti u prolaznom NDM-u liječena je inzulinom prema intenziviranom tipu, prvo humanim inzulinom, a potom inzulinskim analogima, ali cijelo vrijeme liječenja kontrola bolesti mjerena razinom HbA1c nije bila zadovoljavajuća (slika 1.). Prelaskom na terapiju sulfonilurejom postignuta je razina HbA1c u referentnom rasponu bez hipoglikemija.

Mutacije gena KCNJ11 i ABCC8 uzrok su i trajnog NDM-a, i to u većine bolesnika. Postoji povezanost između genotipa i fenotipa NDM-a, ali pojedine mutacije KCNJ11-gena poput V252A i R201H mogu uzrokovati i prolazni i trajni NDM.¹⁷

U prolaznom NDM-u mutacija gena ima slabiji učinak na funkciju K_{ATP}-kanala nego u trajnom NDM-u.¹⁸ Stoga u obitelji mutacije mogu imati različite fenotipove bolesti, od prolaznog NDM-a do blagog dijabetesa odrasle dobi bez manifestne neonatalne faze.² Bolesnici koji se klinički prezentiraju dijabetesom u kasnijoj dobi, etiološki budu razjašnjeni tek pojavom NDM-a u drugog člana obitelji.^{12,19}

Klinička prezentacija bolesti ovisi o etiologiji. U sporredbi s bolesnicima u kojih je prolazni NDM uzrokovan poremećajem upisa na kromosomu 6q24 bolesnici s aktivirajućom mutacijom K_{ATP}-kanala imaju blaže intrauterino zaostajanje rasta, medijan RM 2,58 kg. Bolest započinje nešto kasnije, u prosjeku s 5,2, ali svakako do 17. tjedna života, što navodi na zaključak da je prenatalni manjak inzulina manje izražen.¹⁷ Bolest često započinje DKM-om uz nisku razinu C-peptida, što upućuje na ŠB1.¹⁵ Razdoblje remisije obično nastupa kasnije, a relaps ranije nego u 6q24 prolaznom NDM-u.¹⁷ Bolesnici tijekom razdoblja remisije održavaju supklinički poremećaj u metabolizmu ugljikohidrata koji se obično očituje u fazama stresa ili bolesti, što je u skladu s blagim oštećenjem funkcije β-stanice.² U naše bolesnice tijekom bolesti bio je sukladan iznesenomu. RM i RD djeteta bili su uredni, bolest se klinički manifestirala slikom teške DKA u dobi od 5 mjeseci, nakon relativno brzog ulaska u razdoblje remisije, a hiperglikemije su se razvijale samo u stanjima akutne bolesti. Djevojčica je praćena uz pretpostavku da se radi o remisiji ŠB1 budući da su se kriteriji za dijagnozu NDM-a mijenjali. U trenutku postavljanja dijagnoze u naše bolesnice, 1991. godine, NDM je uključivao početak bolesti do 45. dana života, potom od 2000. god. dob do 3. mjeseca te od 2005. god. dob do 6 mjeseci. Sada su uključena i djeca oboljela do 9. mjeseca života. Stoga bi primjereniji naziv bio monogeni dijabetes dojenačke dobi, što se katkad i rabi: MDI (engl. *monogenic diabetes of infancy*), no budući da za sada nije postignut konačan dogovor, i nadalje se primjenjuje ponajprije naziv neonatalni dijabetes.⁴

K_{ATP}-kanali široko su rasprostranjeni pa ih osim na β-stanici gušterače nalazimo u mozgu, mišićima i drugim tkivima gdje također odgovaraju na metabolički podražaj, ali njihova funkcija u tim tkivima za sada nije potpuno razjašnjena.²⁰ U svakom od tih tkiva zastupljena je druga SUR-podjedinica: SUR1 na membrani β-stanice gušterače, SUR2A u srčanom mišiću i poprečnoprugastim mišićima, SUR2B u mozgu i glatkim mišićima.¹⁵ NDM uzrokovan poremećajem na nivou K_{ATP}-kanala većinom je izolirana bolest, ali oko 20% nositelja mutacije, i to češće oni s mutacijom KCNJ11 i trajnim NDM-om, imat će i neurološke poremećaje.⁴ Trajni NDM, posebno uz mutacije V59G i Q52R, može biti udružen s teškim oblikom DEND-sindroma (engl. *developmental delay, epilepsy, neonatal diabetes*) obilježjenog dismorfijom, psihomotoričkim zaostajanjem i epilepsijom.²¹ Češće je, posebno uz mutacije V59M i R201C, prisutna udruženost s intermedijarnim oblikom DEND-sindroma koji uključuje poremećaje u motoričkom, govornom ili kognitivnom razvoju.^{4,15,22} Samo je djelomično prisutna međuzavisnost genotipa i fenotipa u odnosu prema težini neuroloških poremećaja. Čini se da težina neurološkog oštećenja ovisi i o dobi u kojoj je NDM dijagnosticiran i kontroli šećerne bolesti budući da i hipoglikemija i hiperglikemija utječu na neurološki razvoj.²

I u prolaznom NDM-u uz neke mutacije KCNJ11-gena, primjerice, E229K i G53R, također su opisana neurološka oštećenja poput teškoća u razvoju govora, teškoća učenja, poremećaja iz spektra autističkog ponašanja, ali pojavnosti

su rijetke i teško je reći je li podloga u mutaciji gena za K_{ATP} -kanal, u nekom čimbeniku okoliša ili u nekoj drugoj mutaciji.¹⁷ U naše bolesnice uz intelektualno funkcioniranje u širim granicama normale, utvrđeno psihološkim testiranjem, tijekom cijelog školovanja bio je izražen problem u savladavanju matematike, što joj je na kraju onemogućilo dovršenje srednjoškolskog obrazovanja.

U oba oblika NDM-a, trajnom i prolaznom, liječenje započinje inzulinom kako bi se liječila ili spriječila akutna metabolička dekompenzacija i osigurao prirast na težini.⁴ Više od 90% bolesnika s aktivirajućom mutacijom KCNJ11 ili ABCC8-genâ uspješno se prevodi na terapiju peroralnim preparatima sulfonilureje, čime se postiže znatno poboljšanje u kontroli bolesti i smanjuje rizik od hipoglikemije. Izražen je i pozitivan učinak na prisutna neurološka oštećenja.¹⁶ Ovi peroralni antidijabetici vežu se za SUR-podjedinicu i zaobilazeći stanični metabolizam glukoze, direktno zatvaraju K_{ATP} -kanal te stimuliraju izlučivanje inzulina. Na početku liječenja potrebna je doza lijeka visoka, 0,4 – 1 mg/kg na dan glibenklamida, u usporedbi s potrebama u ŠB tipa 2 gdje je maksimalna doza 0,33 mg/kg na dan.¹⁵ Visoke doze posebno su nužne u bolesnika s neurološkim oštećenjima. U kojoj će se mjeri neurološka oštećenja popraviti otvoreno je pitanje. Ovisit će to o vrsti mutacije, prolazu lijeka kroz krvno-moždanu barijeru i učinku lijeka na SUR-podjedinicu. Naime, glibenklamid djeluje na SUR1 i SUR2-podjedinicu te na taj način pozitivno utječe na neurološke poremećaje, dok gliklazid i tolbutamid djeluju selektivno na SUR1-podjedinicu.¹⁵

Terapijske doze lijeka postupno se snižavaju neovisno o vrsti mutacije. Dugotrajna praćenja pokazala su djelotvornost i sigurnost liječenja. Jedini neželjeni učinci bili su dijareja na početku liječenja i obojenost zubne cakline nakon duljeg liječenja.^{1,2}

Nakon uvođenja terapije sulfonilurejom većina bolesnika više ne provodi ograničenja u prehrani i bilježi samo povremene hiperglikemije koje prolaze bez dodatnih intervencija. Nije bilo izvještaja o teškim hipoglikemijama, čak ni kada su doze glibenklamida bile vrlo visoke (> 2 mg/kg na dan). Ipak je potrebno dugotrajnije praćenje kako bi se procijenio rizik od oštećenja jetre, kožnih reakcija, pancitopenije, hiponatremije ili povećanoga kardiovaskularnog rizika koji su zabilježeni u odraslih sa ŠB2. Treba imati u vidu da bolesnici koji se liječe zbog NDM-a lijek uzimaju od rane dobi i doze lijeka su često više nego u bolesnika sa ŠB2.²

Bolesnici u kojih liječenje sulfonilurejom nije bilo učinkovito bili su stariji kada je tranzicija terapije provedena ili su imali pridružena teža neurološka oštećenja u okviru DEND-sindroma.¹⁶ Hipoteza proizašla iz modela na miševima pokazuje da masa funkcionalnih β -stanica opada ako izostane zaštita sulfonilurejom pa odgoda terapije smanjuje vjerojatnost uspjeha.^{23,24} U NDM-u s težim neurološkim poremećajem jačina podražaja stabilizira K_{ATP} -kanal u trajno otvorenom položaju te ga sulfonilureja ne može zatvoriti. I dodatni čimbenici poput načina prehrane ili debljina mogu mijenjati osjetljivost na sulfonilureju.² Naša bolesnica uspješno je prevedena na terapiju sulfonilurejom 12 godina nakon relapsa bolesti. Činjenica da je pritom primala i relativno nisku dozu sulfonilureje (maksimalno 0,13 mg/kg/d) vjerojatno je posljedica blažeg oblika mutacije, što je svojstveno prolaznom NDM-u.

Terapiju sulfonilurejom treba primijeniti u svakog bolesnika s NDM-om koji je uzrokovan poremećajem u funkciji K_{ATP} -kanala. I kada se ne može izostaviti inzulinska terapija, primjenu sulfonilureje treba nastaviti uz mutacije povezane

s neurološkim oštećenjima zbog njezina pozitivnog učinka na neurološki razvoj.²

Sve poznate mutacije KCNJ11 i većina mutacija ABCC8-genâ heterozigotne su i nasljeđuju se autosomno dominantno, ali često nastaju *de novo* pa obiteljska anamneza ne može pomoći u razlikovanju prema ŠB1.⁴ I u naše bolesnice radilo se o *de novo* mutaciji uz napomenu da rizik od razvoja bolesti u njezine djece iznosi 50%.

U više od 70% bolesnika s prolaznim NDM-om uzrok je poremećaj u regiji upisa na kromosomu 6p24 očeva podrijetla zbog duplikacije te regije, uniparentalne disomije ili poremećaja metilacije iste regije majčina podrijetla. To je prva genska osnova za NDM, otkrivena 1995. god., koja uvijek uzrokuje njegov prolazni oblik.^{25,26} Nastalim poremećajem dolazi do pojačanog izražaja gena PLAGL1/ZAC [engl. *pleiomorphic adenoma gene-like 1/zinc finger protein* (gen nalik genu za pleomorfni adenom/protein cinkovih prstiju)] koji regulira prekid staničnog ciklusa i apoptozu te je kandidat za gen koji suprimira tumor i gen HYMAI (engl. *hydatidiform mole-associated and imprinted*) čija uloga nije definirana.²⁶ Pretpostavlja se da je poremećaj u razvoju gušterače uzrok ovog tipa prolaznog NDM-a.²⁴ Poremećaj metilacije majčina alela može biti dio sindroma generalizirane hipometilacije zbog bialelne mutacije ZFP57-gena na kromosomu 6p22.1 uključenog u regulaciju metilacije DNK. Klinička slika uključuje prolazni NDM, makroglosiju, umbilikalnu herniju i razvojno zaostajanje te prirodenu srčanu grešku.^{1,26,27}

Bolesnici s poremećajem 6p24 rađaju se s izraženim intrauterinim zastojem rasta (RM 1,5 – 2,5 kg), razvija se visoka neketotska hiperglikemija u prvom tjednu života. Unatoč težini početne kliničke slike do remisije dolazi vrlo brzo, u prosjeku za 12 tjedana. Tijekom razdoblja remisije prolazne hiperglikemije prisutne su u infektu. Oko 50% nositelja mutacije doživi relaps bolesti obično oko puberteta, ali katkad i ranije.^{17,26,28} Relaps klinički podsjeća na ŠB tipa 2, a regulacija glikemije može se postići samo uravnoteženom prehranom. Kada se na kraju uvede inzulinska terapija, potrebe za inzulinom su malene. Od ekstrapankreatičnih obilježja prisutne su makroglosija u 23% bolesnika te umbilikalna hernija u 44% bolesnika.²⁸ Prema recentnom izvještaju, terapijske mogućnosti u ovom obliku prolaznog NDM-a osim inzulina proširuju se i na inkretine. Inhibitor dipeptidil peptidaze 4 (DPP-4), alogliptin pokazao se uspješnim budući da je očuvan GLP-1-signalni put. U nekih bolesnika djelotvorna je i sulfonilureja.^{29,30}

10 – 15% prolaznog NDM-a uzrokovano je poremećajem INS-gena na kromosomu 11p15.1 koji kodira inzulin. Heterozigotna mutacija INS-gena direktno ili indirektno djeluje na cisteinski ostatak važan za formiranje disulfidnih vezo-va, dovodeći do stvaranja izmijenjenog proinzulina koji se nakuplja u endoplazmatskom retikulumu, remeti funkciju β -stanice i uzrokuje apoptozu. INS-gen izražen je većinom u β -stanici te nisu prisutni poremećaji na drugim organskim sustavima. Mutacija INS-gena može se klinički prezentirati i nakon 1. godine života kada je pojava NDM-a rijetka. Više od 70% mutacija nastaje *de novo* pa je obiteljska anamneza negativna. Stoga neki oboljeli sigurno nose dijagnozu ŠB1. Negativitet protutijela na β -stanicu u oboljelih od ŠB1 putokaz je za genetičko testiranje. Ispravna dijagnoza u njih trenutačno ne mijenja terapiju, ali daje podlogu za genetičko savjetovanje.^{2,4}

Većina novih genskih uzroka prolaznog NDM-a ulazi u skupinu transkripcijskih faktora uključenih u razvoj pankreasa. Mutacija HNF1B-gena na kromosomu 17cen-q21.3

koji kodira HNF1b (hepatalni nuklearni faktor 1b) dovodi do hipoplazije gušterače i renalnih cista uz prolazni NDM. Nasljeđuje se dominantno ili nastaje spontanom mutacijom. Heterozigotna mutacija GATA6-gena na kromosomu 18q11.1-q11.2 najčešći je uzrok ageneze pankreasa. Fenotip je proširen na trajni NDM, prolazni NDM i ŠB u odrasloj dobi. U većine oboljelih prisutna je i srčana malformacija.^{2,4}

Genetička analiza u NDM-u uz potvrdu mutacija ABCC8 i KCNJ11-gena otvara mogućnost zamjene inzulinske terapije preparatom sulfonilureje, dok u drugim oblicima NDM-a upućuje na tijek bolesti, usmjerava terapijski pristup i podloga je za genetičko savjetovanje. Do šire primjene tehnologije sekvenciranja sljedeće generacije kojom se istodobno može analizirati više gena, u slučaju NDM-a probir se provodi na mutacije sukladno kliničkoj slici i tijeku bolesti. Testirati treba ponajprije osobe u kojih je bolest započela u prvih 6 mjeseci života te osobe za koje smatramo da imaju ŠB1, a obiteljska je anamneza snažno pozitivna (jedan roditelj i barem još jedan njegov rođak u prvom koljenu), protutijela na β -stanicu su negativna i/ili je funkcija β -stanice očuvana i 5 godina nakon početka bolesti.^{1,28}

Zaključak

Potvrdom monogenetskog oblika dijabetesa genetička analiza u mnogih bolesnika mijenja terapijski pristup. U bolesnice s mutacijom KCNJ11-gena koji kodira Kir6.2-podjedinicu K_{ATP} -kanala prevođenje na terapiju sulfonilurejom u ranoj odrasloj dobi, 12 godina nakon relapsa prolaznog NDM-a i 10 godina nakon inzulinske terapije, pozitivno je utjecalo na kontrolu bolesti i kvalitetu života te omogućilo genetičko savjetovanje.

Zahvala: Zahvaljujemo profesoru Andrewu Hattersleyu i profesoru Sianu Ellardu s University of Exeter, Medical School, u Velikoj Britaniji na besplatnoj genetičkoj analizi sekvenciranjem KCNJ11-gena i ustupljenom protokolu za prijelaz na terapiju sulfonilurejom.

Sukob interesa: Ne postoji nikakav sukob interesa povezan s ovim radom.

LITERATURA

- Rubio-Cabezas O, Hattersley AT, Njolstad PR i sur. The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes* 2014;15(Suppl. 20):47–64.
- Greeley SA, Tucker SE, Naylor RN, Graeme IB, Philipson LH. Neonatal diabetes mellitus: a model for personalized medicine. *Trends Endocrinol Metab* 2010;21(8):464–72.
- Mackay DJG, Bens S, Perez de Nanclares G, Siebert R, Temple IK. Clinical utility gene card for: transient neonatal diabetes mellitus, 6q24-related. *Eur J Hum Genet* 2014;22(9). doi:10.1038/ejhg.2014.27.
- Rubio-Cabezas O, Ellard S. Diabetes mellitus in neonates and infants: genetic heterogeneity, clinical approach to diagnosis and therapeutic options. *Horm Res Paediatr* 2013;89:137–146.
- Meier JJ, Butler AE, Saisho Y i sur. Beta-cell replication is the primary mechanism subserving the postnatal expansion of beta-cell mass in humans. *Diabetes* 2008;57:1584–94.
- Gregg BE, Moore PC, Demozay D i sur. Formation of a human b-cell population within pancreatic islets is set early in life. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:3197–206.
- Valerio G, Franzese A, Salerno M i sur. Beta-cell dysfunction in classic transient neonatal diabetes is characterized by impaired insulin response to glucose but normal response to glucagon. *Diabetes Care* 2004;27:2405–8.
- Grulich-Henn J, Wagner V, Thon A i sur. Entities and frequency of neonatal diabetes: data from the diabetes documentation and quality management system (DPV). *Diabet Med* 2010;27(6):709–12.
- Iafusco B, Massa O, Pasquino B, The Early Diabetes Study Group of ISPED. Minimal incidence of neonatal/infancy onset diabetes in Italy is 1:90000 live births. *Acta Diabetol* 2012;49:405–8.
- De Franco E, Flanagan SE, Houghton JAL i sur. The effect of early, comprehensive genomic testing on clinical care in neonatal diabetes: an international cohort study. *Lancet* 2015;386(9997):957–63.
- Gloyn AL, Pearson ER, Antcliff JF i sur. Activating mutations in the gene encoding the ATP-sensitive potassium-channel subunit Kir6.2 and permanent neonatal diabetes. *N Engl J Med* 2004;350:1838–49.
- Babenko AP, Polak M, Cavé H i sur. Activating mutations in the ABCC8 gene in neonatal diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2006;355:456–66.
- Hattersley AT, Pearson ER. (2012). Transferring patients with diabetes due to a KIR6.2 mutation from insulin to sulphonylureas: providing information for patients and professionals on research and clinical care in genetic types of diabetes. Dostupno na: www.diabetesgenes.org/content/transferring-patients-diabetes-due-kir6.2-mutation-insulin-sulphonylureas. Datum pristupa: 15. 6. 2016.
- Ille J, Putarek NR, Radica A, Hattersley AT, Ellard S, Dumić M. Low doses of sulphonylurea as a successful replacement for insulin therapy in a patient with neonatal diabetes due to a mutation of KCNJ11 gene encoding Kir6.2. *Liječ Vjesn* 2010;132(3–4):90–3.
- Hattersley AT, Ashcroft FM. Activating mutations in Kir6.2 and neonatal diabetes: new clinical syndromes, new scientific insight, and new therapy. *Diabetes* 2005;54:2503–2513.
- Pearson ER, Flechtner I, Njolstad PR i sur; Neonatal Diabetes International Collaborative Group. Switching from insulin to oral sulphonylureas in patients with diabetes due to Kir6.2 mutations. *N Engl J Med* 2006;355:467–77.
- Flanagan SE, Patch AM, Mackay DJ i sur. Mutations in ATP-sensitive K⁺ channel genes cause transient neonatal diabetes and permanent diabetes in childhood and adulthood. *Diabetes* 2007;56:1930–7.
- Gloyn AL, Reimann F, Girard C i sur. Relapsing diabetes can result from moderately activating mutations in KCNJ11. *Hum Mol Genet* 2005;14:925–34.
- Patch AM, Flanagan SE, Boustred C, Hattersley AT, Ellard S. Mutations in the ABCC8 gene encoding the SUR1 subunit of the KATP channel cause transient neonatal diabetes, permanent neonatal diabetes or permanent diabetes diagnosed outside the neonatal period. *Diabetes Obes Metab* 2007;9(Suppl 2):28–39.
- Seino S, Miki T. Physiological and pathophysiological roles of ATP-sensitive K⁺ channels. *Prog Biophys Mol Biol* 2003;81:133–76.
- Proks P, Girard C, Haider S i sur. A gating mutations at the internal mouth of the Kir6.2 pore is associated with DEND syndrome. *EMBO Rep* 2005;6(5):470–5.
- Gloyn AL, Diatloff-Zito C, Edghill EL i sur. KCNJ11 activating mutations are associated with developmental delay, epilepsy and neonatal diabetes syndrome and other neurological features. *Eur J Hum Genet* 2006;14:824–30.
- Girard CA, Wunderlich FT, Shimomura K i sur. Expression of an activating mutation in the gene encoding the KATP channel subunit Kir6.2 in mouse pancreatic beta cells recapitulates neonatal diabetes. *J Clin Invest* 2009;119:80–90.
- Babiker T, Vedovato N, Patel K i sur. Successful transfer to sulphonylureas in KCNJ11 neonatal diabetes is determined by the mutation and duration of diabetes. *Diabetologia* 2016;59(6):1162–6.
- Temple IK, James RS, Crolla JA i sur. An imprinted gen(s) for diabetes? *Nat Genet* 1995;9:110–2.
- Mackay DJG, Temple IK. Transient Neonatal diabetes mellitus type 1. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet* 2010;154C:335–42.
- Boonen SE, Mackay DJ, Hahnemann J i sur. Transient neonatal diabetes, ZFP57, and hypomethylation of multiple imprinted loci: a detailed follow-up. *Diabetes Care* 2013;36:505–12.
- Mackay D, Bens S, Perez de Nanclares G, Siebert R, Temple IK. Clinical utility gene card for: transient neonatal diabetes mellitus, 6q24-related. *Eur J Hum Genet* 2014;22:e1–e4.
- Yorifuji T, Hashimoto Y, Kawakita R i sur. Relapsing 6q24-related transient neonatal diabetes mellitus successfully treated with a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor: a case report. *Pediatr Diabetes* 2014;15(8):606–10.
- Docherty LE, Kabwama S, Lehmann A i sur. Clinical presentation of 6q24 transient neonatal diabetes mellitus (6q24 TNDM) and genotype-phenotype correlation in an international cohort of patients. *Diabetologia* 2013;56:758–762.