

# AValiação DE MUTAÇÕES NO GENE DA ENZIMA GLICOQUINASE EM PACIENTES PORTADORES DE MODY 2

Daniela P. Almeida<sup>1</sup>, Adolfo J. Mota<sup>2</sup>

1. Estudante de IC da Universidade Federal do Amazonas - UFAM; \*almeidapauladani@hotmail.com

2. Professor Doutor da Faculdade de Ciências Agrárias, UFAM, Amazonas/AM

Mutações, Glicoquinase, MODY 2

## Introdução

Além dos quadros clássicos de diabetes mellitus (DM), existem outras doenças resultantes do metabolismo incorreto da glicose que afetam milhões de pessoas mundialmente, o que demonstra a importância de estudos sobre patologias que alteram a homeostase glicêmica. O MODY (Matury-Onset Diabetes of the Young) é um tipo específico de diabetes não dependente de insulina e tipicamente diagnosticado antes dos 25 anos de idade. É um distúrbio genético com alta penetrância e com padrão de transmissão autossômico dominante, causado por mutação heterozigota em diversos genes envolvidos no metabolismo da glicose. O MODY2 é um dos 13 subtipos de MODY que está relacionado com mutações no gene que codifica a glicoquinase (GCK), primeira enzima da via glicolítica, promovendo alteração no equilíbrio glicêmico. Apesar de o paciente MODY2 apresentar-se clinicamente com hiperglicemia leve, ausência de obesidade, bom prognóstico e sem complicações secundárias, frequentemente ele é confundido com casos clássicos de DM, onerando o serviço público de saúde com exames e tratamentos inadequados e expondo o paciente a complicações futuras decorrentes de distúrbios metabólicos mal diagnosticados. O diagnóstico específico e precoce do subtipo MODY é de fundamental importância, pois apresenta implicações diretas na conduta médica, visando a um tratamento adequado e ajudando a identificar risco de diabetes em outros membros assintomáticos da família. Com os avanços da biologia molecular, é possível realizar exames muito sensíveis, em nível de sequência de DNA, que aliados às características clínicas do paciente permitem um diagnóstico conclusivo do subtipo MODY. Neste trabalho investigamos por sequenciamento direto a região promotora e os exons do gene GCK de pacientes com hipótese diagnóstica de MODY2 para identificarmos eventuais mutações causadoras do MODY. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto de Biologia da Universidade de São Paulo, sob o número IBUSP 113/210 - FR 387425.

## Resultados e Discussão

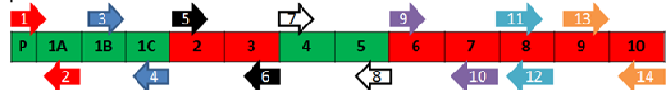
O gene GCK é dividido em 10 exons (Fig.1). O primeiro exon sofre processamento alternativo tecido-dependente regulado por dois promotores, o primeiro antes do exon 1A e o segundo antes do exon 1B, regulando a expressão das isoformas que contém o exon 1B ou o exon 1C. A análise das sequências do promotor, exon 1 (A, B, C), exon 4 e exon 5 revelou três poli-morfismos de base única (SNP) apenas no promotor do exon 1A (Fig.2). Todos são transições C>T, que é um evento mutagênico relativamente comum e espontâneo.

Nenhum dos SNPs observados foram descritos na literatura até o momento. Portanto, não é possível afirmar se são responsáveis pelas alterações metabólicas apresentadas pelo paciente. Entretanto, alguns trabalhos já mostraram relação entre alterações no promotor (-71 e

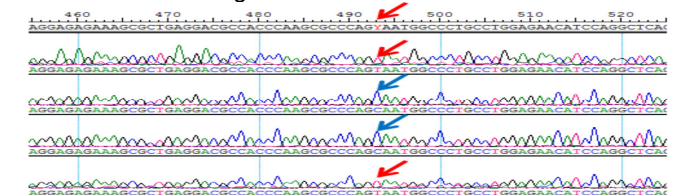
risco para o MODY2. Assim, a hipótese apresentada neste trabalho é que essas mutações sugerem uma correlação com a doença.

O estudo vai prosseguir em duas frentes, uma para sequenciar os outros exons ainda não estudados e outra para avaliar o padrão de expressão de genes sob regulação do promotor com esses SNPs.

**Figura 1:** Representação esquemática do promotor e dos 10 exons do gene GCK. As caixas verdes representam as regiões que já foram sequenciadas, as caixas em vermelho as regiões que faltam sequenciar. As caixas marcadas como 1A, 1B e 1C são a representação do processamento alternativo do exon 1.



**Figura 2:** Em A, recorte de parte do eletroferograma analisado com o auxílio do programa SeqMan II e em B, a sequência analisada. O paciente é heterozigoto para a região estudada. Em A, as transições C>T estão indicadas pelas setas vermelhas e os alelos sem mutação pelas setas azuis. Em B, os três SNPs encontrados estão destacados em vermelho; as alterações -71 e -30, já reportadas na literatura, estão em azul e o ATG inicial do exon 1A está em negrito.



**A**

```
(-620) ATGGAGGCTCTCTTCGACCACTCCCGAGTTTATGCAATGGC
(-580) ACCTCTAATCAGCAGCATGGTCCAGCCCTGCTGAGCCCACTC
(-540) CTGGTCACCAATGACACACACAGCCCTCTCAGGAGCCACAC
(-500) TAAGCCCTGGCAGGAGAAACCCCTCACTCCACACCTGGCTG
(-460) GAGCAGCAAAATGGCAGAGCCGCTGAGCCGAGGGAAGC
(-420) AGGCTAGGATGTGAGAGACACAGTACCTGCAGCCTAAT
(-380) ACTCAAAAGCTGTCCCCAGGTCACAGAAGGGAGAGGACAT
(-340) TTCACCACTGAAATCTGCTGAAAGGACACTAAGCCCCACAGC
(-300) TCAACACAAACCAGAGAGAAAGCCCTGAGGACGCCACCA
(-260) AGCCGCCAGTAATGCCCTCCCTGGAGAACATCCAGGCTC
(-220) AGTGAGGAAGGGTCCAGAGAGGGAATGCTTGGCCGACTGCTT
(-180) GCAGACCAATGAAAGGAGGAACTGTGACTGAACTCA
(-140) ACCCCAAACCCAGCCGAGGAGACACATCTCTCCAGGGA
(-100) CCCAGGCGGGCCCTGACCCCTCGGGCCGAGAGCCCTGG
(-70) ATATTCCACTTCAGAAAGCCCTACTGCGGAGAGCCCTGAGGG
(-30) TCCAGCTCCCCACCGCTGGCTGTGTGACATGCTGTGAGC
```

**B**

## Conclusões

Foram encontradas três mutações de base única ainda não reportadas na literatura. Todas as mutações são transições C>T localizadas nas posições -610, -492, -261 do promotor 1 do gene GCK.

## Agradecimentos

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM;

Mota, AJ. Brüggemann, S. Costa FF. 2013. MODY 2: Mutation identification and molecular ancestry in a Brazilian family. *Gene*. 512: 486-491.

Não ultrapassar 1 página.