

Diagnóstico genético da diabetes tipo MODY na população portuguesa

Gisela Gaspar¹, Filomena Seuanes¹, João S Duarte², Dircea Rodrigues³, Carolina Moreno³, Sofia Gouveia³, Goreti Lobarinhas⁴, Paula Bogalho⁵, Ana Agapito⁵, Mafalda Bourbon¹

gisela.gaspar@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis, INSA.

(2) Serviço de Endocrinologia, Hospital Egas Moniz. (Centro Hospitalar Lisboa Ocidental, EPE).

(3) Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Hospitais da Universidade de Coimbra, EPE.

(4) Serviço de Pediatria, Hospital Santa Maria Maior, EPE- Barcelos.

(5) Serviço de Endocrinologia, Hospital Curry Cabral (Centro Hospitalar Lisboa Central, EPE).

Introdução

A diabetes tipo MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young) é um tipo de diabetes *mellitus* autossómica dominante, monogénica e geneticamente heterogénica. É caracterizada por uma manifestação precoce (na infância, adolescência ou em adultos jovens até aos 25 anos), por uma transmissão autossómica dominante (com pelo menos 3 gerações afetadas pela diabetes), por uma apresentação não insulino-dependente durante um período de pelo menos 2 anos e corresponde a uma alteração na função da célula β pancreática (1). Estima-se que, na Europa, cerca de 2% dos diabéticos sejam do tipo MODY (2). Admitindo que em Portugal existem mais de 600.000 doentes diabéticos, pelo menos cerca de 12.000 destes terão MODY, embora podendo estar classificados como diabéticos do tipo 1 ou do tipo 2.

Estão identificadas alterações em seis genes diferentes, dando origem aos subtipos MODY1-6. Cinco destes genes codificam para fatores de transcrição (MODY1, 3, 4, 5, e 6), expressos na célula β pancreática e um deles codifica para a enzima glucoquinase (GCK) (MODY2) (3). Doentes com mutações no gene da glucoquinase (MODY2) são geralmente assintomáticos, apresentam uma hiperglicemia ligeira e estável desde o nascimento, necessitando raramente de intervenção terapêutica e apresentam um baixo risco de complicações. Por outro lado, os doentes portadores de mutações nos genes que codificam para os fatores de transcrição HNF1A (MODY3) e HNF4A (MODY1) apresentam um défice progressivo na secreção de insulina que resulta frequentemente numa hiperglicémia progressiva e grave na idade adulta (4). MODY2 e

MODY3 constituem os subtipos mais comuns na Europa. Os diferentes subtipos de MODY apenas podem ser determinados através do diagnóstico molecular. O diagnóstico genético pode alterar o tratamento, pois os portadores de mutações no gene GCK raramente necessitam de medicação, enquanto os portadores de mutações nos genes HNF1A e HNF4A são sensíveis à sulfonilureia. Assim, os doentes MODY2 e MODY3 diferem, não só na alteração genética, mas também no facto de necessitarem de diferentes abordagens terapêuticas (5). Devido ao número de genes envolvidos, existe uma grande heterogeneidade clínica entre os doentes MODY e a cada gene está associado um fenótipo

Metodologia

Foram recrutados para este estudo 19 casos índice com diagnóstico clínico de diabetes tipo MODY (idades de diagnóstico entre 4 e 44 anos) e 10 familiares, provenientes de várias consultas de pediatria, endocrinologia e nefrologia de vários centros a nível nacional.

Para identificação dos diferentes subtipos MODY foram estudados os genes HNF4A (MODY1), GCK (MODY2), HNF1A (MODY3) e HNF1B (MODY5). Conforme a informação clínica o estudo foi dirigido inicialmente para os genes GCK ou HNF1A. Quando não foi encontrada nenhuma alteração, foram estudados os restantes genes. Fragmentos contendo cada exão e regiões de *splicing* foram amplificados por PCR e sequenciados diretamente, para identificação de pequenas alterações. A técnica de MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*), para deteção de grandes deleções/duplicações nos genes envolvidos, está a ser otimizada. A metodologia utilizada foi desenvolvida de acordo com o consenso do Grupo MODY (6). O controlo de qualidade externo da EMQN (*European Molecular Genetics Quality Network*) é também realizado no nosso laboratório pelas mesmas metodologias.

Resultados

Dos 19 doentes recebidos, em 17 o estudo molecular para pesquisa de pequenas alterações já foi realizado e em 12 foi encontrada uma possível mutação causadora de doença. Todas as alterações identificadas são únicas e só foram encontradas num caso índice: 10 foram anteriormente descritas e 2 são novas (Tabela 1). Das 12 alterações, 7 encontram-se no gene GCK (Figura 1), 4 no gene HNF1A e 1 no gene HNF1B (Tabela 1). O doente com alteração no gene HNF1B, assim como a sua irmã, sofreram um transplante renal em idade jovem, o que orientou o estudo molecular logo para este gene. O estudo de grandes rearranjos nos 5 casos índice, em que não foi encontrada uma alteração pontual, está em curso. Adicionalmente foram identificados 6 familiares provenientes de 6 famílias diferentes, com as alterações encontradas; das restantes famílias ainda não foi possível estudar os seus familiares.

Os estudos familiares são de elevada importância, pois permitem identificar o mais precocemente possível outros familiares afetados e confirmar a co-segregação de uma alteração funcional com o fenótipo na família.

Conclusão

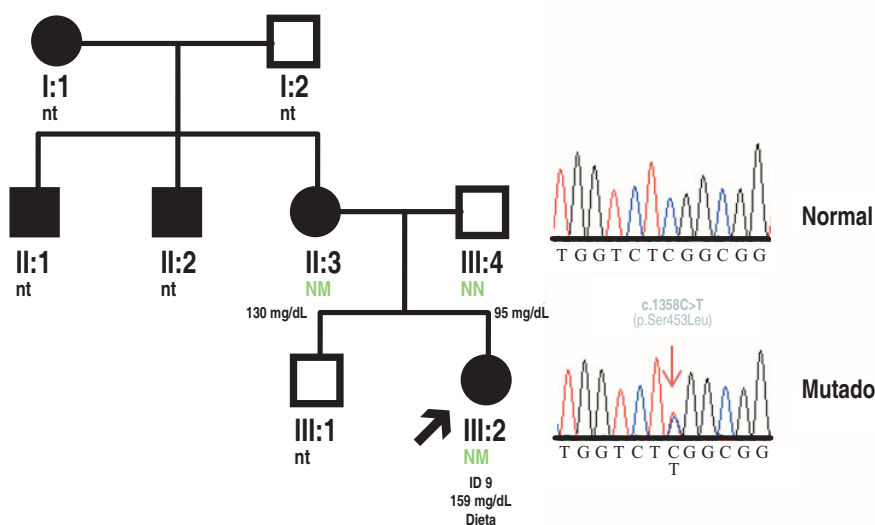
É importante efetuar o diagnóstico genético dos doentes com diagnóstico clínico de MODY, já que este permite a confirmação do diagnóstico da diabetes monogénica, a definição do subtipo, adiciona informação relativamente ao prognóstico, fundamenta a utilização da terapêutica adequada de modo a minimizar os efeitos da diabetes e ainda permite a determinação do risco para os familiares dos indivíduos afetados.

artigos breves_ n. 12

Tabela 1: Mutações detetadas em 12 casos índice das 19 famílias estudadas.

Gene	Tipo	Localização	Alteração	Referência
GCK	Missense	Exão 3	c.214G>A (Gly72Arg)	(7)
GCK	Missense	Exão 4	c.372C>A (Asp124Glu)	Não descrita
GCK	Missense	Exão 5	c.544G>A (Val182Met)	(8)
GCK	Missense	Exão 7	c.757G>C (Val253Leu)	Não descrita
GCK	Missense	Exão 10	c.1358C>T (Ser453Leu)	(9)
GCK	Deleção	Intrão 5	c.579+1del33	(10)
GCK	splicing	Intrão 2	c.209-8G>A	(11)
HNF1A	Missense	Exão 1	c.92G>A (Gly31Asp)	(12)
HNF1A	Missense	Exão 2	c.391C>T (Arg131Trp)	(13)
HNF1A	Sinónima	Exão 4	c.864G>C (Gly288Gly)	(14)
HNF1A	Deleção	Exão 4	c.872delC (p.Pro291fs)	(15)
HNF1B	Missense	Exão 4	c.827G>A (Arg276Gln)	(16)
HNF1B	Inserção	Intrão 8	IVS8+48insC	(17)

Figura 1: Árvore genealógica de uma família com diabetes tipo MODY, subtipo MODY2.



A seta indica o caso índice. Os símbolos pretos representam os indivíduos com diagnóstico clínico de diabetes. N e M representam o alelo normal e o alelo mutado, respetivamente.

Por baixo dos símbolos estão representados a idade de diagnóstico (ID) em anos e os valores da glicémia em jejum em mg/dL. No caso índice, está indicado o tratamento com dieta.

À direita da árvore genealógica encontra-se a sequência de parte do exão 10 do gene GCK de um indivíduo normal e do caso índice onde se observa a alteração C>T na posição c.1358 que resulta na alteração de aminoácido p.Ser453Leu. Foi detetada a presença desta alteração, em heterozigota, no caso índice (III:2) e no familiar diabético estudado (II:3). No familiar não diabético (II:4) foi verificada a sua ausência confirmando a co-segregação da alteração com o fenótipo.

artigos breves_ n. 12

Referências bibliográficas:

- (1) Fajans SS, Bell GI, Polonsky KS. Molecular Mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *N Engl J Med*. 2001;345(13):971-980.
- (2) Hattersley AT. Heterogeneity in type 2 diabetes: lessons from maturity-onset diabetes of the young. *Diabetic Rev Intern*. 1998;15:15-24.
- (3) McKinney J, Cao H, Behme MT. Maturity-onset diabetes of the young (MODY) mutation in type 2 diabetes and latent autoimmune diabetes of the adult. *Diabetes Care*. 2003;26(12):3358-3359.
- (4) Owen KR, Hattersley AT. Maturity-onset diabetes of the young: from clinical description to molecular genetic characterization. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2001;15(3):309-323.
- (5) Owen KR, Shepherd M, Stride A, et al. Heterogeneity in young adult onset diabetes: aetiology alters clinical characteristics. *Diabet Med*. 2002;19(9):758-761.
- (6) Ellard S, Bellanné-Chantelot C, Hattersley AT, et al. Best Practice guidelines for the molecular genetic diagnosis of maturity-onset diabetes of the young. *Diabetologia*. 2008;51(4):546-553.
- (7) Lehto M, Wipemo C, Ivarsson SA, et al. High frequency of mutations in MODY and mitochondrial genes in Scandinavian patients with familial early-onset diabetes. *Diabetologia*. 1999; 42(9):1131-1137.
- (8) Froguel P, Zouali H, Vionnet N, et al. Familial hyperglycemia due to mutations in glucokinase. Definition of a subtype of diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;328(10):697-702.
- (9) Thomson KL, Gloyn AL, Colclough K, et al. Identification of 21 novel glucokinase (GCK) mutations in UK and European caucasians with maturity-onset diabetes of the young (MODY). *Hum Mutat*. 2003;22(5):417.
- (10) Hager J, Blanché H, Sun F, et al. Six mutations in the glucokinase gene identified in MODY by using a nonradioactive sensitive screening technique. *Diabetes*. 1994;43(5):730-733.
- (11) Cao H, Shorey S, Robinson J, et al. GCK and HNF1A mutations in Canadian families with maturity onset diabetes of the young (MODY). *Hum Mutat*. 2002;20(6):478-9.
- (12) Chèvre JC, Hani EH, Boutin P et al. Mutation screening in 18 caucasian families suggest the existence of other MODY families. *Diabetologia*. 1998;41(9):1017-1023.
- (13) Glucksmann MA, Lehto M, Tayber O, et al. Novel mutations and a mutational hotspot in the MODY3 gene. *Diabetes*. 1997;46(6):1081-1086.
- (14) Yang Z, Wu SH, Zheng TS, et al. Identification of four novel mutations in the HNF-1A gene in Chinese early-onset and/or multiplex diabetes pedigrees. *Chin Med J (Engl)*. 2006;119(13):1072-1078.
- (15) Vaxillaire M, Rouard M, Yamagata K, et al. Identification of nine novel mutations in the hepatocyte nuclear factor 1 alpha gene associated with diabetes in patients with maturity-onset diabetes of the young (MODY3). *Hum Mol Genet*. 1997;6(4):583-586.
- (16) Edghill EL, Bingham C, Ellard S, et al. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1 beta and their related phenotypes. *J Med Genet*. 2006; 43(1):84-90.
- (17) Wang C, Fang Q, Zhang R, et al. Scanning for MODY5 gene mutations in chinese early onset or multiple affected diabetes pedigrees. *Acta Diabetol*. 2004;41(4):137-145.