

# MUTAÇÕES GENÉTICAS RELACIONADAS COM O DIABETES MELITO NEONATAL

## **Bruna Manuelli Teles Moreira**

Graduada em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário de Maringá - CESUMAR. E-mail: bruna-manuelli@yahoo.com.br

## **Fábio Rogério Rosado**

Doutor em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Estadual de Maringá - UEM; Pós-doutorando do Institut National de la Recherche Agronomique - INRA, France. E-mail: fabiorosado.bio@gmail.com

## **Adriana Fiorini**

Doutora em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Estadual de Maringá - UEM; Pós-doutoranda do Institut National de la Recherche Agronomique - INRA, France. Email: drifiorini@gmail.com

## **Fagner Cordeiro Vilar Mendes**

Graduado em Fisioterapia pela Faculdade Ingá - UNINGÁ; Especialista em Fisiologia Humana do Departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá - UEM. E-mail: fagnermendes\_fisio@hotmail.com

**RESUMO:** A insulina exerce um papel central na regulação da homeostase da glicose. Assim, a identificação de genes associados com o risco de diabetes tem contribuído para manter esse equilíbrio. As anormalidades das concentrações de glicose ocasionam o Diabetes Mellitus (DM), podendo ser dos tipos I, II e neonatal. O diabetes neonatal apresenta as formas transitória (DNT) e permanente (DNP), sendo a última mais frequente. O objetivo deste trabalho foi apresentar uma revisão dos aspectos fisiológicos do diabetes melito, focando principalmente o diabetes neonatal, bem como os tipos de mutações que levam ao DNP. Foi possível verificar que já existem identificados oito genes marcadores para predisposição ao DNP. As mutações envolvidas levam a defeitos genéticos específicos, como: anormalidades do cromossomo 6 ou mutações no canal de potássio, sensível ao ATP (K+ATP), ou nos genes KCNJ11 e ABCC8, que codificam a primeira e a segunda subunidade do canal de potássio ATP dependente da membrana plasmática da célula beta, respectivamente. Alterações no gene da insulina (INS), outro candidato lógico para a susceptibilidade ao diabetes, localizado no braço curto do cromossomo 11, podem também levar ao diabetes neonatal. O estudo destas mutações bem como o entendimento das alterações fisiológicas e bioquímicas envolvidas com o diabetes neonatal são de extrema importância para a introdução de novos métodos diagnósticos e terapêuticos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Insulina; Diabetes Neonatal; Mutações Associadas ao DNP.

## GENETIC MUTATIONS RELATED TO NEONATAL DIABETES

**ABSTRACT:** The insulin has a central role in the glucose homeostasis regulation. Therefore, the identification of genes associated to the risk of diabetes has contributed to maintaining this equilibrium. Abnormalities on glucose concentrations lead to Diabetes Mellitus (DM) types I, II and neonatal. The neonatal diabetes presents the transitory form (TND) and the permanent form (PND), being the last more frequent. The aim of this research was to present a review of the physiological aspects of diabetes mellitus, mainly focusing the neonatal diabetes as well as the kinds of mutations that lead to PND. It was possible to verify that eight marker genes were already identified for PND predisposition. These mutations lead to specific genetic defects, like: chromosome 6 abnormalities or mutations in the potassium channel, sensible to ATP (K+ATP), or in the KCNJ11 and ABCC8 genes, which codify the first and second subunits of the potassium channel ATP-dependent of the  $\beta$ -cell, respectively. Alterations in the insulin gene (INS), other logical candidate to the susceptibility to diabetes, located in the short arm of chromosome 11, can also be the cause of neonatal diabetes. The study of these mutations and the knowledge of the physiological and biochemical alterations involved in neonatal diabetes are particularly important for the introduction of new diagnostic and therapeutic methods.

**KEYWORDS:** Insulin; Neonatal Diabetes; PND Associated Mutations.

## INTRODUÇÃO

Em 23 de janeiro de 1922, na Universidade de Toronto, o Dr. Frederick Banting e seu aluno C. H. Best fizeram uma das maiores descobertas do século 20. Usaram, com sucesso, a insulina para tratar uma pessoa com diabetes, doença que, até aquela época, era uma sentença de morte automática a qualquer pessoa que a contraísse (ARMSTRONG; KING, 2008). Por volta de 1910, Nicolas Paulesco, um pesquisador italiano, obteve um extrato contendo insulina, a primeira amostra pré-isolada do hormônio que foi capaz de reduzir a glicemia em cães (CARVALHO-ALVES; POIAN, 2002).

A insulina é um hormônio polipeptídico anabólico que regula o metabolismo dos carboidratos e influencia a síntese de proteínas e de RNA, além da formação e armazenamento de lipídios (PAULI *et al.*, 2003). De acordo com Micklos, Freyer e Crotty (2005), a insulina é composta por duas cadeias polipeptídicas separadas: a cadeia A, com 21, e a B, com 30 resíduos de aminoácidos (SANNAZZARO, 2001).

A insulina facilita e aumenta o transporte de glicose e de aminoácidos para as células musculares e para os adipócitos, aumenta a síntese e armazenamento de proteínas celulares, de glicogênio no músculo e dos triglicerídeos nas células gordurosas, além de diminuir o catabolismo proteico (PAULI *et al.*, 2003).

De acordo com a Associação Americana de Diabetes (2006), sem a insulina a glicose não consegue penetrar nas células. Assim sendo, ela se acumula no sangue. Com o tempo, altas taxas glicêmicas podem prejudicar a visão, os rins, os nervos, o coração e os vasos sanguíneos. Essa anormalidade das concentrações de glicose ocasiona o *Diabetes Mellitus* (DM), onde todos os estados diabéticos resultam do suprimento deficiente de insulina ou de uma resposta tecidual inadequada às suas ações (INZUCCHI, 2007). De acordo com Jorde e colaboradores (1996) a etiologia do DM é complexa e não totalmente compreendida. Entretanto, têm sido feitos progressos na compreensão das bases genéticas desse distúrbio, que é uma causa importante de cegueira, doença cardíaca e insuficiência renal.

Sabe-se que a doença pode ser causada pelo suprimento deficiente de insulina ou por uma resposta tecidual inadequada às suas ações, sendo então classificada em *Diabetes Mellitus* tipo 1 (DM1) e *Diabetes Mellitus* tipo 2 (DM2). Fatores genéticos e ambientais contribuem para a etiologia complexa das principais formas de diabetes.

Outra condição que é caracterizada por hiperglicemia e que necessita de tratamento com insulina é o *Diabetes Mellitus* Neonatal (DMN), que se trata de uma condição rara com incidência estimada de 1 em 400.000 mil a 500.000 nascidos vivos (SHIELD *et al.*, 1997).

De acordo com Gurgel e Moisés (2008), podemos classificá-la em: diabetes neonatal transitório (DNT) e diabetes neonatal permanente (DNP), onde dentre os vários fatores que provocam tais doenças temos, por exemplo: anormalidades do cromossomo 6 ou mutações no canal de potássio (K<sup>+</sup>ATP) (POLAK; CAVÉ, 2007). Também foram verificadas mutações nos genes *KCNJ11* e *ABCC8* e mutações no gene da insulina. Um paciente com uma mutação no gene da insulina foi primeiramente relatado em 1979 (TAGER *et al.*, 1979 apud

KISHIMOTO *et al.*, 1994).

Neste trabalho é apresentada uma revisão dos aspectos fisiológicos do diabetes melito, focando principalmente o diabetes neonatal, bem como os tipos de mutações que levam ao diabetes neonatal permanente.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 ESTRUTURA DA INSULINA

Guyton e Hall (2002) relatam que a insulina é uma proteína pequena, apresentando um peso molecular de 5.808 Kda. A insulina é o hormônio anabólico mais conhecido e é essencial para a manutenção da homeostase de glicose e do crescimento e diferenciação celular (CARVALHEIRA; ZECCHIN; SAAD, 2002). Segundo Sannazzaro (2001), é sintetizada nas células  $\beta$  das ilhotas de Langerhans do pâncreas.

Após um trabalho que envolveu a colaboração de vários pesquisadores, Sanger verificou que a cadeia A se liga à B por duas ligações dissulfeto (Figura 1) e que as outras duas cisteínas da cadeia A se ligam entre si (MIRANDA; LOFFREDO, 2005). As ligações dissulfeto desempenham um papel especial na estrutura de muitas proteínas, particularmente daquelas que possuem funções extracelulares (LEHNINGER, 1995). A insulina, então, é composta por 2 cadeias polipeptídicas, uma de 21 aminoácidos (a cadeia A) e outra de 30 (a cadeia B). No homem, tais cadeias são sintetizadas como um precursor chamado pré-insulina, que contém os segmentos A e B ligados por uma terceira cadeia (C) e é precedido por uma sequência líder (BROWN, 2003).

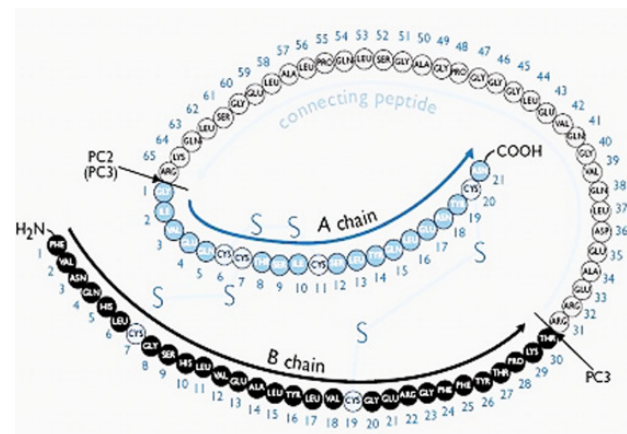


Figura 1 Estrutura molecular da insulina  
Fonte: Goodman e colaboradores (2001, p. 1264)

### 2.2 AÇÃO METABÓLICA DA INSULINA

A sinalização intracelular da insulina em tecidos insulino-sensíveis inicia-se com a ligação do hormônio a um receptor específico de membrana, uma proteína heterotetramérica com atividade quinase intrínseca. O receptor da insulina (IR) possui duas cadeias  $\beta$  idênticas que se salientam na superfície externa da membrana plasmática e duas subunidades  $\beta$  transmembrana, com os seus terminais carboxila na face citosólica,

como mostra a Figura 2. As cadeias  $\beta$  contêm o domínio de ligação da insulina e as cadeias  $\beta$  possuem o domínio tirosina quinase (LEHNINGER, 1995).

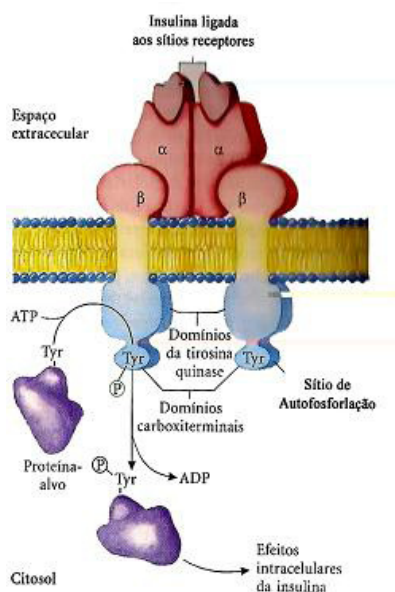


Figura 2 Representação do receptor da insulina.  
Fonte: Lehninger (1995)

Uma vez ligada à subunidade  $\beta$ , a insulina estimula a autofosforilação da região intracelular do receptor, correspondendo à subunidade  $\beta$  (ROPELLE; PAULI; CARVALHEIRA, 2005). Segundo Lehninger (1995), embora a sequência detalhada dos eventos que se seguem à estimulação pela insulina não tenha sido bem estabelecida, parece que a ligação da insulina ao seu receptor inicia um cascata de fosforilações de proteínas, onde o receptor de insulina (uma tirosina quinase) ativa uma segunda proteína quinase que pode então ativar uma terceira quinase do tipo Ser ou Thr.

A insulina é capaz de modular a homeostase da glicose, reduzindo a produção hepática e aumentando a captação periférica desse carboidrato principalmente no músculo e nos adipócitos (CROSS *et al.*, 1995; BRADY *et al.*, 1997 apud ROPELLE; PAULI; CARVALHEIRA, 2005).

De acordo com Haber e colaboradores (2001), a secreção de insulina é estimulada por substratos energéticos metabolizáveis pela célula  $\beta$  pancreática, sendo a glicose o secretado mais importante. Um aumento na concentração plasmática de glicose, como ocorre após uma refeição, age sobre as células  $\beta$  das ilhotas de Langerhans para estimular a secreção de insulina, enquanto uma diminuição inibe sua secreção.

Um aumento das concentrações de glicose ocasiona o *Diabetes Mellitus* (DM), que acarreta em anormalidades no metabolismo de carboidratos, dos lipídeos e das proteínas, além de uma variedade de complicações micro e macrovasculares (INZUCCHI, 2007). O controle glicêmico é fundamental para a preservação de complicações micro e macrovasculares da diabetes e pode ser realizado pela administração de hipoglicemiantes orais ou insulina (HIRATA *et al.*, 2006).

De acordo com Devlin (2008), a ausência da insulina em pacientes com *Diabetes Mellitus* tipo I (DM1) resulta em ve-

locidades descontroladas de lipólise no tecido adiposo. Isso aumenta os níveis sanguíneos de ácidos graxos e resulta em produção acelerada de corpos cetônicos pelo fígado. Se os corpos cetônicos não forem usados tão rapidamente quanto formados, desenvolve-se cetoacidose diabética, devido ao acúmulo de corpos cetônicos e íons de hidrogênio.

O *Diabetes Mellitus* tipo II (DM2) inicia-se com o aumento gradual da resistência celular à insulina tanto hepática quanto periférica, o que obriga o pâncreas a produzir mais insulina, fato denominado hiperinsulinemia e que favorece a falência gradual das células  $\beta$ . A anormalidade se relaciona com o comprometimento da ação da insulina nos receptores das células-alvo (ZAGURY 2000). A maioria das pessoas com DM2 não apenas tem resistência à insulina, mas também um defeito na capacidade de suas células  $\beta$  secretarem insulina em resposta a uma elevação na concentração plasmática de glicose. Em outras palavras, embora a resistência à insulina seja o fator principal que induz à hiperglicemia do DM2, um defeito ainda não identificado na função das células  $\beta$  impede que essas células respondam maximamente à hiperglicemia (VANDER *et al.*, 2006).

### 2.3 DIABETES MELITO NEONATAL

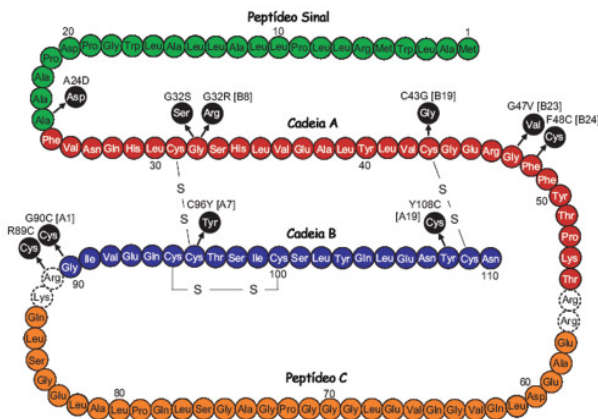
*Diabetes Mellitus* pode se manifestar em qualquer idade, desde o nascimento até a velhice. Fatores genéticos desempenham um papel importante no desenvolvimento do diabetes com algumas formas resultantes de mutações em um único gene. Embora formas monogênicas de diabetes sejam coletivamente relativamente incomuns, os subjacentes à identificação de defeitos genéticos têm prestado importantes indicações sobre o controle e desenvolvimento pancreático, função das células pancreáticas e melhorias no diagnóstico e tratamento (SLINGERLAND, 2008 apud STOY *et al.*, 2007).

O diabetes neonatal (DN) é caracterizado pela presença de hiperglicemia que necessite de tratamento com insulina (GLOYN *et al.*, 2004; HATTERSLEY; PEARSON, 2006), que por sua vez é usualmente diagnosticada nos primeiros 3 meses de vida (PROKS *et al.*, 2006). Há duas formas de diabetes neonatal: diabetes melito neonatal transitório (DNT), que se resolve, usualmente, dentro de três meses; e diabetes melito neonatal permanente (DNP), que pode requer insulino-terapia durante a vida toda (HIRATA *et al.*, 2006). Não existem características clínicas que possam prever se um neonato com diabetes melito apresenta a forma transitória ou permanente.

De acordo com Colombo e colaboradores (2008), a diabetes neonatal é uma desordem monogênica rara associada com defeitos das células  $\beta$  pancreáticas e/ou função. É usualmente descoberta depois do aparecimento dos sinais clássicos de diabetes, tais como: glicosúria, desidratação, dificuldade mastigatória e cetoacidose nos primeiros 6 meses de vida. Pode ser causada por defeitos genéticos específicos, como: anormalidades do cromossomo 6 ou mutações no canal de potássio, sensível ao ATP (K<sup>+</sup>ATP), ou ainda, os genes *KCNJ11* e *ABCC8*, que são detectados na maioria dos pacientes com DNT (POLAK, 2007). O gene *KCNJ11* codifica uma das duas componentes do canal de potássio ATP dependente da membrana plasmáti-

ca da célula beta e o gene *ABCC8* codifica a segunda das duas componentes do canal de potássio ATP dependente da membrana plasmática da célula beta (BABENKO *et al.*, 2006).

Além disso, mutações em outros genes (*IPF1*, *PTF1A*, *FOXP3*, *GLIS3*, *TCF2*, *EIF2AK3*) podem levar a doenças que incluem DN (STOY *et al.*, 2007). Por fim, há também a hipótese de que algumas mutações no gene da insulina (*INS*) também poderiam dar origem à doença em questão. Em suas pesquisas, Colombo e colaboradores (2008) descreve que houveram 7 mutações na proinsulina (Figura 3), o que acredita-se ser inovador, pois está associado ao DNP.



**Figura 3** Diagrama representando a molécula de proinsulina humana indicando a localização das mutações causando DN. Os resíduos de aminoácido no sinal do peptídeo são indicados em verde, em vermelho na cadeia A, em laranja no Peptídeo-C, e em azul. As mutações são descritas nos círculos negros, juntamente com a localização na cadeia A ou B.

Fonte: Stoy e colaboradores (2007)

### 2.3.1 Diabetes Melito Neonatal Transitório (DNT)

Uma vez com esse tipo de diabetes o indivíduo desenvolve hiperglicemia com hipoinsulinemia precocemente, com necessidade de insulina exógena durante 4 a 60 semanas, período após o qual entram em remissão (TEMPLE *et al.*, 2000). Além disso, também é caracterizado por retardo no crescimento intrauterino (SHIELD *et al.*, 1997; TEMPLE *et al.*, 2000), desidratação, e falha de crescimento (GARDNER *et al.*, 1999).

De acordo com Gardner e colaboradores (1999), os níveis de insulina endógena são geralmente baixos ou indetectáveis e a maioria dos pacientes requer insulino-terapia exógena por uma duração média de três meses. A condição resolve-se espontaneamente até completar 1 ano de idade, porém alguns pacientes desenvolvem diabetes mais tarde na vida.

As supostas mutações que levam ao DNT são três genes, *PLAGL1* (PB) *HYMAI* e *ZAC*, encontrados dentro de uma região no cromossomo 6q24. De acordo com Arima e colaboradores (2001), o gene *HYMAI* tem função desconhecida, o gene *PLAGL1* é um candidato a gene supressor de tumor e exibe atividades de antiproliferação celular e o gene *ZAC* regula o ciclo celular e a apoptose. No DNT estes genes sofrem *imprinting*, levando às desordens metabólicas. No pâncreas estes genes são moderadamente expressos, podendo levar ao DNT.

Em termos simples, *imprinting* consiste na supressão de certos genes através da adição de grupos metil, geralmente na região promotora, prevenindo a transcrição gênica. Portanto, duas cópias do cromossomo paterno 6, uma duplicação paterna do 6q24 ou perda de *imprinting* (perda de metilação) do 6q24 materno levam à superexpressão do alelo paterno, causando o DNT (ARIMA *et al.*, 2001).

Os três mecanismos que causam DNT em 90% dos casos são os seguintes:

dissomia uniparental paterna (UPD) do cromossomo 6; duplicação do cromossomo 6q24 sobre o alelo paterno; e metilação com defeito no cromossomo 6q24 (LEÓN; STANLEY, 2008).

### 2.3.2 Diabetes Melito Neonatal Permanente (DNP)

O DNP é aquele que ocorre nos primeiros meses de vida e, como o nome indica, não entra em remissão. Pode manifestar-se como um defeito isolado na secreção de insulina através de mutações em genes envolvidos com a secreção da insulina (BABENKO *et al.*, 2008; NJOLSTAD *et al.*, 2001; GLOYN *et al.*, 2004).

O DNP é geneticamente mais heterogêneo e tem sido associado com mutações em 8 genes diferentes: *IPF-1*, *EIF2AK3*, *GCK*, *FOXP3*, *KCNJ11*, *PTF1A*, *ABCC8*, e *GLIS3* (BABENKO *et al.*, 2008). De uma forma geral, pode-se então verificar, conforme o Quadro 1, os principais genes que estão envolvidos no DNP e suas funções na célula.

O curso de DNP varia de acordo com o genótipo. Aproximadamente 20% dos indivíduos com mutações em *KCNJ11* possuem características neurológicas associadas e estão predispostos à síndrome do DNP e suas características (atraso de desenvolvimento, epilepsia, *diabetes mellitus* e neonatal), sendo autossômico dominante (LEÓN, 2008). Em indivíduos com mutações *KCNJ11*, o tratamento com sulfonilureias corrige a hiperglicemia (PEARSON *et al.*, 2006) e pode reverter algumas das manifestações neurológicas (HATTERSLEY; ASHCROFT 2005; SLINGERLAND; HATTERSLEY, 2005)

De acordo com León (2008), mutações homozigotas no *PDX1* resultam em uma forma mais grave de deficiência de insulina do que em *K+ATP* ou *GCK* relacionadas com diabetes neonatal. Além disso, estes indivíduos têm insuficiência pancreática exócrina. Para estabelecer a extensão da doença em um indivíduo com suspeita ou confirmação de mutações nas *PDX1*, uma avaliação da função pancreática exócrina deverá ser realizada.

## 2.4 ALTERAÇÕES QUE LEVAM AO DIABETES NEONATAL PERMANENTE

Como o DNP é mais comum do que o DNT, uma descrição das principais alterações genéticas que levam a esta doença é apresentada abaixo.

### 2.4.1 Mutações no Canal de Potássio ATP-sensível (K+ATP)

O canal *K+ATP* das células  $\beta$  pancreáticas realiza a ligação entre o sinal gerado pelo metabolismo da glicose com a despo-

larização da membrana celular e com a exocitose dos grânulos de insulina (REIS; VELHO, 2000). De acordo com Guergel e Moisés (2008), a glicose entra na célula  $\beta$  pancreática através da proteína transportadora GLUT-2, sendo então metabolizada por enzimas da via glicolítica, incluindo a glicoquinase, para produzir ATP. O aumento da relação ATP/ADP intracelular leva ao fechamento do canal K<sup>+</sup>ATP e à despolarização da membrana plasmática.

**Quadro 1** Principais genes atualmente conhecidos por estarem associados ao DNP

Gene	Lócus do Cromossomo	Características
ABCC8	11p15.1	Aproximadamente 19% dos casos de DNP são atribuídos a mutações ativadoras do ABCC8. O gene codifica o segundo dos dois componentes do canal de potássio ATP dependente da membrana plasmática da célula beta (BABENKO <i>et al.</i> , 2006).
GCK	7p15-p13	Raramente a DNP é atribuída a mutações inativadoras do GCK. Trata-se de uma enzima reguladora da glicólise na células $\beta$ pancreáticas (NJOLSTAD <i>et al.</i> , 2001), onde a Mutação R397L causa redução da função da GCK (PORTER, 2005).
INS	11p15.5	Aproximadamente 20% dos DNP são atribuídos a mutações no INS, gene da insulina que possui um modo de herança autossômico dominante (STOY <i>et al.</i> , 2007; POLAK <i>et al.</i> , 2008).
KCNJ11	11p15.1	Aproximadamente 30% dos casos de DNP são atribuídos a mutações ativadoras do KCNJ11. O gene codifica o primeiro dos dois componentes do canal de potássio ATP dependente da membrana plasmática da célula beta. Estudos demonstram que a mutação no KCNJ11, gene que codifica a sensibilidade ao ATP nos canais de potássio, é a forma mais comum, e pode ser espontânea (PORTER, 2005).
PDX1	13q12.1	Raramente o DNP é atribuído a mutações inativadoras do PDX1 (STOFFERS <i>et al.</i> , 1997). Este gene desempenha um papel fundamental no desenvolvimento e funcionamento das células beta pancreáticas.

O canal de cálcio voltagem sensível então se abre, e o influxo de cálcio resulta em exocitose dos grânulos de insulina. O K<sup>+</sup>ATP é composto de duas subunidades. Segundo Reis e Velho (2000), a primeira, conhecida como receptor de sulfonilureia (SUR1), é o sensor de ATP/ADP do canal. Este, por sua vez, é sintetizado pelo gene ABCC8 e faz parte da superfamília ABC (ATP-binding cassette). A outra subunidade forma o poro do canal e é conhecida como Kir6.2, que é codificada pelo gene KCNJ11. Os genes codificadores para estas duas subunidades são localizados na mesma região do cromossomo 11 (p15.1) a uma distância de 4,5 kb um do outro.

Mutações nos genes de qualquer uma das subunidades fazem com que os canais K<sup>+</sup>ATP permaneçam abertos, o que resulta em influxo de potássio aumentado e mantém a membrana da célula  $\beta$  em estado hiperpolarizado, bloqueando a secreção de insulina (HIRATA *et al.*, 2006), causando o DN. Muitas destas mutações descritas são associadas às formas graves da doença e demonstram *in vitro* uma ausência da atividade do K<sup>+</sup>ATP (ARIMA *et al.*, 2001).

Mutações nos genes de qualquer uma das subunidades fazem com que os canais K<sup>+</sup>ATP permaneçam abertos, o que resulta em influxo de potássio aumentado e mantém a membrana da célula  $\beta$  em estado hiperpolarizado, bloqueando a secreção de insulina (HIRATA *et al.*, 2006), causando o DN. Muitas destas mutações descritas são associadas às formas graves da doença e demonstram *in vitro* uma ausência da atividade do K<sup>+</sup>ATP (ARIMA *et al.*, 2001).

#### 2.4.2 Mutações no gene da insulina

O gene da insulina, localizado no braço curto do cromossomo 11, região 11p15, consiste de dois éxons codificadores separados por um único íntron (MICKLOS; FREYER; CROTTY, 2005).

Recentemente, identificaram-se mutações no gene da insulina como causa de DN (STOY *et al.*, 2007). Há descrições da década de 1980 de mutações no gene da insulina que afetam a atividade biológica da insulina, mas não alteram significativamente sua biossíntese. Estudos identificaram que as mutações no gene da insulina está presente em 12% dos pacientes com DNP, sendo a segunda causa mais comum, após mutações no gene KCNJ11 (EDGHILL *et al.*, 2007).

Polimorfismos dentro e perto deste gene foram testados para a associação o DM1. Curiosamente, um forte risco de associação é visto com variação alélica em um polimorfismo de VNTR (*Variable number of tandem repeats*) localizado a 5' do gene da insulina. Diferenças no número de unidades repetitivas VNTR podem afetar a transcrição do gene da insulina (provavelmente pela alteração da estrutura da cromatina), resultando em variação na susceptibilidade. Estima-se que a variação genética herdada na região da insulina responda por aproximadamente 10% do agrupamento familiar do DM1 (JORDE *et al.*, 2004).

Mutações no gene da insulina também produzem formas raras de DM2. Esta mutação leva à síntese de pró-insulina com alta resistência à degradação, reduzindo a produção de insulina livre. É comum encontrar uma relação insulina/peptídeo C anormal nestes pacientes. Já mutações nas cadeias da insulina podem causar insulinoopatias, caracterizadas pela ocorrência de insulina mutante, onde a substituição de um único aminoácido pode impedir a associação correta da molécula de insulina com seu receptor (CARVALHO-ALVES; POIAN, 2002). Várias mutações foram identificadas no gene da insulina, indicando assim seus "hot spots". São elas: A24D, G32S, C43G, F48C e R89C (STOY *et al.*, 2007). As mutações são críticas em regiões da molécula preproinsulina, o que a impede de dobrar (RON, 2002; OYADOMARI *et al.*, 2002).

#### 2.4.3 Mutações no gene da glicoquinase

A glicoquinase, enzima da via glicolítica, enzima de limitação da velocidade, que atua como "sensor da glicose", ligando a secreção da insulina à glicose extracelular (SILVA, 2004), é reguladora do metabolismo da glicose nas células  $\beta$ , controlando a secreção de insulina.

Defeitos em seis genes distintos, importantes para a função da célula  $\beta$ , têm sido identificados como causa do diabetes em indivíduos com diabetes da juventude com início na maturidade (MODY [*maturity-onset diabetes of the young*]), um distúrbio autossômico dominante, responsável por apenas 2 a 5 % dos casos de DM2. Segundo Read e Donnai (2008), o MODY se assemelha muito à forma de início no adulto, e a identificação desses genes esclareceu os mecanismos que controlam a homeostase da glicose e a resposta da insulina. Inzucchi (2007) afirma que cada um desses genes mutantes está manifestado nas ilhotas pancreáticas, e suas mutações resultam no reconhecimento anormal da glicose pelas células  $\beta$ , disfunção secretória de insulina ou ambos.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste contexto, foi apresentada uma revisão dos aspectos fisiológicos do diabetes melito, destacando o diabetes neonatal. Apesar de ser considerada uma condição rara, a identificação dos tipos de mutações envolvidas leva ao melhor entendimento das disfunções das células  $\beta$  e isso contribui para a compreensão dos mecanismos moleculares que mantêm a homeostase da glicose e dos defeitos moleculares que levam à hiperglicemia crônica.

Assim, através de diferentes mutações podem surgir o diabetes neonatal transitório ou permanente, os quais se caracterizam por anormalidades nas concentrações de glicose. Portanto, o estudo destas mutações bem como o entendimento das alterações fisiológicas e bioquímicas envolvidas com o diabetes neonatal são de extrema importância para a introdução de novos esquemas terapêuticos e para melhorar a qualidade de vida dos pacientes diabéticos, reduzindo significativamente a morbidade e mortalidade associada com o diabetes e suas complicações.

### REFERÊNCIAS

- ARIMA, T. *et al.* A conserved imprinting control region at the HYMAI/ZAC domain is implicated in transient neonatal diabetes mellitus. **Human Molecular Genetics**, v. 10, p. 1475-83, 2001.
- ARMSTRONG, D.; KING, A. B. Insulina e diabetes. **HowStuffWorks**, 08 mar. 2006. Disponível em: <<http://saude.hsw.uol.com.br/insulina-e-diabetes2.htm>>. Acesso em: 22 ago. 2008.
- ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE DIABETES. **Diabetes de A a Z: tudo o que é preciso saber sobre diabetes, de forma simples**. 5. ed. Rio de Janeiro, RJ: Anima, 2006.
- BABENKO, A. P. *et al.* Activating mutations in the ABCC8 gene in neonatal diabetes mellitus. **The New England Journal of Medicine**, v. 355, p. 456-466, 2006.
- BROWN, T. A. **Clonagem gênica e análise de DNA: Uma introdução**. 4. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2003.
- CARVALHEIRA, J. B. C.; ZECCHIN, H. G.; SAAD M. J. A. Vias de Sinalização da Insulina atualização. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 4, p. 419-425, ago. 2002.
- CARVALHO-ALVES, P. C.; POIAN, A. T. **Hormônios e Metabolismo: Integração e correlações clínicas**. São Paulo, SP: Editora Atheneu, 2002.
- COLOMBO, C. *et al.* Seven mutations in the human insulin gene linked to permanent neonatal/infancy-onset diabetes mellitus. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 118, n. 6, p. 2148-2156, 2008.
- DEVLIN, T. M. **Manual de Bioquímica: Com correlações clínicas**. 5. ed. [S. l.]: Editora Edgard Blucher Ltda, 2008.
- EDGHILL, E. L. *et al.* Origin of de novo *KCNJ11* mutations and risk of neonatal diabetes for subsequent siblings. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 92, n. 5, p. 1773-1777, 2007.
- GARDNER, R. J. *et al.* Localisation of a gene for transient neonatal diabetes mellitus to an 18.72 cR3000 (~5.4 Mb) interval on chromosome 6q. **Journal of Medical Genetics**, v. 36, p. 192-96, 1999.
- GILMAN, G. A. *et al.* **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 10. ed. New York: MacMillan, 2001.
- GLOYN, A. L. *et al.* Activating mutations in the gene encoding the ATP-sensitive potassium-channel subunit Kir6.2 and permanent neonatal diabetes. **The New England Journal of Medicine**, v. 350, n. 18, p. 1838-1849, 2004.
- GURGEL, L. C.; MOISÉS, R. S. Diabetes Melito Neonatal. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 52, n. 2, 2008.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2002.
- HABER, E. P. *et al.* Secreção de Insulina: Efeito Autócrino da Insulina e Modulação por Ácidos Graxos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 219-227, 2001.
- HATTERSLEY, A. T.; PEARSON E. R. Pharmacogenetics and beyond: the interaction of the interaction of therapeutic response, B-cell physiology and genetics in diabetes. **Endocrinology**, v. 143, p. 2657-63, 2006.

- HATTERSLEY, A. T.; ASCROFT, M. Activating Mutations in Kir6.2 and Neonatal Diabetes New Clinical Syndromes, New Scientific Insights, and New Therapy. *Diabetes*, v. 54, p. 2503-2513, Sept. 2005.
- HIRATA, R. D. C. *et al.* Farmacogenética do tratamento de diabete melito. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FISIOLÓGIA CARDIOVASCULAR, 2006, Ribeirão Preto. *Anais...* São Paulo-SP: [S. n.], 2006. p. 554-561.
- INZUCCHI, S. E. *et al.* **Diabetes Melito**: Manual de cuidados essenciais. 6. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2007.
- JORDE, L. B. *et al.* **Genética Médica**. 2. ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 1996.
- \_\_\_\_\_. **Genética Médica**. 3. ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2004.
- KISHIMOTO, M. *et al.* Detection of Mutations in the Human Insulin Gene by Single Strand Conformation Polymorphisms. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, USA, v. 74, n. 5, p. 1027-1031, 1994.
- LEHNINGER, A. L. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo, SP: Sarvier, 1995.
- LÉON, D. D.; STANLEY, C. A. Permanent Neonatal *Diabetes Mellitus*. *GeneReviews: Permanent Neonatal Diabetes Mellitus*, University of Washington, Seattle, p. 1-23, 2008.
- MICKLOS, D. A.; FREYER, G. A.; CROTTY D. A. **A Ciência do DNA**. 2. ed. Porto Alegre, RS: Editora Artmed, 2005.
- MIRANDA, M. T. M.; LOFFREDO, C. Um marco na bioquímica e na medicina. *Ciência Hoje*, p. 75-77, 2005.
- NJOLSTAD, P. R. *et al.* Neonatal *diabetes mellitus* due to complete glucokinase deficiency. *The New England Journal of Medicine*, v. 344, p. 1588-1592, 2001.
- OYADOMARI, S. *et al.* Targeted disruption of the Chop gene delays endoplasmic reticulum stress-mediated diabetes. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 109, p. 525-532, 2002.
- PAULI, J. R. *et al.* **Treinamento físico e administração de insulina**: efeitos sobre o metabolismo de carboidratos e proteínas. Rio Claro, SP: UNESP, 2003.
- PEARSON, E. R. *et al.* Switching from insulin to oral sulfonylureas in patients with diabetes due to Kir6.2 mutations. *New England Journal of Medicine*, v. 355, p. 467-477, 2006.
- POLAK, M.; CAVÉ H. Neonatal *diabetes mellitus*: a disease linked to multiple mechanisms. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, v. 2, p. 12, 2007.
- POLAK, M. *et al.* Heterozygous Missense Mutations in the Insulin Gene Are Linked to Permanent Diabetes Appearing in the Neonatal Period or in Early Infancy. *Diabetes*, v. 57, p. 1115-1119, 2008.
- PORTER, J. R. *et al.* Permanent neonatal diabetes in an Asian infant. *Journal Pediatric*, v. 146, p. 131-133, 2005.
- PROKS, P. *et al.* A gating mutation at the internal mouth of the Kir6.2 pore is associated with DEND syndrome. *EMBO Reports*, v. 6, p. 470-475, 2006.
- READ, A.; DONNAI D. **Genética Clínica**: uma nova abordagem. Porto Alegre, RS: Artmed, 2008.
- REIS, A. F.; VELHO, G. Patologia Molecular do Receptor de Sulfoniluréia (SUR1). *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 44, n. 5 São Paulo, 2000.
- ROPELLE, E. R.; PAULI, J. B.; CARVALHEIRA, J. B. C. Efeitos moleculares do exercício físico sobre as vias de sinalização insulínica. *Motriz*, Rio Claro, v.11, n.1, P. 49-55, 2005.
- RON, D. Proteotoxicity in the endoplasmic reticulum: lessons from the Akita diabetic mouse. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 109, p. 443-445, 2002.
- SANNAZZARO, C. A. C. *et al.* **Determinação de Insulina. Insulin assays**, v. 15, n.4, p. 6-8, 2001.
- SHIELD, J. P. H. *et al.* Aetiopathology and genetic basis of neonatal diabetes. *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition*, v. 76, n. 1, p. 39-42, 1997.
- SILVA, J. G. **Revisão bibliográfica sobre fármaco – Fisiologia endócrina da diabetes mellitus tipo 2**. 2004. 23f. Tese (Pós – graduação Lato sensu em Farmacologia: atualidade e novas tendências) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2004.
- SLINGERLAND A. S.; HATTERSLEY, A. T. Mutations in the Kir6.2 subunit of the KATP channel and permanent neonatal diabetes: new insights and new treatment. *Annals of Internal Medicine*, v. 37, n. 3, p. 186-195, 2005.
- STOFFERS, D. A. *et al.* Pancreatic agenesis attributable to a single nucleotide deletion in the human IPF1 gene coding sequence. *Nature Genetics*, v. 15, p. 106-110, 1997.
- STOY, J. *et al.* Insulin gene mutations as a cause of permanent neonatal diabetes. *The National Academy of Sciences of the USA*, v. 104, n.38, 15040-15044, 2007.
- TEMPLE, I. K. *et al.* Transient neonatal diabetes. Widening the understanding of the etiopathogenesis of diabetes. *Diabetes*, v. 49, p. 1359-66, 2000.
- VANDER, L. S. C. *et al.* **Fisiologia Humana**: Os mecanismos e funções corporais. 9. ed. [S. l.]: Guanabara Koogan, 2006.

ZAGURY, L. Exercício físicos e diabetes. **Merck Endonews Endocrinologia e Diabetes**, v. 1, n. 3, p. 10-13, 2000.

*Recebido em: 22 Junho 2009*

*Aceito em: 30 Junho 2009*