



Estudo molecular da diabetes tipo MODY: atualização de resultados (2011-2019)

Molecular study of MODY Diabetes: results update (2011-2019)

Margarida Vaz¹, Gisela Gaspar¹, Ana Agapito², Ana Carolina Neves³, Ana Paula Bogalho⁴, Bruno Almeida³, Carla Pereira⁵, Fernando Fonseca², Goreti Lobarinhas⁶, Henrique Vara Luiz⁷, João Sequeira Duarte⁸, Maria de Lurdes Sampaio⁵, Paulo Dario¹, Mafalda Bourbon¹; Estudo Molecular de Diabetes Monogénicas*

mafalda.bourbon@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Serviço de Endocrinologia, Hospital Curry Cabral, Centro Hospitalar Universitário Lisboa Central, Lisboa, Portugal

(3) Associação Protetora dos Diabéticos de Portugal, Lisboa, Portugal

(4) Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Centro Hospitalar Universitário Lisboa Central, Lisboa, Portugal

(5) Unidade de Endocrinologia Pediátrica, Serviço de Pediatria Médica, Departamento de Pediatria, Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte, Lisboa, Portugal

(6) Serviço de Pediatria, Hospital Santa Maria Maior, Barcelos, Portugal

(7) Serviço de Endocrinologia e Diabetes, Hospital Garcia de Orta, Almada, Portugal

(8) Serviço de Endocrinologia, Hospital Egas Moniz, Lisboa, Portugal

* Investigadores do estudo Molecular de Diabetes tipo MODY, no fim do artigo

_Resumo

A diabetes tipo MODY é uma doença monogénica que se estima que contribua para 1 a 5% de todos os casos de diabetes. Atualmente existem 14 genes associados a esta patologia cujos doentes apresentam características fenotípicas, metabólicas e genéticas muito heterogéneas. Em 2011, o Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge implementou o estudo molecular da diabetes tipo MODY com o objetivo de caracterizar geneticamente estes doentes e identificar precocemente familiares em risco, de forma a contribuir para a melhor gestão do doente. O rastreio destes doentes é difícil devido a critérios clínicos pouco sensíveis e inespecíficos e por não existir um biomarcador único que nos permita fazer a diferenciação entre os vários tipos de diabetes. O estudo genético permite a correta identificação destes doentes. Entre 2011 e 2019, foram estudados 76 casos índice nos quais foram identificadas alterações patogénicas ou provavelmente patogénicas em 35,5% (27). Através do estudo em cascata dos familiares, foi possível identificar adicionalmente 17 indivíduos com MODY. Para estes doentes, o conceito de medicina personalizada é uma realidade pois, com base no diagnóstico genético, os clínicos têm a capacidade de definir uma terapêutica adequada a cada caso, bem como de estabelecer o prognóstico, aconselhamento genético e o estudo de familiares.

_Abstract

MODY diabetes is a monogenic disease that is estimated to contribute to 1 to 5% of all diabetes cases. Currently, there are 14 genes associated with this condition whose patients present heterogeneous phenotypic, metabolic and genetic characteristics. In 2011, Department of Health Promotion and Prevention of non Communicable Diseases implemented the Molecular Study of MODY Diabetes with the aim of genetically characterizing these patients and early identify family members at risk, in order to contribute for the best management of these patients. The screening is difficult due to the low sensibility and specificity of clinical

criteria, because there is no single biomarker that allows to make the differentiation between the different types of diabetes. The genetic study allows the correct identification of these patients. Between 2011 and 2019, 76 index cases were studied and in 35.5% (27) a pathogenic or probably pathogenic variant was identified. Through cascade screening of family members, it was possible to additionally identify 17 individuals with MODY. For these patients, the concept of personalized medicine is a reality because based on the genetic diagnosis, the clinicians have the ability to define an appropriate therapy for each case and establish patient prognosis, genetic counselling as well as identification of other at risk family members.

_Introdução

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a Diabetes Mellitus (DM) afeta 422 milhões de adultos em todo o mundo. Estima-se que, destes casos, 1 a 5% sejam resultado de variantes patogénicas num único gene, sendo por isso denominada de diabetes monogénica (1). Um dos tipos de diabetes monogénica é a denominada diabetes tipo MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young), uma vez que é frequente o aparecimento desta patologia numa fase precoce da vida (2). A primeira descrição desta doença surgiu nos anos 70 (2,3), quando foram identificadas pessoas com diabetes com características clínicas distintas da DM tipos 1 e 2: os sintomas manifestavam-se antes dos 25 anos, em indivíduos não obesos, com história familiar da doença, demonstrando transmissão autossómica dominante e, ge-



ralmente, não necessitando de terapêutica com insulina durante um período aproximado de 2 anos (4,5). Atualmente estão identificados 14 genes associados à diabetes tipo MODY (2,6), apesar da grande maioria destes casos resultar de alterações em 4 destes genes: *GCK*, *HNF1A*, *HNF1B* e *HNF4A* (2,5,7).

Estes doentes apresentam características fenotípicas, metabólicas e genéticas bastantes distintas entre si, dependendo quer do gene afetado, quer do tipo de variante genética associada (8). Cada subtipo de MODY exige uma monitorização e estratégia terapêutica, diferente, sendo essencial o diagnóstico genético para a escolha terapêutica, uma vez que estes doentes são frequentemente diagnosticados com DM tipo 1 ou 2, levando a que possam não receber tratamento adequado à sua real condição (8).

Apesar de existirem várias estimativas sobre a prevalência de diabetes tipo MODY, os dados epidemiológicos disponíveis são ambíguos e geograficamente variáveis, tendo em conta que diferentes países apresentam diferentes abordagens no que diz respeito ao recrutamento de doentes e a critérios de decisão clínica e, por isso, impera a necessidade de existir em Portugal um estudo populacional de larga escala e a possibilidade de rastreio genético para doentes diabéticos (8).

Em 2011, o Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis (DPSDNT) do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge implementou o Estudo Molecular da Diabetes tipo MODY tendo como principais objetivos a caracterização genética destes doentes e a identificação precoce de familiares em risco, de forma a contribuir para a melhor gestão do doente. O rastreio destes doentes é difícil devido a critérios clínicos pouco sensíveis e inespecíficos e por não existir um biomarcador único que nos permita fazer a diferenciação entre os vários tipos de diabetes. O estudo genético permite a correta identificação destes doentes.

_Objetivos

Caracterizar geneticamente doentes com diagnóstico clínico de MODY entre 2011 e 2019 e identificar precocemente familiares em risco, de forma a contribuir para a melhor gestão clínica do doente e da família.

_Material e métodos

Entre 2011 e 2019 foram referenciados ao estudo 76 casos índice, com diagnóstico clínico de MODY, e 42 familiares com e sem diabetes. O DNA genómico foi extraído das amostras de sangue total colhido em tubos de EDTA. O DNA foi posteriormente sujeito a amplificação por PCR e sequenciado por sequenciação de Sanger. Foram estudadas a região promotora, regiões codificantes e regiões intrónicas adjacentes dos genes *GCK*, *HNF1A*, *HNF1B* e *HNF4A*. Foi realizada a pesquisa de grandes rearranjos por MLPA (*Multiplex ligation-dependent probe amplification*). As variantes encontradas foram classificadas segundo as *guidelines* do *American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)* (9). Todos os doentes e familiares deram o seu consentimento escrito para participarem no projeto.

_Resultados e discussão

Dos 76 casos índice que participaram no Estudo, foi identificada uma variante genética patogénica ou provavelmente patogénica em 27 casos (cerca de 35,5% dos casos índice). Através do estudo em cascata dos familiares, foi possível identificar adicionalmente 17 indivíduos com diabetes tipo MODY, perfazendo um total de 44 indivíduos diagnosticados geneticamente.

Cerca de 48% das variantes identificadas localizavam-se no gene *GCK*, 32% no gene *HNF1A*, 16% no gene *HNF1B* e 4% no gene *HNF4A*. No [quadro 1](#) estão identificadas todas as variantes genéticas classificadas como patogénicas e provavelmente patogénicas encontradas na amostra do estudo.

Para os casos índice em que não foi possível identificar a causa genética que justifica o fenótipo apresentado são plausíveis duas explicações: estes doentes podem possuir alterações raras noutros genes associados à doença (no presente estudo só se estudaram 4 genes), ou estes doentes podem apresentar DM tipos 1 e 2, uma vez que os critérios existentes para rastrear casos de diabetes monogénica são pouco sensíveis, inespecíficos e mantêm-se inalterados desde os anos 70 (8). Para pesquisar outras variantes raras, o DPSDNT está a implementar um painel de NGS com todos os genes associados à diabetes monogénica e



Quadro 1: ↓ Variantes genéticas classificadas como patogénicas ou como provavelmente patogénicas, encontradas nos participantes do estudo da diabetes tipo MODY, entre 2011-2019.

Gene	Localização	Variante	Proteína	Indivíduos Afetados	Classificação ACMG
GCK	Exão 2	c.94_96del	p.(Cys32del)	1 (1 família)	Provavelmente patogénica
	Exão 3	c.214G>A	p.(Gly72Arg)	2 (1 família)	Provavelmente patogénica
	Exão 4	c.364C>T	p.(Leu122Phe)	5 (1 família)	Provavelmente patogénica
	Exão 5	c.544G>A	p.(Val182Met)	1 (1 família)	Provavelmente patogénica
	Intrão 5	c.579+1_579+33del	?	7 (3 famílias)	Patogénica
	Exão 7	c.766G>A	p.(Glu766Lys)	1 (1 família)	Provavelmente patogénica
		c.757G>C	p.(Val253Leu)	1 (1 família)	Provavelmente patogénica
	Exões 5 a 8	c.484-?_1019+?del ?	?	1 (1 família)	NA
Exão 10	c.1358C>T	p.(Ser453Leu)	2 (1 família)	Provavelmente patogénica	
HNF1A	Exão 2	c.391C>T	p.(Arg131Trp)	2 (1 família)	Provavelmente patogénica
	Exão 3	c.599G>A	p.(Arg200Gln)	2 (1 família)	Provavelmente patogénica
	Exão 4	c.788G>A	p.(Arg263His)	1 (1 família)	Patogénica
		c.814C>T	p.(Arg272Cys)	5 (3 famílias)	Provavelmente patogénica
		c.872dupC	p.(Gly292Argfs*25)	1 (1 família)	Patogénica
		c.872delC	p.(Pro291Glnfs*51)	2 (1 família)	Patogénica
	Exão 9	c.1745_1763dup	p.(Thr589Profs*66)	1 (1 família)	Patogénica
HNF1B	Exão 2	c.526C>T	p.(Gln176*)	2 (1 família)	Patogénica
	Deleção gene	c.1-?_1674+?del	?	5 (4 famílias)	NA
HNF4A	Exão 2	c.187C>T	p.(Arg63Trp)	1 (1 família)	Provavelmente patogénica
		c.211_212delAT	p.(Met71Valfs*6)	1 (1 família)	Patogénica

outras doenças associadas à diabetes, pelo que será possível dar resposta a alguns destes doentes que ainda não têm um diagnóstico definitivo. O estudo genético é a única forma de confirmar uma suspeita clínica de MODY. No entanto, uma vez que podem não ter sido identificados todos

os genes associados à MODY, o diagnóstico de MODY não pode ser excluído caso não se encontre uma alteração nos genes atualmente conhecidos como causadores desta patologia.



Conclusões

Em 2011, o DPSDNT estabeleceu o Estudo de Diabetes tipo MODY, tendo sido estudados, até 2019, 76 casos índex. Nestes foram detetadas alterações patogénicas ou provavelmente patogénicas em 27 (35,5%) indivíduos e identificados mais 17 familiares com MODY. Para os 44 participantes a quem foi atribuído um diagnóstico definitivo de diabetes tipo MODY, o conceito de medicina personalizada é uma realidade. Com base neste resultado, os clínicos têm a capacidade de definir uma terapêutica adequada às necessidades específicas de cada um destes doentes.

Com a implementação, em curso, de um painel de NGS (*Next-Generation Sequencing*), julgamos que no futuro será possível dar resposta diagnóstica a um maior número de doentes. Contudo, eventualmente poderão surgir novos desafios relacionados com a quantidade de informação resultante do uso desta tecnologia.

Investigadores do estudo Molecular de Diabetes tipo MODY

Coordenação e equipa laboratorial – Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças não Transmissíveis do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

Coordenadores: Mafalda Bourbon e Paulo Dario; Equipa laboratorial: Margarida Vaz e Gisela Gaspar; Equipa clínica: Ana Agapito (Serviço de Endocrinologia – Hospital Curry Cabral, Centro Hospitalar Universitário Lisboa Central), Ana Carolina Neves (APDP – Associação Protetora dos Diabéticos de Portugal), Ana Paula Bugalho (Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo – Centro Hospitalar Universitário Lisboa Central), Bruno Almeida (APDP – Associação Protetora dos Diabéticos de Portugal), Carla Pereira (Unidade de Endocrinologia Pediátrica, Serviço de Pediatria Médica, Departamento de Pediatria – Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte), Carolina Moreno (Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra), Fernando Fonseca (Serviço de Endocrinologia – Hospital Curry Cabral, Centro Hospitalar Universitário Lisboa Central), Goreti Lobarinhas (Serviço de Pediatria – Hospital Santa Maria Maior), Henrique Vara Luiz (Serviço de Endocrinologia e Diabetes – Hospital Garcia de Orta), João Sequeira Duarte (Serviço de Endocrinologia – Hospital Egas Moniz), Maria de Lurdes Sampaio (Unidade de Endocri-

nologia Pediátrica, Serviço de Pediatria Médica, Departamento de Pediatria – Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Universitário Lisboa Central) e Sofia Gouveia (Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra).

Referências bibliográficas:

- (1) Yang Y, Chan L. Monogenic Diabetes: What It Teaches Us on the Common Forms of Type 1 and Type 2 Diabetes. *Endocr Rev.* 2016 Jun;37(3):190-222. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1116>
- (2) Firdous P, Nissar K, Ali S, et al. Genetic Testing of Maturity-Onset Diabetes of the Young Current Status and Future Perspectives. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018 May 17;9:253. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00253>
- (3) McDonald TJ, Ellard S. Maturity onset diabetes of the young: identification and diagnosis. *Ann Clin Biochem.* 2013 Sep;50(Pt 5):403-15. <https://doi.org/10.1177/0004563213483458>
- (4) Gaspar G, Seuanes F, Duarte JS, et al. Diagnóstico Genético da diabetes tipo MODY na população portuguesa. *Boletim Epidemiológico Observações.* 2013;2(-Supl 2):30-32. <https://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/2134>
- (5) Hattersley AT, Patel KA. Precision diabetes: learning from monogenic diabetes. *Diabetologia.* 2017 May;60(5):769-777. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4226-2>
- (6) Vaxillaire M, Froguel P. Monogenic diabetes: Implementation of translational genomic research towards precision medicine. *J Diabetes.* 2016 Nov;8(6):782-795. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12446>
- (7) Misra S, Owen KR. Genetics of Monogenic Diabetes: Present Clinical Challenges. *Curr Diab Rep.* 2018 Oct 30;18(12):141. <https://doi.org/10.1007/s11892-018-1111-4>
- (8) Althari S, Gloyn AL. When is it MODY? Challenges in the Interpretation of Sequence Variants in MODY Genes. *Rev Diabet Stud.* 2015 Fall-Winter;12(3-4):330-48. <https://doi.org/10.1900/RDS.2015.12.330>
- (9) Richards S, Aziz N, Bale S, et al; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015 May;17(5):405-24. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>