

Genética endocrina

91

ASOCIACIÓN ENTRE UN POLIMORFISMO DEL PROMOTOR 2 DEL GEN HNF4-A Y LA DIABETES GESTACIONAL

M. Hernández*, D. Rivero**, A. Caballero*, I. Aznar*, I. Mascareño*, L. Morcillo*, A. Jiménez**, N.L. González*** y E. Salido**

*Endocrinología y Nutrición, **Unidad de Investigación, ***Ginecología y Obstetricia H.U. de Canarias. La Laguna.

Introducción: El factor de transcripción nuclear del hepatocito 4a (HNF4a, cromosoma 20q13) está implicado en la regulación de diversos genes implicados en el metabolismo de la glucosa. Recientemente se han identificado polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en el promotor 2 (P2) de este gen asociados a la diabetes tipo 2 (DM2) en poblaciones de Judíos Ashkenazi, Finlandeses y Amish. Dada la similar base etiopatogénica de la DM2 y de la diabetes gestacional (DG) hemos querido testar la posible asociación de uno de estos SNPs (rs2144908, A/G) con la DG. El alelo menos frecuente (A), asociado a DM2 en estos estudios previos, se ha descrito en la población general con una frecuencia alrededor de 0,16.

Sujetos y métodos: Se analizó una muestra de 71 pacientes con DG y antecedentes familiares en primer grado de DM2 (según entrevista clínica) con las siguientes características: edad $33,9 \pm 3,5$ años, IMC pregestación $28,7 \pm 6,4$, semana gestacional al diagnóstico 23 ± 5 semanas. Como grupo control se tomaron 82 sujetos aleatorios de una muestra representativa de la población canaria (estudio ENCA). Se diseñó una PCR específica para localizar el cambio en la secuencia por la presencia o ausencia de una diana de enzima de restricción (PCR-RFLP).

Resultados: En la muestra de la población general ($n = 82$) encontramos 63 sujetos GG, 19 GA y ningún AA, para el SNP rs2144908 del gen HNF4a, de donde se deduce una frecuencia del alelo A = 0,12. Por el contrario, entre las 71 pacientes con DG se detectaron 38 de genotipo GG, 24 GA y 2 AA para este polimorfismo, con una frecuencia del alelo A = 0,197. A pesar de lo limitado del número de casos y controles incluidos, las diferencias en la frecuencia alélica encontradas son estadísticamente significativas ($\chi^2 = 6,4$; $p = 0,011$).

Conclusión: Hemos encontrado una asociación positiva entre el alelo A del polimorfismo rs2144908 del promotor del gen HNF4a y el desarrollo de diabetes gestacional. Con las limitaciones del tamaño de los grupos analizados, y a falta de descartar posibles asociaciones espúreas basadas en subestructura poblacional (en marcha), nuestros resultados implican una variante concreta del gen HNF4a en la predisposición genética a padecer diabetes gestacional.

92

DESCRIPCIÓN DE UNA NUEVA MUTACIÓN EN EL GEN DE LA GLUCOQUINASA CAUSANTE DE DIABETES MELLITUS MONOGENICA MODY 2

J. Gómez Zumaquero*, J. López Siguero**, N. Cobo Vuilleumier*, S. López Enríquez*, A. del Pino Fernández**, M. García***, P. Rodríguez Bada*, P. Sanz Bigora***, F. Soriguer Escofet* y A. Cuesta Muñoz*

*Endocrinología y Nutrición H.R.U. Carlos Haya-Fundación IMABIS. Málaga, **H. Materno Infantil H.R.U. Carlos Haya. Málaga, ***Instituto de Biomedicina CSIC. Valencia.

Introducción: El enzima glucoquinasa (GK) fosforila a la glucosa en el primer y limitante paso de la glucólisis en la célula b

pancreática, jugando un importante papel en el metabolismo de la glucosa y la secreción de insulina por dicha célula. Mutaciones en el gen de GK (GCK) van a dar lugar a muy diferentes fenotipos clínicos, que van desde hiperglucemias a hiperinsulinismo tanto de carácter leve como severo.

Paciente y método: *Informe clínico:* Paciente de 18 meses de edad atendido en el Hospital Materno Infantil de Málaga por hiperglucemias aisladas, especialmente postprandial. *Antecedentes familiares:* Madre con diabetes gestacional. Abuelos maternos con diabetes. Bisabuela materna con diabetes (todos con tratamiento insulínico). Prima hermana con diabetes mellitus tipo 1 por confirmar. *Pruebas diagnósticas:* Se determinaron anticuerpos pancreáticos, glucemia basal, SOG y HB A1c. *Informe genético:* El informe genético se realizó en base a una búsqueda de mutaciones por secuenciación directa del gen de la glucoquinasa.

Resultados: Los anticuerpos antipancreáticos fueron negativos; Glucemia basal: 123 mg%; Insulinemia: 18 μ U/ml.; SOG (0-120 minutos): 114-134 mg%; Hb A1c: 6,7% (HPLC). Tras el barrido del gen de la glucoquinasa se detectó la mutación CTG > CCG en la posición 39 del exón 8, que corresponde al codón 301 de la GcK (NM_000162) e implica el cambio de L (leucina) por P (prolina). En estos momentos se están realizando los estudios funcionales de la proteína mutada en esta posición y genéticos en la familia del probando. En la actualidad el paciente tiene 4 años y medio con una buena evolución; presentando esporádicamente valores elevados de glucemia postprandial tratado solo con dieta y con de Hb A1c: 6,1%.

93

MUTACIONES DE GLUCOQUINASA CONTIGUAS EN SU DISPOSICIÓN ESPACIAL CAUSAN DISTINTOS FENOTIPOS CLÍNICOS

J. Gómez Zumaquero*, S. López Enríquez*, F. Barbetti**, M. García***, P. Rodríguez Bada*, P. Sanz Bigora***, F. Soriguer Escofet* y A. Cuesta Muñoz*

*Endocrinología y Nutrición Hospital Regional Universitario Carlos Haya-Fundación IMABIS. Málaga, **Ospedale Pediatrico Bambino Gesù Universidad de Roma. Italia, ***Instituto de Biomedicina CSIC. Valencia.

Introducción: Glucoquinasa (GK) fosforila la glucosa en el primer y limitante paso de la glucólisis en la célula b pancreática, gobernando el metabolismo de la glucosa y la secreción de insulina por dicha célula. Mutaciones en la GK van a dar lugar a diabetes tanto de carácter leve como severo, así como a hiperinsulinismo, también de carácter leve a severo. Se presentan tres mutaciones encontradas en humanos con tres diferentes fenotipos clínicos y contiguas en la estructura espacial de la proteína.

Método: Dos pacientes diagnosticados de diabetes y uno de hiperinsulinismo. El screening del gen de la GK se realizó por secuenciación directa. Para el estudio estructural se utilizó el modelo de GK humana. El estudio funcional de la proteína nativa y de las mutaciones encontradas, se realizó mediante espectrofotometría.

Resultados: El estudio funcional de la mutación GK-E440G dio como resultado una disminución leve de su afinidad por la glucosa y de su eficacia catalítica comparada con la enzima nativa. Esta disminución fue aún mayor en la mutación situada en el aminoácido contiguo GK-S441W. Al estudiar la mutación hallada en el siguiente aminoácido GK-E442K, encontramos, por el contrario, un aumento en la afinidad por la glucosa y la

eficacia catalítica con respecto a la proteína nativa sana. Los resultados obtenidos explican que el hecho de la proximidad espacial de las mutaciones en la GK no implican la aparición de un mismo fenotipo clínico.

94

NEOPLASIA ENDOCRINA MÚLTIPLE TIPO 2: ESTUDIO DE 100 PACIENTES

F.J. Tébar Massó*, M. Balsalobre Salmerón**, N. Torregrosa Pérez**, A. Rios Zambudio**, M. Arraez Monllor*, M.T. Gallego García*, J.M. Rodríguez González**, I.M. Burgasé Estalló* y M. Arraez Monllor*

*Endocrinología y Nutrición, **Cirugía General y Ap. Digestivo y H. Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia.

Introducción: El MEN 2A se caracteriza por la presencia de cáncer medular de tiroides (CMT) feocromocitomas (FEO) e hiperparatiroidismo primario (HPT). Por su parte el MEN 2B no asocia HPT y sí hábito marfanoide, ganglioneuromatosis intestinal, neuromas mucosos y escoliosis vertebral. En la actualidad el estudio de mutaciones en el protooncogén RET es indispensable para el diagnóstico genético de los casos índice y la detección de familiares afectos que permita un tratamiento precoz de cualquier patología.

Objetivos del estudio: Estudiar en 100 pacientes MEN 2 de la Comunidad Autónoma de Murcia las alteraciones genéticas y clínicas, así como analizar la posible correlación genotipo/fenotipo y valorar la relación entre diagnóstico precoz y pronóstico de la enfermedad.

Material y método: Se han estudiado genéticamente 371 sujetos pertenecientes a 17 familias don diagnóstico de MEN 2 con el fin de identificar la mutación del protooncogén RET. A los portadores de la mutación se les determinó la calcitonina plasmática basal y tras estímulo con calcio. Como variables se analizaron: edad, genotipo, modo de diagnóstico (genético o clínico), fenotipo y CMT (valores de calcitonina, tamaño, TNM).

Resultados: Se identificaron 100 portadores de mutación de protooncogén RET con los siguientes tipos: a) En el exón 11.- 13 familias eran portadoras de la mutación Cys634Tyr mientras que 2 tenían la mutación Cys634Arg. b) En el exón 14.- 1 familia con mutación Val804Met. c) En el exón 16.- 1 familia con sólo un miembro afecto (MEN 2B) Met918Thr. De los 100 pacientes 77 presentaban calcitoninas altas y 33 normales. A todos se les practicó cirugía reglada de tiroides. En los 33 que recibieron cirugía profiláctica el estudio anatomopatológico reveló 19 CMTs y 14 Hiperplasias de células C (HCC). Se encontró correlación entre edad de diagnóstico y tamaño del tumor ($p < 0,004$), edad de diagnóstico y TNM ($p < 0,005$) y edad de diagnóstico con presencia de CMT o HCC ($p < 0,01$). El diagnóstico en fase de HCC correlaciona con mayor tasa de curación ($p < 0,001$) y menor tasa de recidiva ($p < 0,001$). Los fenotipos encontrados han sido: MEN 2A.-64 pacientes con CMT; 30 CMT + FEO; 2 CMT + HPT; 3 CMT + FEO + HPT. MEN 2B.- 1 paciente con CMT + hábito marfanoide + escoliosis + neuromas mucosos + ganglioneuromatosis. Se ha encontrado una mayor asociación de mutación Cys634Arg en los pacientes con HPT ($p < 0,001$) así como en los pacientes con CMT + FEO + HPT ($p < 0,005$) y en los pacientes con CMT + FEO ($p < 0,02$).

Conclusiones: El estudio del protooncogén RET debe hacerse en pacientes y familiares. La identificación de la mutación de forma precoz permite instaurar tratamientos profilácticos con mayor tasa de curación y menor recidiva.

95

PREDICCIÓN DEL RIESGO DE OSTEOPOROSIS MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES: ANÁLISIS DE SNPS EN EL PROMOTOR DEL GEN PPAR-GAMMA3 EN MUJERES POSMENOPÁUSICAS

J.M. Quesada¹, A. Casado², R. Cuenca¹, L. Barrios¹ y G. Dorado³

¹Unidad de Metabolismo Mineral, ²Unidad de Investigación Hospital Reina Sofía. Córdoba, ³Dep. Bioquímica y Biología Molecular Universidad de Córdoba. Córdoba.

El gen ppar-gamma (ppar- γ) codifica un receptor nuclear implicado en diversos procesos fisiológicos, teniendo una relevancia especial en la diferenciación de adipocitos a partir de célula precursoras. Se ha sugerido que la inducción o represión del gen ppar- γ puede estar implicada en la regulación de la osteoblastogénesis. Por tanto, los polimorfismos de este gen han sido propuestos como candidatos a marcadores moleculares para la predicción de la osteoporosis. Hasta la fecha se han descrito varios polimorfismos del gen ppar- γ 3, estando relacionados con diabetes, obesidad y osteoporosis. Recientemente se ha descrito un polimorfismo de un nucleótido (SNP) en el promotor del gen ppar- γ 3, que implica una transversión C/G localizada en el sitio de unión del factor de transcripción STAT5B. La presencia del alelo G impide la unión de STAT5B a la región promotora, y por tanto evita la transactivación del promotor ppar- γ 3. Además, el alelo G se ha asociado con un incremento del colesterol LDL. Hemos llevado a cabo un estudio piloto en una población de 225 mujeres posmenopáusicas de Córdoba, a fin de evaluar la posible asociación entre este polimorfismo y la osteoporosis o baja densidad ósea. De acuerdo con los criterios diagnósticos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se consideró osteoporosis cuando el valor de "T score" fue igual o inferior a -2,5. En este trabajo se ha puesto a punto una metodología de genotipaje basada en PCR específica de alelo en un sólo tubo, que hemos optimizado en nuestro laboratorio. Esta técnica permite diferenciar los alelos por las diferentes temperaturas de fusión de los amplímeros correspondientes. La población estudiada mostró frecuencias alélicas de 0,82 (C) y 0,18 (G). El genotipo más abundante fue CC (65,9%), seguido por CG (32,7%) y GG (1,4%). Según el criterio de la OMS, las frecuencias alélicas y los porcentajes genotípicos de ambos grupos fueron, respectivamente: C (0,83), G (0,17); CC (67,6%), CG (31,7%) y GG (0,7%) para mujeres normales y osteopénicas vs C (0,80), G (0,20); CC (63,1%), CG (34,5%) y GG (2,4%) para mujeres osteoporóticas. Nuestro estudio indica que este polimorfismo tiene probablemente un efecto sutil, aunque clínicamente relevante, implicando el impacto de la edad y diversos fármacos en la masa mineral ósea. Por tanto, proponemos que debería llevarse a cabo un estudio multicéntrico a gran escala para determinar los posibles efectos genéticos de este polimorfismo en la osteoporosis.