

BASES MOLECULARES DE UNA NUEVA MUTACIÓN EN EL GEN DE GLUCOQUINASA QUE CAUSA DIABETES TIPO MODY 2 EN UNA PACIENTE CHILENA.

Óscar Aránguiz-Pizarro (1), Rodrigo Rivera (1), Mauricio Báez (1), Daniela Seelenfreund (1), Pilar Durruty (2)

(1)Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. (2)Departamento de Medicina, Hospital Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La glucoquinasa (GK) es una enzima fundamental para la célula β pancreática, ya que posee un rol clave en la regulación y buen funcionamiento de la secreción de insulina. Sus características cinéticas, principalmente su alta $S_{0.5}$ y cooperatividad positiva para glucosa, le permiten modular los cambios de actividad enzimática que preceden la liberación de insulina. Se ha descrito que mutaciones inactivadoras de la GK son causantes de un subtipo de diabetes monogénica llamada "Maturity-Onset diabetes of the Young type 2" (MODY2). Recientemente, se descubrió una nueva mutación no sinónima en GK (Gly448Asp) en una paciente MODY2 chilena. Esta mutación no ha sido caracterizada a nivel funcional. Proponemos que las posibles alteraciones de las características cinéticas de la GK producto de esta mutación podrían explicar su manifestación clínica. Para caracterizar esta enzima mutante, la glucoquinasa de células β pancreáticas humanas y la mutante Gly448Asp se expresaron en un sistema heterólogo y se purificaron mediante un solo paso de cromatografía de iones metálicos inmovilizados. Las actividades enzimáticas se midieron usando un ensayo acoplado a NAD^+ , y los parámetros cinéticos se calcularon usando análisis de regresión no lineal. La GK mutante presenta una k_{cat} de $29.7 \pm 0.8 [\text{s}^{-1}]$, la cual corresponde a la mitad del valor de la enzima silvestre, y una $S_{0.5}$ de $1.7 \pm 0.2 [\text{mM}]$ para glucosa, parámetro tres veces menor en comparación con la enzima normal. No hubo cambios en la cooperatividad positiva para glucosa y K_m para ATP entre la enzima mutante y silvestre. Creemos que esta mutación podría generar una enzima disfuncional, dado que presenta parámetros cinéticos alterados. Los valores de k_{cat} encontrados en la mutante, indican que a niveles fisiológicos de glucosa la enzima presenta una menor actividad enzimática que la silvestre. Considerando el valor de $S_{0.5}$, a niveles fisiológicos de glucosa la enzima mutante podría estar saturada, por lo que carecería de la capacidad de modular su actividad en respuesta a los cambios en la glicemia. Dado que el cambio de la actividad es una característica clave para la correcta liberación de insulina, creemos que la enzima mutante podría alterar este proceso y contribuir a las características clínicas observadas.

Financiamiento: FONDECYT 1191153