

PREDIÇÃO POR ANÁLISE *IN SILICO* DA CONSEQUÊNCIA DE MUTAÇÃO MISSENSE NO GENE IGF2 HUMANO

Data de submissão: 10/01/2023

Data de aceite: 01/03/2023

Karla Roberta Lemos Maul de Souza Costa

Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Departamento de Biologia
Recife, Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/8727605240852776>

Paula Ferdinanda Conceição de Mascena Diniz Maia

Universidade Federal de Pernambuco-
UFPE
Departamento de Saúde Materno - Infantil
Recife, Pernambuco
Faculdade Pernambucana de Saúde –
FPS
Recife, Pernambuco
Instituto de Medicina Integral Professor
Fernando Figueira
Recife, Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/8902741452850526>

Arthur Felipe Ferreira de Freitas

Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Departamento de Biologia
Recife, Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/2454032040901369>

Maria de Mascena Diniz Maia

Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Departamento de Biologia
Recife, Pernambuco
<https://lattes.cnpq.br/7051998554981575>

RESUMO: As síndromes hipertensivas gestacionais (SHG), hipertensão gestacional (HG) e hipertensão arterial crônica (HAC) estão entre as maiores causas de morte materna e fetal e podem estar relacionadas ao polimorfismo do gene *IGF2* humano. Método: Na plataforma Ensembl, o transcrito IGF2-205 foi identificado no UNIPROT pelo código P01344. Das 150 variantes missenses depositadas no *atabank*, 11 foram selecionadas para análise *in silico*, usando os algoritmos *SIFT*, Polyphen2 e MetaLR. Resultados: Os algoritmos usados para prever os efeitos das variantes missenses nas proteínas codificadas pelo gene *IGF2* em humanos, apresentaram concordância na predição das consequências moleculares, podendo ser considerados ferramentas confiáveis para a caracterização de novas mutações encontradas neste gene. A proteína codificada pelo gene *IGF2* possui uma sequência conservada evolutivamente, sugerindo que o gene é sensível a mutações e, portanto, o local identificado, provavelmente, está relacionado à etiologia das patologias. Conclusão: A partir desses resultados, podemos concluir que as alterações morfofuncionais das proteínas resultantes das mutações do gene *IGF2*,

podem estar associadas a processos prejudiciais e mudanças na estabilidade estrutural da proteína, dificultando a sua ação no processo fisiológico. A compreensão dessas alterações podem auxiliar na busca por marcadores genéticos, contribuindo para esclarecimento do prognóstico, diagnóstico, prevenção e tratamento para doenças humanas relacionadas às síndromes hipertensivas gestacionais, hipertensão gestacional, hipertensão arterial crônica, entre outras.

PALAVRAS-CHAVE: Polimorfismo Genético, IGF2, Variantes, Bioinformática, Missense.

PREDICTION BY *IN SILICO* ANALYSIS OF THE OUTCOME OF MISSENSE MUTATION IN THE HUMAN IGF2 GENE

ABSTRACT: Gestational hypertensive syndromes(GHS), gestational hypertension (HG) and chronic arterial hypertension (CAH) are among the major causes of maternal and fetal death and may be related to the polymorphism of the human *IGF2* gene. Method: On the Ensembl platform, the *IGF2*-205 transcript was identified in UNIPROT by the code P01344. Of the 150 missense variants deposited in the databank, 11 were selected for in silico analysis, using the SIFT, Polyphen2 and MetaLR algorithms. Results: The algorithms used to predict the effects of missense variants on the proteins encoded by the *IGF2* gene in humans, showed agreement in predicting the molecular consequences and can be considered reliable tools for the characterization of new mutations found in this gene. The protein encoded by the *IGF2* gene has an evolutionarily conserved sequence, suggesting that the gene is sensitive to mutations and, therefore, the identified location is probably related to the etiology of the pathologies. Conclusions: Based on these results, we can conclude that the morphofunctional alterations of proteins resulting from mutations in the IGF2 gene may be associated with harmful processes and changes in the structural stability of the protein, hindering its action in the physiological process. Understanding these alterations can help in the search for genetic markers, contributing to clarifying the prognosis, diagnosis, prevention and treatment of human diseases related to gestational hypertensive syndromes, gestational hypertension, chronic arterial hypertension, among others.

KEYWORDS: Genetic polymorphism, IGF2, Variants, Bioinformatics, Missense.

1 | INTRODUÇÃO

A bioinformática é uma ciência que oferece diferentes ferramentas e tecnologias computacionais utilizadas para analisar dados e prever as consequências moleculares na substituição de aminoácidos com base na estrutura proteica, trazendo informações importantes para identificação de mutações possíveis de causar doenças genéticas humanas. As síndromes hipertensivas gestacionais (SHG), a hipertensão gestacional (HG) e a hipertensão arterial crônica (HAC) estão entre as maiores causas de morte materna e fetal (WHO, 2011) e podem estar relacionadas ao polimorfismo do gene *IGF2* humano. O gene IGF2 (insulin-like growth factor 2), está situado na região cromossômica 11p15.5 e sofre imprinting genômico, fenômeno epigenético que ocorre durante a gametogênese. Este gene apresenta 4 éxons distribuídos ao longo de 5580 pb de DNA genômico. O gene IGF2

codifica o fator de crescimento semelhante à insulina tipo II (IGFII ou insuline-like growth factor II) com 180 aminoácidos que desempenham importante papel no desenvolvimento embrionário, controlando tanto o suprimento placentário quanto a demanda genética de nutrientes maternos para o feto mamífero (CONSTANCIA et al, 2002). O fator de crescimento semelhante à insulina 2 é um dos três hormônios protéicos que compartilham semelhança estrutural com a insulina. Uma mutação de sentido trocado ou “Missense” é um tipo mutação pontual de substituição de uma base no DNA (gene) que pode causar uma mudança no aminoácido dentro da região codificadora da proteína podendo ser deletéria para sua função no organismo. Baseado na importância do gene *IGF2* para o desenvolvimento embrionário, torna-se importante analisar as mutações missenses que afetam diretamente a proteína devido a mudança de aminoácido, o que pode impactar negativamente no surgimento de diversas doenças.

2 | OBJETIVOS

Esse estudo visa avaliar os impactos das mutações missenses do gene *IGF2* humano a partir de três diferentes *softwares* de predição *in silico* (SIFT, PolyPhen-2 e MetaLR) que trazem informações baseadas na conservação evolucionária de aminoácidos, identificação de posições conhecidas como essenciais para função proteica, homologia de sequência, dobramento da proteína e informação de uma base de dados de mutações, com a finalidade de prever a consequência molecular de 11 diferentes mutações missenses nesse gene.

3 | METODOLOGIA

3.1 Seleção das variantes

O banco de dados Ensembl (<http://www.ensembl.org/>), que avalia a mudança de aminoácidos e suas posições; e o UniProt (<https://www.uniprot.org/>), que verifica as sequências de proteínas e informações funcionais, foram utilizados como ferramentas principais para selecionar as variantes analisadas nesse trabalho. O transcrito IGF2-205, no Ensembl, foi identificado no UniProt pelo código **P01344**. Nesse transcrito, estão descritas 150 variantes missenses depositadas no *database*, das quais 11 foram selecionadas para esta análise.

3.2 Análise e predição *in silico*

SIFT: É uma ferramenta que prevê os possíveis efeitos que as variantes missenses podem causar na função da proteína com base na homologia de sequências e nas semelhanças físico-química entre os aminoácidos substituídos (Ng, P. C. & Henikoff S. (2003). Seus escores podem variar entre 0 (deletério) e 1 (tolerado). **PolyPhen-2:**

Software capaz de prever os efeitos das variantes missenses nas proteínas, com base em propriedades físicas e comparativas. Seus escores podem variar de 0 a 1 (benigno, possivelmente prejudicial e provavelmente prejudicial) (Adzhubei, et al., 2010). **MetaLR:** É uma ferramenta capaz de prever a patogenicidade de variantes de nucleotídeo único(SNPs), utilizando um método de conjunto baseado em regressão logística.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos após a análise (Tabela 1) foram que as mutações p.G2V, p.G2E, p.S20W, p.R27C, p.G34D, p.R62L se apresentaram prejudiciais no MetaLR, provavelmente prejudiciais no PolyPhen e preditas como deletérias no SIFT. Enquanto as variantes p.S20L p.R27S, p. R27H, p.A56T, p.L133F e p.L133V foram preditas como tolerável, benigna e tolerável no SIFT, PolyPhen e MetaLR respectivamente. Porém, a variante localizada na posição 27 (R/L) na proteína (p.R27L), foi predita como deletéria no SIFT, provavelmente prejudicial e tolerável no PolyPhen e MetaLR respectivamente. As mutações p.L10V e p.L10P apresentaram como sendo benignas para o PolyPhen e no SIFT, p.L10V está predita como tolerável.No MetaLR, p.L10V e p.L10P se apresentam como deletéria e prejudicial, respctivamente. As variantes p.R127L e p.R127H foram preditas como deletérias, provavelmente prejudicial e tolerável nos softwares SIFT, PolyPhen e MetaLR respectivamente. A variante rs1858937182, (p.G34D) (Tabela 1) apresenta como sendo deletéria no SIFT, provavelmente prejudicial no PolyPhen e prejudicial no MetaLR. Essa variante *do IGF2* no alelo paterno foi evidenciada e sugerida como outro recurso para o diagnóstico da Síndrome de Silver-Russell (SRS), propondo a inclusão no painel de genes específicos projetados para diagnósticos de rotina de SRS (Liu, Deguo, et al. 2017). DeChiara et al. (1991) mostram que apenas o alelo paterno do gene é funcional, enquanto o materno é silenciado no organismo, revelando um *imprinting* metilado paternalmente. A proteína possui uma sequência conservada evolutivamente (Liu, Deguo, et al. 2017), isso indica que o gene é sensível à mutação e, portanto, o local identificado, provavelmente, é a etiologia da doença (Figura 1). Como pode ser visto, estudos *in silico* dos polimorfismos do gene em análise podem auxiliar na interpretação das variações gênicas, possíveis de estarem associadas às síndromes hipertensivas do período gestacional em humanos. Os softwares usados para prever os efeitos das variantes missense nas proteínas codificadas pelo *IGF2* em humanos apresentaram concordância na predição das consequências moleculares e podem ser considerados ferramentas confiáveis para a caracterização de novas mutações encontradas neste gene.

ID Variantes Missense	Resíduos Aminoácido	Códons	SIFT	PolyPhen	MetaLR
rs781634507	p.G2V (Gly / Val)	GGA, GTA	0,0	0,896	0,782
	p.G2E (Gly/ Glu)	GGA, GAA	Deletério	Provavelmente Prejudicial	Prejudicial
rs1361412373	p.L10V (Leu / Val)	CTG, GTG	0,07 Tolerado	0,433 Benigno	0,722 Deletério
rs984257990	p.L10P (Leu/ Pro)	CTG, CCG	0,04 Deletério	0,046 Benigno	0,706 Prejudicial
rs142012621	p.S20L (Ser /Leu)	TCG, TTG	0,56 Tolerado	0,001 Benigno	0,305 Tolerado
rs142012621	p.S20W (Ser /Trp)	TCG, TGG	0,04 Deletério	0,68 Provavelmente Prejudicial	0,613 Prejudicial
rs1230176657	p.R27 C (Arg / Cys)	CGC, TGC	0,03 Deletério	0,628 Provavelmente Prejudicial	0,658 Prejudicial
rs1230176657	p. R27S (Arg / Ser)	CGC, AGC	0,29 Tolerável	0,015 Benigno	0,411 Tolerável
rs1356855570	p. R27H (Arg / His)	CGC, CAC	0,06 Deletério	0,007 Benigno	0,415 Tolerável
rs1191719522	p.R27L (Arg / Leu)	CGC, CTC	0,0 Deletério	0,999 Provavelmente prejudicial	0,353 Tolerável
rs1858937182	p.G34D (Gly /Asp)	GGC, GAC	0 Deletério	1 Provavelmente Prejudicial	0,971 Prejudicial
rs1212009594	p.A56T (Ala /Thr)	GCA, ACA	1 Tolerável	0,147 Benigno	0,207 Tolerável
rs768105151	p.R62L (Arg / Leu)	CGC, CTC	0,03 Deletério	0,864 Provavelmente Prejudicial	0,768 Prejudicial
rs768105151	p.R62H (Arg /His)	CGC, CAC	0,07 Tolerável	0,967 Provavelmente Prejudicial	0,832 Prejudicial
rs1191719522	p.R127L (Arg / Leu)	CGC, CTC	0 Deletério	0,999 Provavelmente Prejudicial	0,353 Tolerável
rs1191719522	p.R127H (Arg / His)	CGC, CAC	0 Deletério	1 Provavelmente Prejudicial	0,355 Tolerável
rs530101369	p.L133F (Leu /Phe)	CTC, TTC	0,15 Tolerável	0,055 Benigno	0,072 Tolerável

rs530101369	p.L133V (Leu / Val)	CTC, GTC	0,15 Tolerável	0,441 Benigno	0,099 Tolerável
-------------	------------------------	----------	-------------------	------------------	--------------------

Tabela 1. Predição das variantes missense do gene *IGF2* prejudiciais ao organismo humano, mostrando a substituição dos aminoácidos.



Figura 1. Desenho esquemático da proteína codificada pelo gene *IGF2* em humanos, mostrando a localização da variante rs1858937182 na sua estrutura.

4 | CONCLUSÃO

Estudos *in silico*, dos polimorfismos do gene *IGF2*, podem auxiliar na interpretação das variações gênicas, que podem estar associadas às síndromes hipertensivas do período gestacional em humanos. O que podemos concluir a partir desses resultados em relação à análise das variantes do gene *IGF2*, é que as alterações morfofuncionais das proteínas, resultantes das mutações nesse gene, podem estar associadas a processos danosos e mudanças da estabilidade e estrutura da proteína, dificultando a sua ação no processo fisiológico. Além disso, a compreensão das alterações morfofuncionais resultantes do gene *IGF2*, podem auxiliar na busca por marcadores genéticos e moleculares, contribuindo para compreensão do prognóstico, diagnóstico, prevenção e tratamento para doenças em humanos relacionadas às síndromes hipertensivas gestacionais, hipertensão gestacional, hipertensão arterial crônica, entre outras.

REFERÊNCIAS

Adzhubei, I. A., et al. (2010). **A method and server for predicting damaging missense mutations.** *Nat Methods*, 7(4): 248-249.

Constancia, M.; Hemberger, M.; Hughes, J.; Dean, W.; Ferguson-Smith, A.; Fundele, R.; Stewart, F.; Kelsey, G.; Fowden, A.; Sibley, C.; Reik, W. **“Placental-specific IGF-II is a major modulator of placental and fetal growth”**. Nature, London, v.417, n.6892, p.945-8, 2002.

DeChiara, Thomas M., et al. **“Parental Imprinting of the Mouse Insulin-like Growth Factor II Gene”**. Cell, vol. 64, no 4, fevereiro de 1991, p. 849–59. DOI.org (Crossref), [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90513-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90513-X).

Liu, Deguo, et al. **“De Novo Mutation of Paternal IGF2 Gene Causing Silver–Russell Syndrome in a Sporadic Patient”**. Frontiers in Genetics, vol. 8, agosto de 2017, p. 105. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00105>.

Ng, P. C. & Henikoff S. (2003). **SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function**. Nucleic Acids Res. 31(13): 3812-3814.

World Health Organization (WHO). **Recommendations for prevention and treatment of pre-eclampsia and eclampsia**. [Internet]. Genebra: WHO; 2011. Acesso em 20 de dezembro de 2022. Disponível: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44703/1/9789241548335_eng.pdf