

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS INTEGRADAS DO PONTAL
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Análise comparativa de genes relacionados à ocorrência de Diabetes Mellitus em *Homo sapiens* e *Drosophila melanogaster*

Beatriz Cabral Barbosa

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do
grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Ituiutaba - MG

Dezembro - 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS INTEGRADAS DO PONTAL
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Análise comparativa de genes relacionados à ocorrência de Diabetes Mellitus em *Homo sapiens* e *Drosophila melanogaster*

Beatriz Cabral Barbosa

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Azenha Alves de Rezende

Coorientadora: Prof^ª Dr^ª Máira Pompeu Martins

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do
grau de Bacharel em Ciências Biológicas

Ituiutaba - MG

Dezembro - 2017

AGRADECIMENTOS

Está se findando mais uma etapa de estudos da minha vida, de muitas que ainda virão.

Agradeço primeiramente a Deus, pela força que Ele me proporcionou para não desistir apesar dos contratempos.

Agradeço aos meus pais por me acompanharem nessa jornada e por abrirem mão de tantas comodidades para que pudesse estar aqui nesse momento. Em especial à minha mãe pela paciência e calma que teve comigo em todo esse tempo.

Agradeço à Profa. Dra. Karine Rezende de Oliveira e a Profa. Dra. Luciana Karen Calábria, membros da banca examinadora, por aceitarem o convite para fazerem parte da avaliação deste trabalho, pelas sugestões e opiniões dadas ao trabalho apresentado.

Agradeço muito ao Prof. Dr. Alexandre Azenha Alves de Rezende que me adotou como orientanda durante a disciplina TCC 2.

Agradeço à Dr^a. Máira Pompeu Martins, que começou comigo nesse projeto, que teve toda a paciência em me ajudar a crescer de forma profissional e pessoal, e que nunca desistiu da "filha desesperada". Agradeço a Deus por tê-la colocado em meu caminho.

Agradeço às minhas amigas que me acompanharam nessa trajetória, apoiaram e me incentivaram em todos os momentos.

RESUMO

Além de suscetibilidade a fatores ambientais, o Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) possui natureza poligênica, demonstrando uma associação de polimorfismos em regiões genéticas no desenvolvimento desta doença. Os genes humanos TCF7L2 e KCNJ11, relacionados à ocorrência de DM2 foram escolhidos para comparação em relação ao genoma de *Drosophila melanogaster*, amplamente utilizada como organismo modelo, pela conservação das funções fisiológicas em relação aos humanos. No presente estudo usou-se a bioinformática como ferramenta de análise de sequências de nucleotídeos e aminoácido para investigar o grau de identidade e conservação entre os genes. As sequências obtidas no banco de dados do NCBI foram alinhadas com o software BioEdit e a ferramenta BLAST foi utilizada para identificar o grau de similaridade entre as sequências. Para os genes estudados, observamos em *D. melanogaster* identidade inferior a 50%, nível considerado baixo, porém ainda assim é possível utilizar este organismo modelo para estudos de expressão gênica.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus tipo 2, Bioinformática, TCF7L2, KCNJ11.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<i>Figura 1. Alinhamento comparativo de aminoácidos do gene TCF7L2, identificado como PANGOLIN no genoma de Drosophila melanogaster.</i>	<i>17</i>
<i>Figura 2. Alinhamento comparativo de aminoácidos do gene KCNJ11, identificado como IRK2 no genoma de Drosophila melanogaster.</i>	<i>18</i>

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ATP	Adenosina Trifosfato
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
DM	Diabetes mellitus
DM2	Diabetes mellitus 2
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EWAS	Epigenome-wide association studies
GWAS	Genome-wide-association-studies
IRK 2	Inwardly rectifying potassium channel 2
KATP	ATP-sensitive potassium
KCNJ11	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily J Member 11
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PNG	Portable Network Graphics
qRT-PCR	PCR quantitativo em tempo real
TCF7L2	Transcription Factor 7 Like 2
siRNA	Small interfering RNA
SNPs	Single Nucleotide Polymorphism
Wnt	Wingless

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
1.1. <i>Fatores Genéticos</i>	9
1.2. <i>Gene TCF7L2</i>	10
1.3. <i>KCNJ11</i>	11
1.4. <i>Drosophila melanogaster</i>	11
2. OBJETIVO	13
2.1. <i>Objetivo Geral</i>	13
2.2. <i>Estratégias</i>	13
3. METODOLOGIA	14
3.1. <i>Busca de sequências e alinhamento</i>	14
3.2. <i>Análise de similaridade entre sequências</i>	15
4. RESULTADOS.....	16
4.1. <i>TCF7L2 (Homo sapiens) e PANGOLIN (Drosophila melanogaster) - Aminoácidos</i>	16
4.2. <i>KCNJ11 (Homo sapiens) e IRK2 (Drosophila melanogaster) - Aminoácidos</i>	17
5. DISCUSSÃO	19
6. CONCLUSÃO	22
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

1. INTRODUÇÃO

Diabetes mellitus (DM) não é uma única doença, mas um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresentam em comum a hiperglicemia, resultante de defeitos na ação da insulina, na secreção de insulina ou em ambas (MILECH et al., 2016). A classificação de DM recomendada pela Organização Mundial de Saúde define quatro classes clínicas: DM tipo 1, DM tipo 2, outros tipos específicos de DM e DM gestacional (WHO, 1999).

Apesar da hiperglicemia ser a mais marcante característica do diabetes, pode-se dizer que ela reflete a quebra da homeostase entre duas propriedades: a capacidade relativa de secreção da insulina pelas células β -pancreáticas e o grau de resistência à ação da insulina em tecido hepático e muscular (MARQUEZINE, 2009). Segundo Aires (2012), ao ingerir o alimento, a disponibilidade de glicose aumenta estimulando as células β -pancreáticas e inibindo as células- α . As células β -pancreáticas são responsáveis pela produção do hormônio insulina, o qual sinaliza a entrada da glicose nas células e, quando em excesso, pode ser armazenada na forma de glicogênio. Já quando o corpo se encontra com baixos níveis de glicose, o pâncreas produz o hormônio glucagon pelas células α -pancreáticas, o qual no fígado regula a liberação de moléculas livres de glicose a partir da degradação do glicogênio.

De acordo com as Diretrizes 2015-2016 da Sociedade Brasileira de Diabetes, diabetes tipo 2 (DM2) é uma doença crônica, verificada em 90 a 95% dos casos e caracteriza-se por defeitos na ação e secreção da insulina e na regulação da produção hepática de glicose, sendo causada por uma interação de fatores genéticos e ambientais. Nas últimas décadas, foi possível a identificação de numerosas variantes genéticas associadas ao DM2, mas ainda uma grande proporção da herdabilidade permanece inexplicada. O número de casos vem aumentando nos últimos anos devido à exposição da população a diversos fatores de risco que em geral estão associados ao estilo de vida adotado pela sociedade moderna, como o sedentarismo e dietas ricas em gorduras e açúcares (LYRA et al., 2006; BRASIL, 2013; MILECH et al., 2016).

Muitos indivíduos são assintomáticos, mas nos casos em que há sintomas, se observa quadro de: polidipsia, excessiva sensação de sede; perda ponderal, perda de peso sem controle; poliúria, produção excessiva de urina; polifagia, distúrbio que provoca “fome” exagerada. Muitas vezes, esses sintomas passam despercebidos ao longo dos anos, sendo o diagnóstico tardio, com base em complicações que atingem coração, vasos sanguíneos, olhos, rins e nervos. Também se relata aumento na susceptibilidade a infecções na pele e genitálias, e lesões nas extremidades dos pés devido à má circulação, em virtude de danos nos vasos sanguíneos, que podem levar a amputação dos membros. Problemas cardiovasculares ocasionados pelo DM2 são as principais causas de morte em países desenvolvidos. Além disso, o DM2 deve ser levado em consideração durante a gestação, pois pode acarretar em excesso de peso do bebê e possível hipoglicemia após o nascimento, tendo maiores chances de desenvolver DM2 ao longo da vida (BRASIL, 2006; GRILLO & GORINI, 2007; MOREIRA, 2015; ATLAS DE LA DIABETES DE LAFID, 2015).

1.1. Fatores Genéticos

Estudos recentes confirmaram a natureza poligênica do DM2 e demonstraram uma pequena, porém verdadeira, associação das regiões genéticas no risco do desenvolvimento de DM2. Também foi demonstrado que em gêmeos e em casos de consanguinidade, a hereditariedade do DM2 varia de 30 a 70%, sugerindo que o fator genético possui uma maior influência durante as primeiras fases de desenvolvimento da doença, e os fatores ambientais são mais influentes no DM2 tardio (BONNEFON & FROGUEL, 2015).

Nos últimos anos foram desenvolvidos estudos de variantes de alelos (SNPs - *Single nucleotide polymorphism*) em todo Genoma, chamado de GWAS (*Genome-wide association studies*). Tais estudos tiveram como objetivo a busca pela associação de polimorfismos de único nucleotídeo em sequências genômicas com traços genéticos complexos, sendo de grande importância para o entendimento da diversidade genética. Porém, essas variações explicam

apenas uma pequena porção da hereditariedade, indicando que diferentes fatores podem estar envolvidos, como mecanismos epigenéticos, não representados na sequência de DNA. Estudos de associação em escala epigenômica (EWAS – *Epigenome-wide association studies*), têm ganhado grande importância na identificação de doenças, como o DM (MOREIRA, 2015).

Ainda, polimorfismos genéticos podem influenciar no risco para o desenvolvimento de DM2, sugerindo que as complicações, como nefropatia, retinopatia e doenças cardiovasculares podem decorrer da exposição contínua aos fatores ambientais, mas estão também vinculados à susceptibilidade genética (REIS et al., 2011).

Dentre muitos genes associados ao risco de desenvolvimento de DM2, TCF7L2 e KCNJ11 possuem vasta descrição na literatura, com grande número de estudos que relacionam SNPs ao aumento da prevalência de DM2 em diversas populações (SLADEK et al., 2007; TAYLOR; NORRIS; ROTTER, 2007).

1.2. Gene TCF7L2

Localizado no cromossomo 10, na região 10q25.2-q25.3, o produto do gene TCF7L2 (*transcription factor 7 like 2*) é um fator de transcrição que possui um importante papel fisiológico, estando amplamente expresso e intimamente envolvido com a cascata de sinalização Wnt (associada à proliferação celular), considerado um dos principais mecanismos reguladores de crescimento e amadurecimento da célula. TCF7L2 desempenha função na secreção de insulina, no desenvolvimento e amadurecimento do pâncreas, e sugere-se que sua expressão esteja relacionada à secreção do glucagon (PRUNIER; HOCEVAR; HOWE, 2004; GRANT, 2006).

Os polimorfismos do gene TCF7L2 têm sido fortemente associados a risco de desenvolvimento de DM2 em populações de diversas origens étnicas. Variações polimórficas do gene TCF7L2 aumentam o risco em 1,45 vezes em heterozigotos e em 2,41 em homozigotos,

se comparado a não-portadores; dessa forma, o risco atribuível à população corresponde a 21%, sendo um importante fator para a saúde pública (GRANT, 2006; MARQUEZINE, 2009).

O gene TCF7L2 parece estar diretamente relacionado ao gene da insulina, regulando sua expressão e produção protéica, tal como observado em dados obtidos pelo silenciamento gênico de TCF7L2 e análises de expressão gênica (SHU et al., 2008).

1.3. *KCNJ11*

Encontrado no cromossomo 11, na região 11p15, é responsável pela produção de quatro das subunidades que compõem os canais de potássio dependentes de ATP. Os canais estão presentes nas células β -pancreáticas, as quais secretam o hormônio insulina (HAGHVIRDIZADEH et al., 2015). Mutações no canal de K-ATP ocorrem por via hereditária de origem paterna, alterando a eficiência do transporte de membrana (KOCAAY et al., 2016).

Os canais K-ATP estão incorporados nas membranas celulares, onde eles se abrem e fecham em resposta à quantidade de glicose sanguínea, resultando na liberação de insulina para fora das células beta e na corrente sanguínea, o que ajuda a controlar os níveis de glicemia no sangue (HAGHVIRDIZADEH et al., 2015).

Os Polimorfismos do gene KCNJ11 já foram associados em diversas populações ao risco aumentado de se desenvolver DM2. Estudos sugerem que indivíduos que carregam o alelo mutante do polimorfismo E23K (rs5219) do gene KCNJ11 podem ter predisposição ao desenvolvimento de DM2, resultado de uma deficiência na secreção e resistência à insulina (VAN DAM et al., 2005).

1.4. *Drosophila melanogaster*

Drosophila melanogaster é um organismo modelo genético bem estudado e adequado para a compreensão de mecanismos moleculares de doenças humanas, incluindo os genes responsáveis por transtornos neurológicos e de desenvolvimento, câncer, doenças

cardiovasculares, doenças metabólicas e de armazenamento, dentre outras patologias. Muitas propriedades biológicas, fisiológicas e neurológicas básicas são conservadas entre mamíferos e *D. melanogaster*, e cerca de 75% dos genes causadores de doenças humanas potencialmente possuem um homólogo funcional nesta mosca (BIER, 2005; PANDEY & NICHOLS, 2011).

Avanços recentes na compreensão dos processos metabólicos, homeostase da glicose e endocrinologia na mosca colocaram *D. melanogaster* como um modelo válido relevante para o estudo de transtornos metabólicos humanos e DM. Na mosca, foram identificadas células neurosecretoras no cérebro que secretam insulina, bem como células secretoras adicionais que secretam um análogo de glucagon que, em conjunto, apresentam paralelos fisiológicos e genéticos ao eixo endócrino dos vertebrados (HASELTON & FRIDELL, 2010; LNÄSSEL & WINTHER, 2010).

A disponibilidade do genoma de *D. melanogaster* tem permitido o desenvolvimento de análises funcionais e estruturais de genes relacionados a diversas doenças, como DM2 (BIER, 2005).

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo Geral

Analisar comparativamente as sequências de dois genes relacionados à ocorrência de Diabetes mellitus (DM) em *Homo sapiens* e *Drosophila melanogaster*, visando estudos posteriores neste organismo modelo.

2.2. Estratégias

- Comparar por alinhamentos de nucleotídeos e aminoácidos as sequências dos genes TCF7L2 e KCNJ11 de *D. melanogaster* em relação às sequências de *H. sapiens*.
- Definir estratégias para análise de expressão destes genes por qRT-PCR utilizando *D. melanogaster* como modelo experimental.

3. METODOLOGIA

3.1. Busca de sequências e alinhamento

As sequências de nucleotídeos e aminoácidos analisadas no presente estudo foram obtidas no banco de dados do NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) e os organismos de escolha foram *Homo sapiens* e *Drosophila melanogaster*.

Os genes selecionados foram: gene que codifica para um fator de transcrição tipo 2, identificado no genoma humano como TCF7L2 (#NC_000010) e Pan/Pangolin no genoma de *D. melanogaster* (#NC_004353), e o gene que codifica para uma proteína transmembrana canal de potássio dependente de voltagem, identificada no genoma humano como KCNJ11 (#NC_000011) e no genoma de *D. melanogaster* como IRK2 (NT_033777).

Os aminoácidos de TCF7L2 estão identificados no banco de dados como #XP_016874141 para *H. sapiens* e #NP_001014685 para *D. melanogaster*, e identificados como #AKI72245 para KCNJ11 e #NP_001287485 para IRK2.

Os genes foram pesquisados a partir da barra de busca do *site* NCBI *genes*, onde está disponível um link com a sequência de interesse em formato FASTA. As sequências dos aminoácidos foram buscadas na aba *protein*.

Para construção dos alinhamentos, foi utilizado o programa BioEdit (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>) utilizando a ferramenta ClustalW. As sequências foram editadas, tendo sido excluídas as regiões iniciais e finais, onde o pareamento nos dois organismos não foi completo, devido a diferenças de tamanhos das sequências de cada organismo. Após os alinhamentos, cada resultado foi salvo como imagem selecionando a opção “Graphic View”. Os arquivos foram exportados selecionando a opção “Export as RichText”.

Foi realizada então uma análise de identidade entre as sequências pareadas, observam-se quais os nucleotídeos e aminoácidos mantiveram-se conservados em ambos os organismos.

Para a identificação dessas conservações nos aminoácidos ou nucleotídeos usou-se o asterisco (*) como indicador.

3.2. Análise de similaridade entre sequências

Pra determinar o grau de similaridade entre as sequências, foi utilizada a ferramenta BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), opção *global alignment* (alinhamento global).

As análises foram feitas igualmente de forma comparativa entre aminoácidos e nucleotídeos. Os arquivos em formato FASTA foram inseridos no local apropriado e foi aplicado o alinhamento utilizando as sequências analisadas de forma pareada. Esta ferramenta forneceu a porcentagem de identificação entre as sequências em análise.

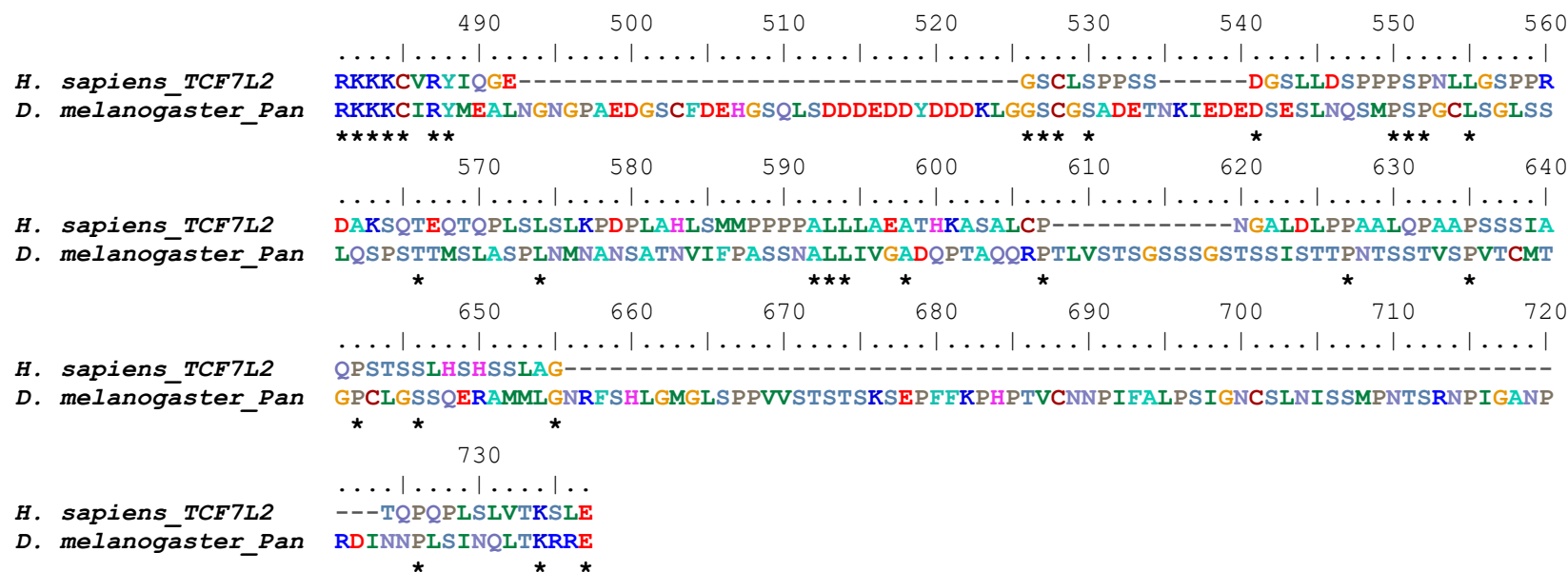
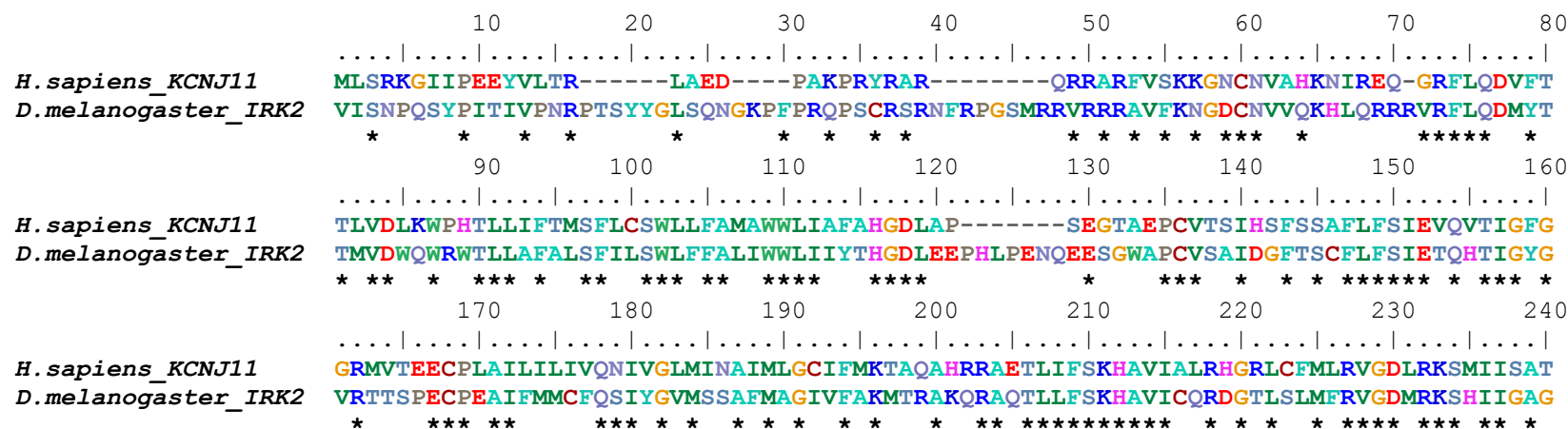


Figura 1. Alinhamento comparativo de aminoácidos do gene TCF7L2, identificado como PANGOLIN no genoma de *Drosophila melanogaster*.

4.2. KCNJ11 (*Homo sapiens*) e IRK2 (*Drosophila melanogaster*) - Aminoácidos





5. DISCUSSÃO

Alinhamento de sequências é o resultado do procedimento de comparação de duas ou mais sequências de DNA ou de proteínas para identificar regiões de similaridade. É um pré-requisito para praticamente todas as análises genômicas comparativas, incluindo a identificação de motivos conservados, estimativa da divergência evolutiva ou inferência de relações entre genes e espécies (KUMAR & FILIPSKI, 2007).

Acredita-se que cerca de 75% dos genes causadores de doenças humana tem um homólogo funcional em *D. melanogaster*. Avanços recentes na compreensão dos processos metabólicos, homeostase da glicose e endocrinologia neste organismo colocaram *D. melanogaster* como um modelo válido relevante para transtornos metabólicos humanos e diabetes, podendo ser usado na arena de descoberta terapêutica (PANDEY & NICHOLS, 2011).

Essa semelhança funcional nem sempre está refletida nas sequências de nucleotídeos e aminoácidos, mas ainda assim, estudos genéticos podem ser desenvolvidos de forma comparativa em nível de expressão gênica. Padrões de expressão (ou a falta da expressão do gene) são altamente relevantes quando se considera a investigação de um gene candidato para uma doença humana em um organismo modelo experimental (WANGLER et al., 2017).

Conhecidamente, moscas expressam homólogos de um receptor de sulfonilureia humana que, juntamente com o canal de potássio, formam um canal de potássio sensível ao ATP para regular a liberação de certos hormônios da mosca, incluindo um hormônio com função semelhante ao glucagon - hormônio adipocinético (KIM & RULIFSON, 2004; LLOYD & TAYLOR, 2010).

Experimentalmente, a análise de dados de expressão gênica utilizando *Drosophila melanogaster* tratada com fármacos indicados para o tratamento de DM, ou submetidas à exposição controlada de concentrações diferentes de glicose podem, por exemplo, revelar informações que auxiliariam na elucidação de ocorrência de resistência ao tratamento ou

demonstrar o comportamento de genes potencialmente relacionados ao desenvolvimento de DM2.

A identidade geral no nível de nucleotídeos ou na sequência da proteína entre a mosca e o mamífero é de aproximadamente 40% entre os homólogos; no entanto, em domínios funcionais conservados, pode ser de 80 a 90% ou superior (PANDEY & NICHOLS, 2011). Além disso, o grau de conservação depende de características específicas e é influenciado pelo tecido alvo e pelos mecanismos subjacentes da doença putativa (WANGLER et al., 2017).

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, observamos que não houve grande porcentagem de identidade entre as sequências de *D. melanogaster* e *H. sapiens* para os genes em análise. Para os aminoácidos de TCF7L2 e Pan/Pangolin identificamos 28% de identidade entre as sequências, indicando um baixo nível de conservação. Para KCNJ11 e IRK2 observamos 38% de identidade entre as sequências, também com baixo grau de conservação.

As análises dos nucleotídeos indicaram grau de identidade de 47% entre TCF7L2 e Pan/Pangolin e 43% entre KCNJ11 e IRK2. Os alinhamentos foram realizados, mas não estão representados neste trabalho em virtude do extenso número de nucleotídeos do alinhamento.

As regiões entre os aminoácidos número 344 a 431 (para TCF7L2) e 206 a 239 (KCNJ11) correspondem às regiões de maior conservação, o que é observado também nas sequências nucleotídicas (dados não mostrados). Esta relação de similaridade deve representar regiões de motivos de ligação ao DNA, altamente conservadas evolutivamente entre diferentes organismos.

Considerando que suas funções sistêmicas permanecem preservadas entre *D. melanogaster* e *H. sapiens*, e considerando o uso já bem estabelecido de *D. melanogaster* como modelo para estudos de patologias em humanos, as regiões conservadas dos genes foram utilizadas para desenhos de oligonucleotídeos iniciadores para uso em qRT-PCR.

Ainda que os dois organismos sejam distantes filogeneticamente, tal como confirmado nos alinhamentos realizados, pela conservação dos mecanismos moleculares que governam o desenvolvimento e conduzem os processos celulares e fisiológicos entre os dois, é possível desenvolver um estudo de expressão gênica utilizando *D. melanogaster* como modelo experimental (UGUR; CHEN; BELLEN, 2016).

Contudo, as semelhanças identificadas entre as sequências de aminoácidos e nucleotídeos indicam um baixo nível de conservação se comparado às porcentagens já citadas por Pandey e Nichols, 2011.

Ambos os genes possuem nomes diferentes em *D. melanogaster* em relação ao nome em *Homo sapiens*, que persiste em diferentes espécies, de acordo com observação no *site* do NCBI. A confirmação de que os dois genes de *D. melanogaster* eram efetivamente os homólogos em *H. sapiens* foram feitas por buscas no genoma de *D. melanogaster* utilizando *Flybase.org*, onde todos os dados referentes a estes genes estão depositados (flybase.org).

6. CONCLUSÃO

O estudo de patologias humanas em *D. melanogaster* é possível devido à conservação das funções sistêmicas relacionadas a genes específicos, tornando este organismo um modelo viável para comparação de funções fisiológicas com *Homo sapiens*. Pela análise comparativa de dois genes relacionados à ocorrência de DM2 (TCF7L2 e KCNJ11), pudemos observar regiões altamente conservadas e porções com menor identidade, refletindo regiões evolutivamente importantes para ambos os organismos e também o reflexo da distância filogenética entre as espécies em estudo. A similaridade bioquímica dos organismos valida a proposta de estudos de expressão de genes relacionados à ocorrência de DM2 em humanos utilizando *D. melanogaster* como modelo experimental.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIRES, Margarida De Mello. **Fisiologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.
- ATLAS DE LA DIABETES DE LA FID. Sétima edição. International Diabetes Federation, 2015.
- BONNEFOND, A. & FROGUEL, P. Rare and common genetic events in type 2 diabetes: what should biologists know? **Cell metabolism**. v. 21, n. 3, p. 357-368, 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Diabetes Mellitus** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde – Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- _____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica: diabetes mellitus** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2013.
- BIER, E. *Drosophila*, the golden bug, emerges as a tool for human genetics. **Nature reviews Genetics**, v. 6, n. 1, p. 9, 2005.
- GRILLO, M. F. F., GORINI, M. I. P. Caracterização de pessoas com diabetes mellitus tipo 2. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 60, n. 1, 2007.
- GRANT S. F. A. et al. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. **Nature genetics**, v. 38, n. 3, p. 320-323, 2006.
- HAGHVIRDIZADEH, P. et al. KCNJ11: genetic polymorphisms and risk of diabetes mellitus. **Journal of diabetes research**, v. 2015, 2015.
- HASELTON, A. T.; FRIDELL, Y. W. C. Adult *Drosophila melanogaster* as a model for the study of glucose homeostasis. **Aging (Albany NY)**, v. 2, n. 8, p. 523, 2010.
- KIM, S. K.; RULIFSON E. J. Conserved mechanisms of glucose sensing and regulation by *Drosophila* corpora cardiaca cells. **Nature**, v. 431, n. 7006, p. 316-320, 2004.
- KOCAAY, P. et al. Coexistence of mosaic uniparental isodisomy and a KCNJ11 mutation presenting as diffuse congenital hyperinsulinism and hemihypertrophy. **Hormone research in paediatrics**, v. 85, n. 6, p. 421-425, 2016.
- KUMAR, S.; FILIPSKI, A.; Multiple sequence alignment: in pursuit of homologous DNA positions. **Genome Research**, v. 17, n. 2, p. 127-135, 2007.
- LLOYD, T. E.; TAYLOR, J. P. Flightless flies: *Drosophila* models of neuromuscular disease. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1184, n. 1, 2010.
- LYRA, R. et al. Prevenção do diabetes mellitus tipo 2. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, p. 239-249, 2006.

LNÄSSEL, D. R.; WINTHER, A. M. *Drosophila* neuropeptides in regulation of physiology and behavior. **Progress in neurobiology**, v. 92, n. 1, p. 42-104, 2010.

MARQUEZINE, G. F. **Papel do polimorfismo rs7903146 do gene TCF7L2 na população brasileira e sua aplicação na predição de risco de diabetes tipo 2**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2009.

MILECH, A. et al. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016)**, São Paulo: A.C. Farmacêutica, 2016.

MOREIRA, L. M. (org.). **Ciências genômicas: fundamentos e aplicações**. Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, 2015.

PANDEY, U. B.; NICHOLS, C. D.; Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. **Pharmacological reviews**, v. 63, n. 2, p. 411-436, 2011.

PRUNIER, C., HOCEVAR, B.A. & HOWE, P.H. Wnt signaling: physiology and pathology. **Growth Factors** 22, p.141–150, 2004.

REIS, Â. A. D. S.; et al. As implicações do polimorfismo genético do gene *gst* na patogênese do diabetes mellitus tipo 2. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 9, n. 2, 2011.

SHU L. et al. Transcription factor 7-like 2 regulates β -cell survival and function in human pancreatic islets. **Diabetes**, v. 57, n. 3, p. 645-653, 2008.

SLADEK, R. et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. **Nature**, v.445, p.881– 885, 2007.

TAYLOR, K. D.; NORRIS, J. M.; ROTTER, J. I.; Genome-Wide Association: Which Do You Want First: The Good News, the Bad News, or the Good News? **Diabetes**, v. 56, n. 12, p. 2844-2848, 2007.

UGUR, B.; CHEN, K.; BELLEN, H. J.; *Drosophila* tools and assays for the study of human diseases. **Disease Models Mechanisms**, v. 9, n. 3, p. 235-244, 2016.

VAN DAM, R. M. et al. Common variants in the ATP-sensitive K⁺ channel genes KCNJ11 (Kir6. 2) and ABCC8 (SUR1) in relation to glucose intolerance: population-based studies and meta-analyses. **Diabetic Medicine**, v. 22, n. 5, p. 590-598, 2005.

WANGLER, M. F. et al. *Drosophila* and genome-wide association studies: a review and resource for the functional dissection of human complex traits. **Disease Models Mechanisms**, v. 10, n. 2, p. 77-88, 2017.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION CONSULTATION (Alberti K.G.M.M., Zimmet P.Z.). **Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus**. Report of a WHO Consultation. Geneva: WHO, 1999.

