

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE

UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE

CURSO DE BACHARELADO EM NUTRIÇÃO

ANA GABRIELA DO RÊGO LEITE

**GENÉTICA DA INTOLERÂNCIA A FRUTOSE E A
CONSTRUÇÃO DE PRIMERS ESPECÍFICOS PARA GENES
DA ENZIMA ALDOLASE (ALDOB)**

Cuité - PB

2020

ANA GABRIELA DO RÊGO LEITE

**GENÉTICA DA INTOLERÂNCIA A FRUTOSE E CONSTRUÇÃO DE PRIMERS
ESPECÍFICOS PARA GENES DA ENZIMA ALDOLASE (ALDOB)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Unidade Acadêmica de Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção de título de Bacharel em Nutrição, com linha específica em Nutrigenética e bioinformática.

Orientador: Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos.

Coorientadora: Prof.^a Dra. Carliane Receba Coelho da Silva.

Cuité - PB

2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Rosana Amâncio Pereira – CRB 15 – 791

L533g

Leite, Ana Gabriela do Rêgo.

Genética da Intolerância a frutose e a Construção de Primers Específicos para Genes da Enzima Aldolase (ALDOB). / Ana Gabriela do Rêgo Leite. – Cuité: CES, 2020.

54 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Nutrição) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2020.

Orientador: Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos

1. Frutose-1,6-bifosfato. 2. Nutrigenética. 3. Bioinformática.
4. Aldolase. 5. Primers I. Título.

Biblioteca do CES – UFCG

CDU 577.1

ANA GABRIELA DO RÊGO LEITE

**GENÉTICA DA INTOLERÂNCIA A FRUTOSE E CONSTRUÇÃO DE PRIMERS
ESPECÍFICOS PARA GENES DA ENZIMA ALDOLASE (ALDOB)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Unidade Acadêmica de Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção de título de Bacharel em Nutrição, com linha específica em Nutrigenética e bioinformática.

Aprovado em ___ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos
Universidade Federal de Campina Grande
Orientador

Pós-Dra. Carliane Rebeca Coelho da Silva
EMBRAPA-Universidade Federal Rural de Pernambuco
Examinadora

Prof. Dra. Nilcimelly Rodrigues Donato
Universidade Federal de Campina Grande
Examinadora

Cuité - PB

2020

Vir de uma boa família não é quando você cresce com dinheiro. Vir de uma boa família é quando alimentaram você de valores e princípios, é na educação dos filhos que se revelam as virtudes dos pais. Por isso dedico este trabalho a eles, meus pais e irmãos que sonharam comigo este sonho que hoje realizamos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Sempre ouvi que a recompensa por não desistir das coisas bonitas sonhadas pelo meu coração viriam no tempo de Deus, por isso agradeço primeiramente a Ele, Deus pai de infinita bondade, a minha mãe Maria Santíssima pela sua intercessão, ao padroeiro da minha terra, e santo de devoção, Santo Antônio pela graça que chegar até aqui.

Agradeço a meus pais, Antônio de Lisboa Leite (Galego) e Josefa Maria do Rêgo (Zefinha) por acreditarem na educação como a maior de todas as heranças e nunca abrirem mão de me proporcionar o melhor que podiam para que fosse possível alcançar ao nossos objetivos, digo nossos pois esse título é tão deles quanto meu. Hoje olho para tudo que percorremos e sinto o amor, o respeito, o diálogo, as diferenças, o companheirismo, a luta, a oração e acima de tudo a presença de Deus em meu lar. Obrigada por mostrarem o verdadeiro sentido da família, de como juntos somos fortes. Obrigada por mostrarem que o lar é a certeza que se tem pra onde voltar. Obrigada por cada “sim” e cada “não” no tempo certo, mesmo sem tantas vezes compreender, mas que foram essenciais para me tornar uma pessoa de bem. Obrigada por cada “tudo passa minha filha” e “amanhã é outro dia” todas as vezes em que me vi sem forças para continuar, ou quando a saudade bateu forte no peito por ficar tanto tempo longe de vocês. Agradeço por vocês nunca me darem exemplo, pois na verdade vocês sempre foram o maior de todos eles. Agradeço a meus irmãos: Pricila, Plynio e Pierre, por todo apoio, toda força e todo sacrifício que fizeram para que eu realizasse esse sonho. Conseguimos!

Aos tios e tias, que estiveram sempre presentes de forma direta ou indireta, sempre atenciosos me incentivando não apenas na graduação, mas em toda minha vida. Agradeço também aos meus pequenos afilhados Matheus Ian e Arthur Marcel que são meu combustível diário, são as razões pela qual busco constantemente ser melhor, ser exemplo e referência.

Impossível falar em família sem lembrar daqueles que foram a minha durante todo esse tempo, por isso agradeço aquelas que me estenderam a mão e me acolheram, sem saber se quer quem eu era, toda minha gratidão Bárbara Souza e Amaryanne Karollynny por todo cuidado, momentos vividos, por todos os conselhos e por tudo que fizeram por mim! agradeço também aquelas que ao longo do tempo vieram para somar em minha vida e no nosso “AP do Sucesso”, minhas irmãs: Tereza Cecília, Emilly Laís, Avyla Bezerra e Cássia Lavínia, obrigada por deixarem meus dias mais alegres, por todas as vezes que também tomaram minhas dores e me acalentaram e por estarem ao meu lado em todas as situações, obrigada pelos “pais, mães, tios e tias” que me deram, guardarei eternamente cada um em meu coração, obrigada pela “mãe” que vocês me ensinaram a ser, apesar das “brincas” sei que sempre consideraram como forma

de carinho e cuidado com cada uma de vocês. Conviver com vocês foi descobrir a força do amor, respeito, empatia e da partilha com outro todos os dias, vocês transbordam amor.

Gratidão, aquele que esteve presente todos os dias desta caminhada, o primeiro a ver minha aprovação e me avisar, que torceu, apoiou e não soltou minha mão em nenhum momento, aquele que sabe ser abrigo, e é dono do melhor lugar dentro de um abraço. Meu amor, meu amigo e companheiro de vida, Junior Paiva. Essa é apenas a primeira das conquistas e tudo que ainda vamos construir juntos, eu te amo!

Agradeço de todo coração as duas pessoas que me conhecem mais do que qualquer outra nesse mundo, a quem sei que fica verdadeiramente feliz com minhas conquistas e que é capaz de comemorar minhas vitórias, a quem faz de tudo para me ver sorrir, quem me escutou, acompanhou e vibrou comigo todos os dias, minhas melhores amigas, Paloma Lima e Iandra Rêgo, gratidão!

Gratidão também a quem juntou-se a mim na caminhada, andando na mesma direção e compartilhando o mesmo sonho, assim como dizia o Poeta João Doederlein “cada vida é uma bússola da própria existência e algumas ruas cabe a nós construir”, me sinto grata e feliz por construir mais do que “ruas” e sim um laço verdadeiro de amizade com toda turma do curso de Nutrição 2016.2 e especialmente vocês: Anna Luyza, Camila Maria, Elisângela Cordeiro, Elizângela Alves, Vilhena Lacerda, Gabriela Alves e Simone Teixeira, obrigada por tornarem a luta diária na UFCG mais leve, por fazerem de um simples momento algo extraordinário, por dividirem as angústias e as dificuldades ao longo da graduação, vocês foram fundamentais durante esse processo.

Como ser em constante evolução, agradeço aqueles que contribuíram de forma direta para meu crescimento pessoal e profissional ao longo desses quatro anos, aqueles que acreditam no meu potencial e me deram oportunidades de crescer em todos os aspectos da vida acadêmica, ao Grupo de Pesquisa e Estudos em Atualidades da Nutrição Clínica (CLINUTRI) onde iniciei a participação em grupos de pesquisa, agradeço especialmente a Professora Dra. Nilcimelly Rodrigues Donato por todo conhecimento compartilhado, como também a toda equipe com quem trabalhei diretamente por quase dois anos, Elisiane Beatriz, Jaielison Yandro e Mayara Gabrielle.

Ao Grupo de Pesquisa em Ciência e Tecnologia de Alimentos (GPCTA) na pessoa da Professora Dra. Vanessa Bordin Viera, obrigada por contribuir tanto e proporcionar experiências incríveis durante minha passagem pelo grupo.

Agradeço, ao Núcleo de Pesquisa e Extensão em Nutrição e Saúde Coletiva (Núcleo PENSO) onde tive a oportunidade de vivenciar uma das mais importantes fases da minha vida

acadêmica, a extensão, que sem dúvida foi o grande divisor de águas da minha vida acadêmica. Evoluí não só por aprender a contribuir enquanto nutricionista, e sim por aprender a contribuir com vidas, tocar almas e colaborar para um mundo melhor. Agradeço também a minha equipe Raymme Araújo, Luan Costa, Vilhena Lacerda, Ana Alice, Lucas Luan, Cícero Romero e Oziane Souza por tornarem essa experiência ainda mais prazerosa e cheia de amor.

Agradeço de todo coração a coordenadora que se tornou amiga e acima de tudo mãe de coração, Professora Vanille Pessoa, por somar tanto em minha vida, foram tantos momentos compartilhados que palavra nenhuma estaria a altura para expressar tamanho respeito, admiração e amor por você, obrigada por me ensinar mais do que apenas disciplinas ou me orientar ao longo do projeto, obrigada por me fazer amar ainda mais a nutrição e me ensinar lições que livro nenhum seria capaz de transmitir e que levarei pra toda vida.

Ao grupo de pesquisa Biotecnologia Aplicada a Saúde e Educação (BASE) por tornarem possível a realização deste trabalho, pensava eu que já tinha vivido tudo que a Universidade tem a oferecer quando cheguei até vocês, onde também pude vivenciar a pesquisa através do programa institucional voluntário de iniciação científica (PIVIC). Agradeço imensamente pela oportunidade, paciência e todo conhecimento compartilhado ao longo desses dois anos de convívio, construí com vocês uma verdadeira história de superação de medos e dificuldades em trabalhar com a genética, e fui extremamente feliz em encontrar em vocês apoio, amparo e força para chegar até aqui.

Impossível não agradecer aquela que acreditou e plantou em mim sementes que vingaram e foram essenciais para que meus objetivos fossem alcançados, todo meu respeito, admiração e gratidão a quem se tornou uma verdadeira irmã, Maria Medeiros, obrigada por se fazer presente em todas as fases da minha graduação e por ter sido tão essencial na construção deste trabalho, obrigada por toda força, paciência e principalmente todo incentivo, pois se cheguei ao final deste trabalho foi porque suas palavras me encorajaram e me tornaram forte nos momentos de dificuldades onde tantas vezes pensei não conseguir. A Amanda Canzenza toda minha gratidão pelo convívio e pelo laço de amizade fortalecido ao longo da minha vivência na BASE, sem dúvidas sua amizade foi um dos maiores presentes de toda essa experiência, obrigada por me acolher, por toda paciência e por estar ao meu lado em todos os momentos que precisei, sua amizade é luz em minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos, por não medir esforços para tornar possível a realização deste trabalho, com quem aprendi que o valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem, nestes dois anos de trabalho vivi o inesquecível e o inexplicável ao quebrar barreiras e vencer todos os medos e

incertezas que tinha com a genética e as infinitas possibilidades que ela oferece. Obrigada por contribuir tanto para meu crescimento pessoal e profissional ao me fazer sair da zona de conforto, por todas as exigências, críticas e “puxões de orelha” que foram essenciais nesse processo. Agradeço ainda mais pela paciência e dedicação que teve comigo todo esse tempo, por acreditar e incentivar que poderia ser sempre melhor, por literalmente “comprar” a ideia que chegou até você e não descansar enquanto não ver tudo isso sair do papel e principalmente por fazer com que eu me apaixonasse cada dia mais por tudo que conquistamos. O mundo precisa de mais pessoas e profissionais como você, desejarei sempre as melhores coisas que a vida tem a oferecer a você, gratidão por tudo e por tanto!

A cidade de Cuité, que me acolheu, lugar que aprendi a amar, admirar, respeitar e hoje chamo de lar, onde vivi momentos que ficaram pra sempre guardados em minha memória e em meu coração. Também agradeço aos filhos desta terra, que foram verdadeiros presentes de Deus em minha vida, Fábio Coelho de Araújo (Fabinho) e Vital Moura, obrigada por cuidarem de mim como filha, por todo cuidado e carinho que tiveram comigo, por tornarem a casa de vocês a minha também, jamais poderei retribuir tudo que fizeram ao longo desses anos, vocês são importantes demais pra mim, toda minha gratidão.

A Universidade Federal de Campina Grande e ao Centro de Educação e Saúde, onde pude concretizar este sonho, aos professores e funcionários que fazem parte desta “casa” que tive a honra de conhecer e conviver. Em mim ficarão apenas lembranças boas de tudo que vivi e construí, e principalmente de tudo que aprendi. Gratidão!

Por fim, agradeço a mim, pois encerro esse ciclo orgulhosa, orgulhosa pelas batalhas que venci, pelas pequenas e grande que continuo travando, orgulhosa por todas as lições que a vida me deu e que eu tive a oportunidade de aprender com cada uma delas. Por evoluir constantemente valorizando a pessoa que tenho batalhado todos os dias para ser, sem perder minha sensibilidade, sem deixar de lado a humildade, sem deixar me abalar pelas adversidades que a vida traz diariamente e principalmente sem deixar de seguir meu coração. Por aprender que sou capaz. O que virá pela frente eu ainda não sei, a certeza que tenho é que o mundo pertence aqueles que acreditam em seus sonhos, e o que ele realmente quer de nós é coragem. Por isso nunca deixarei de lutar.

Gratidão pelo que recebi, gratidão pelo que estou recebendo e gratidão por tudo aquilo que ainda virá! GRATIDÃO!

{Somos feitos de ciclos. Assim como o mundo gira e o dia vira noite e a noite vira dia, estamos em constante mudança. Somos marés, somos luas. Fases boas e bonitas, fases tristes e complicadas – Esteja preparado para tudo.}

Escritor Diego Vinicius

LEITE, A. G. R. **Genética da Intolerância a frutose e a Construção de Primers Específicos para Genes da Enzima Aldolase (ALDOB)**. 2020. 55 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2020.

RESUMO

A frutose é mais conhecida por erros inatos associados ao seu metabolismo que podem ter consequências clínicas importantes. Assim, existem algumas patologias associadas ao consumo deste carboidrato, uma delas é a intolerância hereditária a frutose ou HFI, uma patologia hereditária rara, um distúrbio autossômico recessivo causado pela ausência ou deficiência da enzima aldolase B em tecidos. Sendo assim a frutose ingerida é incapaz de ser metabolizada nestes tecidos, causando diversos sintomas e quadros clínicos potencialmente fatais caso não sejam tratados. Neste sentido, a aquisição de informações mais detalhadas sobre os processos envolvidos com o metabolismo da aldolase podem contribuir para o desenvolvimento de tecnologias capazes de suprir uma demanda crescente em entender pontualmente cada caso, é essencial o esclarecimento dos mecanismos que expliquem as influências dos genes no desenvolvimento de determinados acometimentos, dentre eles as intolerâncias. Dito isto, o presente estudo tem como objetivo: Analisar a genética da intolerância a frutose e construir primers específicos para genes da família aldolase (ALDOB) importantes nesse processo. A metodologia aplicada neste trabalho foi narrativa e com desenvolvimento de potencial biotecnológico e explicativo, bem como de revisão bibliográfica como ferramenta para a compreensão dos efeitos dos genes e do ambiente no processo de intolerância a frutose, mais precisamente sobre o processo de intolerância, além de aprofundar de forma qualitativa os conhecimentos envolvendo as potencialidades sobre esta problemática. Os resultados demonstraram que o conhecimento dos nutricionistas sobre certas desordens de origem nutricional ainda é escasso devido à enorme gama de possíveis desordens existentes. Desta forma nota-se que, é importante que haja um olhar clínico profundo durante a anamnese e o entendimento dos diferentes fatores que estão por trás de certos distúrbios tais como as intolerâncias. Além disso, viu-se que existem três genes para aldolase encontrados em humanos responsáveis pelas vias bioquímicas de degradação da frutose e manose descritos em bancos de dados, são eles: (ALDOA), (ALDOB), (ALDOC). Várias são as implicações bioenergéticas influenciadas por estes genes. Estes expressam-se de forma diferente, onde qualquer alteração na via de metabolização causa distúrbios, entre eles a intolerância a frutose. Em conclusão, viu-se que os dados obtidos nesse trabalho são promissores para estudos *in vitro*, além de ser essencial para construção de 10 sets de primers específicos para esse gene, onde 6 apresentaram potencial uso.

Palavras-chaves: frutose-1,6-bifosfato. Nutrigenética. Bioinformática

LEITE, A. G. R. **Genética da Intolerância a frutose e a Construção de Primers Específicos para Genes da Enzima Aldolase (ALDOB)**. 2020. 55 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2020.

ABSTRACT

Fructose is best known for innate errors associated with its metabolism that can have important clinical consequences. Thus, there are some pathologies associated with the consumption of this carbohydrate, one of which is hereditary fructose intolerance or HFI, a hereditary pathology, an autosomal recessive silencing disorder due to the absence or deficiency of the enzyme aldolase B in tissues. Thus, the induced fructose is unable to be metabolized based on tissues, causing several potentially fatal symptoms and clinical conditions if they are not treated. In this sense, the acquisition of more information providing about the processes involved with the metabolism of aldolase can contribute to the development of appropriate Technologies to meet a growing demand in a timely manner in each case, its affections, among intolerances. That said, the present study aims to: analyze the genetics of fructose intolerance and build specific primers for genes of the aldolase Family (ALDOB) important in this process. The methodology applied in this work was narrative and with the development of biotechnological and explanatory potential, as well as a bibliographic review as a tool for understanding the effects of genes and environment in the fructose intolerance, more specifically on the intolerance process, in addition to deepening qualitatively the knowledge involving the potentialities on this issue. The results showed that the knowledge of nutritionists about certain disorders of nutritional origin is still scarce due to the huge range of possible disorders that exist. Thus, it is noted that it is important to have a deep clinical look during anamnesis and an understanding of the different factors that are behind certain disorders such as intolerances. In addition, it was seen that there are three genes for aldolase found in humans responsible for the biochemical pathways of degradation of fructose and mannose borrowed from databases, they are: (ALDOA), (ALDOB), (ALDOC). Several are as bioenergetic statements influenced by these genes. These are expressed differently where any change in the metabolism pathway causes disorders, including fructose intolerance. In conclusion, it was seen that the data obtained in this work are promising for in vitro studies, in addition to being essential for the construction of 10 sets of specific primers for this gene, where 6 are potential uses.

Keywords: Fructose-1,6-bisphosphate. Nutrigenetics. Bioinformatics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Filogenia e Similaridade entre as Aldolases A em Diferentes Espécies.....	43
Figura 2 – Filogenia e Similaridade entre as Aldolases B em Diferentes Espécies.....	44
Figura 3 – Filogenia e Similaridade entre as Aldolases C em Diferentes Espécies.....	45
Figura 4 – Inter-relações Metabólicas entre o Gene ALDOB Central em Vermelho e demais Vias.....	46
Figura 5 – Legenda dos Tipos de Inter-relações Anotadas e Funções Previstas das Interações com o Gene ALDOB.....	47
Figura 6 – Primers ALDOA	48
Figura 7 – Primers ALDOB.....	49
Figura 8 – Primers ALDOC.....	49

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Análises das Expressões de Aldolase A em Diferentes Tecidos do Corpo Humano.....	36
Gráfico 2 – Análises das Expressões de Aldolase B em Diferentes Tecidos do Corpo Humano.....	37
Gráfico 3 – Análises das Expressões de Aldolase C em Diferentes Tecidos do Corpo Humano apresentando maior prevalência no cérebro com 270.017 RPKM.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Descrição do Gene ALDOB.....	38
Tabela 2 –	Variantes Patogênicas Descritas para ALDOB na população Europeia.....	38
Tabela 3 –	Prevalência e Probabilidade da Intolerância a Frutose em Países Europeus.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALDO	Aldolase
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
APLV	Alergia a Proteína do Leite de Vaca
ASO	Análise de Hibridação de Oligonucleotídeo do Alelo
BASE	Biotecnologia Aplicada a Saúde e Educação
CES	Centro de Educação e Saúde
CFN	Conselho Federal de Nutricionistas
DCNT	Doenças Crônicas não Transmissíveis
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
HFI	Intolerância Hereditária a Frutose
HGMD	Banco de Dados de Mutação de Gene Humano
IGNC	Intolerância ao Glúten não Celíaca
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande

LISTA DE SÍMBOLOS

cm	Centímetros
g	Gramas
>	Maior que
<	Menor que
µm	Micrômetros
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	20
2.1 OBJETIVO GERAL	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3 REFERÊNCIAL TEÓRICO	21
3.1 ESTRUTURA, IMPORTÂNCIA E FUNÇÃO GERAL DOS CARBOIDRATOS	21
3.2 METABOLISMO DOS CARBOIDRATOS	22
3.3 ALERGIAS E INTOLERÂNCIAS ALIMENTARES	23
3.4 FRUTOSE E SUA INTOLERÂNCIA	24
3.5 GENÉTICA ENVOLVIDA NO PROCESSO DE INTOLERÂNCIA	25
3.6 GENES ENVOLVIDOS COM O METABOLISMO DA FRUTOSE	26
3.7 TÉCNICAS E TESTES GENÉTICOS PARA INTOLERÂNCIA A FRUTOSE	27
3.8 NUTRIGENÔMICA E NUTRIGENÉTICA COMO FERRAMENTA CLÍNICA	28
4 MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 TIPO DE ESTUDO	30
4.2 LOCAL DE EXECUÇÃO	30
4.3 ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS ENVOLVIDAS COM A INTOLERÂNCIA A FRUTOSE	31
4.4 VIABILIDADE	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
REFERÊNCIAS	51

1 INTRODUÇÃO

A frutose é um carboidrato simples e de baixo custo, presente em diversos alimentos *in natura*, também é utilizado pela indústria alimentícia na produção de vários produtos como sucos, doces, produtos adoçados e embutidos (FEDEWA; RAO, 2014). Entretanto, também é conhecida por erros inatos associados ao seu metabolismo que podem ter consequências clínicas importantes inclusive já diagnosticadas essa intolerância hereditária a frutose em pacientes brasileiros (BARREIROS; BOSSOLAN; TRINDADE, 2005; VALADARES *et al.*, 2015). Assim, o aumento na prevalência desses distúrbios está temporalmente correlacionado com um aumento no consumo de frutose. Dessa forma, os efeitos da frutose na saúde humana continuam sendo tema de intensos e controversos debates (HU *et al.*, 2018).

Dentre as patologias associadas ao consumo deste carboidrato, uma delas é a intolerância hereditária a frutose ou HFI, uma patologia hereditária rara, um distúrbio autossômico recessivo causado pela ausência ou deficiência da enzima aldolase B em tecidos como fígado, rins e intestino. Sendo assim, a frutose ingerida é incapaz de ser metabolizada nestes tecidos (DATO *et al.*, 2019). Mecanismos de intolerância a componentes nutricionais já são rotineiramente descritos ao longo tempo. A intolerância pode causar transtornos dos mais variados tipos nos organismos acometidos, desde a deficiência metabólica na expressão de um gene até a sua atuação no contexto geral do organismo afetado. Isto já é um indicativo das bases genéticas hereditárias ligadas a este problema, que muitas vezes afetam a qualidade de vida dos indivíduos, causando assim um impacto inestimável na vida do acometido.

Embora as estimativas da HFI ainda sejam desconhecidas com eficiência, de acordo com Coffe e Tolan (2010) a HFI tem uma incidência de 1:20.000 indivíduos em todo o mundo, os casos mais conhecidos são registrados nos países da Europa em especial na região norte e em alguns países da Ásia. Seus sintomas podem aparecer precocemente em recém-nascidos após a fase de aleitamento, durante o processo de introdução alimentar. Os pacientes com deficiência congênita apresentam câimbras no estômago, inchaço, produção excessiva de gases e diarreia, resultando em perda de peso e desnutrição (KATO *et al.*, 2018).

Aproximadamente 60 diferentes variantes patogênicas de ALDOB foram descritas e estão catalogadas no Banco de Dados de Mutação de Gene Humano (HGMD). Os tipos de variantes patogênicas incluem mutações *missense*, *nonsense*, e de emenda, pequenas inserções e deleções que resultam em um deslocamento do quadro de leitura e várias deleções grandes (BAKER *et al.*, 2015).

Segundo Mehta e Beg (2018) os sintomas não estão associados apenas a problemas gastrointestinais tais como dor e distensão abdominal. Choi *et al*, (2012) dizem que outros sintomas da HFI incluem letargia, convulsões ou disfunção tubular proximal. O que leva a acreditar que a HFI seja uma patologia comum em adultos que ainda não foram diagnosticados, porém tratam os sintomas de modo alternativo. Assim, a característica genética pode passar despercebida, muitas vezes por falta de conhecimento ou de acesso a tecnologias capazes de detectar tal condição genética.

A aquisição de informações mais detalhadas sobre os processos envolvidos com o metabolismo da aldolase podem contribuir para o desenvolvimento de tecnologias capazes de suprir uma demanda crescente da nutrigenômica em entender pontualmente cada caso, desvendando rotas bioquímicas novas influenciadoras do processo. Nesse sentido, é essencial o esclarecimento dos mecanismos que expliquem as influências dos genes no desenvolvimento de determinados acometimentos, dentre eles as intolerâncias, visto que a genética tem mostrado uma importância cada vez mais frequente na vida moderna. Estes estudos permitirão uma maior eficiência na tomada de decisões por parte dos envolvidos procurando sempre a saída mais promissora para cada problema médico individualizado.

Por conseguinte, este trabalho pauta-se na responsabilidade de aprofundar e organizar os conhecimentos atuais sobre a intolerância a frutose, uma vez que o tema é bastante complexo e pouco conhecido onde muitos podem ser os genes envolvidos e acima de tudo, como eles podem atuar no acometimento e evolução da doença que atinge pessoas no Brasil e no mundo. Dessa forma, a pesquisa é justificada pelo interesse geral sobre esta patologia e a expectativa da possibilidade de melhoria da qualidade de vida dos indivíduos, utilizando as ferramentas e informações necessárias acerca do problema. O estudo é relevante para a ciência por possibilitar a compilação de dados a respeito das influências hereditárias sobre a HFI, permitindo aplicações laboratoriais futuras uma vez que é generalista e disperso o conhecimento sobre os genes envolvidos e sua forma de atuar no desenvolvimento da doença. Nesse sentido, é possível ter uma visão mais global a respeito do tema possibilitando um maior conhecimento para a possível realização de diagnósticos e tratamentos mais efetivos atenuando a progressão e grau do problema. Propiciando a construção de patentes após os testes laboratoriais dos primers desenvolvidos neste trabalho para identificação dos genes da via ALDO B.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- ✓ Analisar a genética da intolerância a frutose e construir primers específicos para genes da família aldolase (ALDOB) importantes nesse processo

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Discorrer em como as estratégias corretas podem ser empregadas pelos nutricionistas para o aconselhamento genético básico sobre esta desordem;
- ✓ Identificar quais os genes que podem estar envolvidos com a presença e progressão da intolerância a frutose em humanos;
- ✓ Realizar estudos comparativos de sequências de genes implicados na intolerância a frutose em organismos modelo e comparar estes genes com humanos;
- ✓ Sistematizar quais genes podem estar envolvidos com graus diferentes de intolerância a frutose;
- ✓ Propiciar a aquisição de informações *in silico* construindo primers para estudos futuros tendo como alvo genes de potencial interesse nesse acometimento.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ESTRUTURA, IMPORTÂNCIA E FUNÇÃO GERAL DOS CARBOIDRATOS

Segundo Mahan, Escott-Stump (2012), os carboidratos são macronutrientes originários de vegetais, classificados como uma importante fonte de energia na dieta de humanos e animais, compondo cerca de 50% das calorias totais ingeridas diariamente. Além disso, os carboidratos também atuam como elementos estruturais, protetores da parede celular de bactérias, vegetais e outros microrganismos como fungos. Constituintes do tecido conjuntivo, os carboidratos ainda fazem parte da estrutura dos nucleotídeos e ácidos nucléicos, o que faz deste nutriente componente essencial na manutenção da homeostase corporal.

Para Barretos; Bossolan; Trindade, (2005) o termo “açúcar” deriva do sânscrito “*çarkara*”, que significa grão de areia. O termo em sânscrito deu origem ao grego “*sakkaron*”, ao latim “*saccharum*” e ao árabe “*sukkar*”. A palavra portuguesa açúcar tem origem árabe. Os açúcares são carboidratos e apresentam carbono, hidrogênio e oxigênio na sua composição em uma proporção de 1:2:1. A frutose é considerada um açúcar, sendo um composto sólido, incolor, cristalino e solúvel em água.

Os demais grupos de carboidratos compõem uma ampla variedade existente na natureza, onde são facilmente encontrados e também fazem parte da dieta diária e podem estar presentes em diversos tipos de alimentos. A exemplo, podemos citar a sacarose, lactose e maltose. Além disso, a forma na qual este macronutriente pode ser ofertado e preparado faz dele um nutriente popular e muito consumido. Fantan e Amádio (2015) complementam que, os diferentes tipos de formatos de carboidratos apresentam como principal característica de distinção a praticidade de utilização, finalidade dos mesmos.

Sendo assim, é possível perceber a importância dos carboidratos para manutenção corporal. No entanto, vale ressaltar que o consumo inadequado deste nutriente pode trazer malefícios a longo prazo, tais como doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como obesidade e diabetes, além de alterações e distúrbios em seu metabolismo oriundos de fatores associados as DCNT ou ainda ambientais, como intolerâncias e até mesmo síndrome metabólica, ocasionando sérios riscos a saúde.

3.2 METABOLISMO DOS CARBOIDRATOS

De acordo com Mahan, Escott-Stump (2012), para uma boa manutenção corporal, é necessário uma boa nutrição. Sendo assim, o aporte energético consumido diariamente necessita de nutrientes adequados, os carboidratos são exemplos de fonte energética essencial para obtenção de energia e manutenção corporal. Entretanto para que estes sejam utilizados é preciso que passem por um processo de absorção.

Para absorção dos carboidratos no intestino delgado é necessária sua hidrólise que inicia-se na boca e acontece devido à ação de enzimas que permitem a quebra das moléculas até sua menor forma, os monossacarídeos (FONTAN; AMÁDIO, 2015). Ao passar pela fase de absorção intestinal os monossacarídeos entram na corrente sanguínea, onde são transportados até o fígado, a partir de então ele é convertido em glicose.

Após este processo a glicose pode seguir dois caminhos, continuar armazenada no fígado na forma de glicogênio hepático ou retornar a corrente sanguínea onde poderá ser distribuída e utilizada pelas células, e até mesmo ser captada pelos músculos, onde pode ser armazenada na forma de glicogênio muscular. No entanto Mahan, Escott-Stump (2012) diz que a capacidade de digestão dos carboidratos pode ser modificada pela disponibilidade relativa das ações enzimáticas, além de outros fatores que podem desacelerar o esvaziamento gástrico.

Os diferentes tipos de formatos de carboidratos apresentam como principal característica de distinção a praticidade de utilização, finalidade dos mesmos e tempo de esvaziamento gástrico (FONTAN; AMADIO, 2015). Entretanto, existem os demais processos que dão continuidade as vias que são percorridas pelos carboidratos até que possam ser utilizados como combustível corpóreo. Fontan e Amadio (2015) ainda ressaltam que, as principais vias metabólicas envolvidas no processo de obtenção energética são: glicólise, ciclo do ácido tricarbóxico (CAT) e β -oxidação que oxidam glicose e ácidos graxos, gerando NADH e FADH₂, essenciais no processo de obtenção de energia muscular. Vale lembrar que, embora os aminoácidos também sejam oxidados e participem deste processo, sua contribuição é baixa comparada a dos carboidratos.

Dessa forma, é possível perceber a complexidade envolvida nos processos de absorção de nutrientes em nosso organismo. De fato, existem inúmeras vias bioquímicas diferentes ocorrendo ao mesmo tempo em nosso corpo, em cada uma existe uma cascata enzimática específica, o que chama atenção para alterações que podem ocorrer durante o processo do metabolismo, trazendo consequências negativas para o organismo influenciando diretamente

na homeostase corporal, como alguns distúrbios, síndromes metabólicas, ou até mesmo desencadear uma intolerância.

3.3 ALERGIAS E INTOLERÂNCIAS ALIMENTARES

A alimentação tem papel fundamental para o desenvolvimento humano, sendo esta uma necessidade básica, e um dos fatores que impacta de forma direta a saúde. Responsável pela nutrição corporal, é de grande importância uma escolha adequada dos alimentos para compor o cardápio diário. Quando escuta-se falar em “somos o que comemos” apresentamos o vínculo vivido diariamente com os alimentos que consumimos, representamos também a grande variedade de preparações e alimentos existentes, no entanto nem todos os tipos de alimentos são tolerados podendo causar prejuízos ao funcionamento corporal a partir de reações adversas popularmente conhecidas por alergias ou intolerâncias alimentares.

As alergias e as intolerâncias alimentares são consideradas umas das principais patologias da realidade atual. Estas por sua vez apresentam conceitos diferentes, que são comumente confundidos, segundo a Associação Portuguesa de Alergias e Intolerâncias Alimentares (2013) a alergia apresenta-se como uma reação adversa exagerada do sistema imunológico a um determinado alimento, já o processo de intolerância diz respeito a uma reação adversa do organismo aos alimentos causados por mecanismos não imunitários.

Mais de 20% da população dos países desenvolvidos têm alergias ou intolerâncias alimentares, prevalência que está a aumentar cada vez mais ao longo dos anos (ZOPF *et al.*, 2009). De acordo com Schryver *et al.*, (2014) as alergias e intolerâncias alimentares apresentam um número crescente em países desenvolvidos sem razões definidas, acometendo cerca de 6% de crianças e 3% dos adultos.

Existem atualmente diversos tipos de alergias e intolerâncias muito conhecidas, comuns na população tais como a alergia a proteína do leite de vaca – APLV, intolerância a lactose, intolerância ao glúten não celíaca – IGNC e a intolerância a frutose. Tanto o leite, quanto o trigo são consumidos pela população em diversas partes do mundo em diferentes formas e preparações, esta por sua vez pode estar sujeita ou não ao acometimento destas patologias e as diversas manifestações imunológicas causadas por estes alimentos.

Por isto é importante que estes dois alimentos e os seus constituintes sejam mencionados nos rótulos para que o consumidor, conhecendo as suas “limitações”, tenha o direito de fazer a sua escolha quanto ao alimento que irá consumir (BRANQUINHO, 2016).

Entretanto, é preciso atentar-se a demais tipos de intolerâncias e alergias que podem surgir, apresentando-se a partir de outros fatores, ou outros tipos de alimentos.

3.4 FRUTOSE E SUA INTOLERÂNCIA

A frutose é mais conhecida por erros inatos associados ao seu metabolismo que podem ter consequências clínicas importantes (BARREIROS; BOSSOLAN; TRINDADE, 2005). Dentre elas a intolerância hereditária a frutose ou HFI, que segundo Choi *et al.*, (2012), é uma patologia hereditária rara, um distúrbio autossômico recessivo caracterizado pela deficiência ou ausência da enzima adolase B, responsável por metabolizar a frutose em tecidos como rins, fígado e intestino. Sendo assim a frutose ingerida é incapaz de ser matabolizada nestes tecidos.

Embora a prevalência da HFI ainda seja desconhecida (FEDEWA; RAO, 2014), de acordo com Coffe e Tolan (2010) a HFI afeta cerca de 1 em cada 20.000 indivíduos em todo mundo, os casos já conhecidos são registrados nos países da Europa em especial na região norte e alguns países da Ásia. Os sintomas podem aparecer de forma precoce em recém-nascidos. Após o desmame da amamentação, os pacientes com deficiência congênita apresentaram câibras no estômago, inchaço, produção excessiva de gases e diarreia, resultando em perda de peso e desnutrição (KATO *et al.*, 2018).

Por ser um distúrbio raro, a HFI manifesta quadros clínicos comuns, porém específicos de acordo com tecidos afetados. Entre os sintomas manifestados neste quadro clínico, estão a hipoglicemia, hepatomegalia, náuseas e vômitos entre outros sintomas que podem ser potencialmente fatais caso não sejam diagnosticados e tratados com urgência. Baker *et al.*, (2015) diz que se grandes quantidades de frutose forem ingeridas, a criança pode desenvolver letargia, convulsões ou coma progressivo. O HFI não tratado pode resultar em insuficiência renal e hepática. Se identificadas e tratadas antes que ocorram lesões permanentes em órgãos, os indivíduos com HFI podem experimentar uma qualidade de vida e expectativa de vida normais. O que leva a acreditar que a HFI seja uma patologia comum em adultos que ainda não foram diagnosticados, porém tratam os sintomas de modo alternativo.

Quanto o diagnóstico de HFI Coffe e Tolan (2010) destacam a da anamnese detalhada, especialmente para o hábito alimentar, além da restrição total de alimentos ricos em frutose na dieta diária. Contudo, métodos para diagnóstico clínico também devem ser utilizados, tais como ensaios bioquímicos, testes de tolerância a frutose intravenosa, dentre outros.

Dito isto, a maior oportunidade da nutrição e seu desafio mais difícil serão estabelecer essas relações básicas e aplicá-las para melhorar a saúde de todos os indivíduos, em todas as idades, com o objetivo mais óbvio de prevenir ativamente a doença (ALEMÃO *et al.*, 2011).

3.5 GENÉTICA ENVOLVIDA NO PROCESSO DE INTOLERÂNCIA

O acometimento de doenças causadas por fatores genéticos chamam atenção por estudiosos de todo o mundo. Atualmente sabe-se que a nutrigenômica vem se fortalecendo, buscando aprimorar os conhecimentos sobre tantas patologias oriundas dessas alterações genéticas, proporcionando a partir dos resultados obtidos uma maior qualidade de vida para a população acometida.

Segundo Braga (2016) alguns indivíduos podem apresentar uma determinada intolerância por dois fatores, hereditário causado por uma deficiência em um carreador enzimático, ou de causa secundária caracterizada por um quadro de má absorção. Todavia, as intolerâncias de origem hereditária necessitam de um estudo complexo para que seja possível identificar de forma precisa o que ocasionou seu aparecimento e como a alteração encontrada pode influenciar em complicações secundárias.

Os casos de intolerância estão bem relacionados aos alimentos seja por um nutriente isolado ou um composto químico presente nele a exemplo das mais comuns, cita-se a intolerância a lactose e glúten, relatadas em todo mundo e que em geral pode-se manifestar precocemente ainda na primeira infância ou de forma tardia na adolescência e fase adulta. Segundo Savage e Johns (2015) estudos realizados com crianças de um ano de idade diagnosticadas com alergia ou intolerância alimentar, demonstram que, quando comparadas as crianças que não tinham familiares com alergias ou intolerâncias o risco aumenta em 40% caso haja um familiar direto com qualquer tipo de patologia deste tipo e cerca de 80% se houver mais de dois familiares.

Mutações em regiões não codificadoras de um gene podem resultar no aparecimento de uma doença. Trechos de DNA que contenham locais conservados, tais como em regiões reguladoras do promotor e junções de processamento alternativo de ligação do fator de transcrição, embora não presentes na proteína final, podem no entanto afetar de forma adversa a transcrição do gene e a biossíntese de proteínas (COFFE E TOLAN, 2010).

Sendo assim, fica claro que a genética tem influência no aparecimento dos casos de intolerância independente de qual seja o tipo, entretanto é preciso lembrar que cada indivíduo trás consigo características únicas e que a manifestação de uma determinada doença acontece

de forma particular em cada um, é o que se entende como característica multifatorial com expressividade variável. Diante disto, vale ressaltar que é necessário em todo caso a busca detalhada dos genes causadores destas patologias, bem como a influência de sua alteração no aparecimento de outras doenças ou complicações secundárias originadas de sua manifestação.

3.6 GENES ENVOLVIDOS COM O METABOLISMO DA FRUTOSE

Segundo Alemão *et al.*, (2011) os seres humanos são diferentes em suas necessidades e respostas aos vários componentes de uma dieta, e identificar quais dessas diferenças se devem a variações hereditárias de sequências genéticas é uma área-chave no auxílio do tratamento de doenças, tais como intolerâncias e demais distúrbios metabólicos. Atualmente painéis genéticos contribuem sobremaneira para o entendimento dos problemas metabólicos e suas desordens. Algumas empresas de prospecção genética possuem análises direcionadas para a identificação dessas peculiaridades gênicas em cada indivíduo, buscando por alterações que possam explicar os resultados fenotípicos deletérios promovidos por esses genes. Alguns desses genes ligados as vias bioquímicas da frutose são: Fructose intolerance, gene ALDOB; Fructose uptake deficiency, gene SLC2A5 related SLC2A5; Fructose-1,6-bisphosphatase deficiency, gene FBP1.

A frutose-1,6-bisfosfato aldolase (EC 4.1.2.13) é uma enzima glicolítica tetramérica que catalisa a conversão reversível de frutose-1,6-bisfosfato em gliceraldeído 3-fosfato e di-hidroxiacetona fosfato. Os vertebrados possuem 3 isoenzimas de aldolase que se distinguem pelas suas propriedades eletroforéticas e catalíticas. As diferenças indicam que as aldolases A, B e C são proteínas distintas, os produtos de uma família de genes de "manutenção" relacionados que exibem expressão regulada pelo desenvolvimento das diferentes isoenzimas. O embrião em desenvolvimento produz aldolase A, que é produzida em quantidades ainda maiores no músculo adulto, onde pode chegar a 5% da proteína celular total. No fígado, rim e intestino de adultos, a expressão da aldolase A é reprimida e a aldolase B é produzida. No cérebro e outro tecido nervoso, aldolase A e C são expressas igualmente. Existe um alto grau de homologia entre aldolase A e C. Defeitos no ALDOB causam intolerância hereditária à frutose (<https://omim.org/entry/612724>).

De acordo com Zhang *et al.*, (2019), as aldolases funcionam como um sistema de vigilância, detectando uma queda na disponibilidade de glicose antes que qualquer queda no status de energia celular ocorra ativando assim as vias de metabolização, desta forma são consideradas fundamentais para que seja possível a metabolização da glicose.

Aproximadamente 60 diferentes variantes patogênicas de ALDOB foram descritas e estão catalogadas no Banco de Dados de Mutação de Gene Humano (HGMD). Os tipos de variantes patogênicas incluem variantes de sentido incorreto, sem sentido e de emenda, pequenas inserções e deleções que resultam em um deslocamento do quadro de leitura e várias deleções grandes (BAKER *et al.*, 2015). De acordo com Morales-Alvarez *et al.*, (2019) as três mutações mais comuns ocorrem nos éxons 5 e 9 e, são geralmente incluídas no estudo diagnóstico de pacientes com suspeita de HFI.

Segundo Choi *et al.*, (2012) mutações de mudança de quadro de leitura conduzem a proteínas truncadas prematuras, e deverão resultar na deterioração funcional da proteína mutante. Valadares *et al.*, (2015) diz que essas mutações são responsáveis por cerca de 68% dos casos de HFI. Contudo, Choi *et al.*, (2012) diz que a relação entre o genótipo e os sintomas da HFI são incertos.

Segundo estudo realizado por Valadares *et al.*, (2015) não há dados que notifiquem casos de HFI no Brasil, contudo, foram realizados testes genéticos em pacientes brasileiros não diagnosticados com HFI que apresentaram sintomas semelhantes aos apresentados por esta patologia. Afim de comparar as alterações gênicas presentes na HFI que resultam na deficiência ou ausência da aldolase B, no sentido de associá-la as demais doenças provenientes desta deficiência metabólica.

Diante disso, nota-se que as evidências mostradas na literatura reforçam a influência da aldolase B como causador da HFI. Contudo, é percebida a necessidade de testes e estratégias de diagnósticos precisos que possam auxiliar nestes achados, que podem ser fundamentais para um prognóstico positivo aos indivíduos acometidos, bem como trazer resultados positivos em pesquisas que buscam esclarecer a influência destes genes nos distúrbios metabólicos.

3.7 TÉCNICAS E TESTES GENÉTICOS PARA INTOLERÂNCIA A FRUTOSE

Não existem diretrizes formais de diagnóstico para intolerância à frutose hereditária (BAKER *et al.*, 2015). Entretanto, como toda patologia, a intolerância hereditária a frutose apresenta meios de ser diagnosticada, no entanto são pouco comuns. A princípio nota-se que os sinais manifestados pelo paciente levam a uma infinidade de doenças, tendo em vista os sintomas comuns de hipoglicemia, náuseas, vômitos ou hepatomegalia.

Mahan, Escott-Stump (2012) ressalta a importância da atenção dada aos sinais e sintomas do paciente quanto alergias e intolerâncias alimentares, pois não compreender as reações adversas causadas pelos alimentos pode ser fonte de confusão ou mal entendido.

Contudo, Uma anamnese cuidadosa e suspeita clínica aguda são necessárias para detectar HFI em pacientes (MORALES-ALVAREZ *et al.*, 2019).

Entretanto, existem outros métodos de diagnóstico para a HFI, precisos e detalhados, os testes genéticos. Segundo Baker *et al.*, (2015) o diagnóstico de HFI é estabelecido em um probando com distúrbios metabólicos sugestivos e achados clínicos após a exposição dietética à frutose, sacarose ou sorbitol, que demonstrou o seguinte: variantes patogênicas bialélicas em *ALDOB* em testes genéticos moleculares e atividade deficiente de frutose hepática 1-fosfato aldolase (aldolase B) na biópsia hepática. O autor ainda ressalta que devido à sensibilidade relativamente alta do teste genético molecular *ALDOB*, é cada vez mais o teste confirmatório preferido para HFI e pode obviar a necessidade de biópsia hepática. Para Morales-Alvarez *et al.*, (2019) a avaliação molecular e genética representa o melhor teste para estabelecer um diagnóstico definitivo de HFI.

Além dessas, outras opções podem ser preferíveis, menos invasivas e que não causam nenhum desconforto ao paciente. Os métodos menos invasivos a serem preferíveis para o diagnóstico da HFI são os testes realizados a partir do sequenciamento de todo o gene ou uma análise de hibridação de oligonucleotídeo específica do alelo (ASO) ambos necessitam apenas de uma amostra sanguínea para serem realizados. Morales-Alvarez *et al.*, (2019) diz que, particularmente é importante a realização de métodos para diagnósticos de HFI para que haja uma resposta positiva ao tratamento, a fim de evitar que as crianças que não têm a doença sejam submetidas a uma dieta desnecessariamente restritiva. Por estas razões, e também pelo fraco reconhecimento clínico e suspeita desta doença, o diagnóstico de HFI em adultos representa um enorme desafio.

Coffe e Tolan (2010) reforçam que é necessário o conhecimento das mutações da HFI, existem sete mais conhecidas que compõem cerca de 82% dos alelos da HFI conhecidos em todo o mundo, e que mais de 10% dos alelos permanece desconhecidos.

A realização destes testes é de fundamental importância para localização de demais informações sobre a HFI ainda desconhecidas e que podem contribuir de forma positiva para um melhor tratamento, como também para novos meios de diagnósticos.

3.8 NUTRIGENÔMICA E NUTRIGENÉTICA COMO FERRAMENTA CLÍNICA

A dieta tem um mandato muito mais amplo do que simplesmente a terapêutica curativa da doença. A dieta como pedra angular do ambiente geral de um indivíduo tem uma grande influência na saúde no sentido mais amplo, desde a prevenção de doenças até o desempenho, o

prazer e a qualidade de vida geral. Os alimentos serão os portadores desse valor quando a ciência relacionar os vários aspectos da saúde à dieta (ALEMÃO *et al.*, 2011).

Desde o início do século XX, a genética geral se tornou uma promissora área da biologia moderna. Essa ciência conceitua-se pelos estudos da hereditariedade, que qualifica as características gênicas e fenotípicas de indivíduos e que podem ser transmitidas dos pais para os filhos, como, por exemplo, cor dos olhos, cabelo, doenças (GRIFFIHS, 2011).

Dentre tantas áreas estudadas na genética a nutrigenômica vem ganhando destaque no âmbito da nutrição, buscando ofertar conhecimentos a partir dos nutrientes, avaliando a forma de como estes afetam a saúde a partir das alterações presentes nos genes de um determinado indivíduo, auxiliando assim no estabelecimento de condutas nutricionais que melhorem a condição de saúde do paciente. Para Conti (2010) a ciência da nutrição está experimentando esta era, dando origem a nutrigenômica que tem como principal objetivo conhecer o funcionamento e a interação do genoma humano com os nutrientes ingeridos na dieta.

Sendo assim, os profissionais em nutrição podem aplicar os conhecimentos dessa nova ciência na prática clínica. Os estudos científicos da nutrigenômica avançam e devem permanecer na busca por novas descobertas. A aplicação dos novos conhecimentos em nutrigenômica é de extrema relevância para entender mecanismos fisiológicos, no seu tratamento e prevenção, promovendo ainda a qualidade de vida (RODRIGUES *et al.*, 2016). O incentivo a novas pesquisas nesta área é fundamental para identificar componentes presentes nos alimentos capazes de ativar ou desativar genes importantes em doenças como diabetes, hipertensão, incluindo também intolerâncias e as demais patologias dos mais diversos tipos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo narrativo exploratório com potencial biotecnológico com características qualitativas e quantitativas como ferramentas subsidiárias de informações essenciais para atingir os objetivos propostos. Foram utilizadas técnicas padronizadas de compilação de dados genéticos e nutrigenômicos utilizando bancos de dados de informações genéticas disponíveis *on-line*.

A pesquisa literária foi realizada no ano de 2019 e primeiro semestre de 2020, sendo concentrada nas plataformas bibliográficas de pesquisas científicas NCBI, PubMed, e UniProt utilizando os seguintes descritores: “fructose intolerance”, “Genes”, “aldolase B”, traduzindo-os para a compatibilidade da plataforma de pesquisa que apresenta o idioma inglês. A utilização dos descritores, isoladamente ou em conjunto, com operadores booleanos do tipo “AND, OR e NOT” foi empregada para aprimorar as pesquisas garantindo a inclusão dos artigos considerados de referência ou mais atuais sobre a temática proposta.

Os critérios de inclusão estabelecidos foram: artigos com os termos no seu título, artigos que apresentaram estruturas textuais completas disponíveis nas plataformas de pesquisa, publicações que apresentaram dados qualitativos condizentes com os objetivos propostos, além de estudos científicos de referência e prioritários, mas não exclusivos, dos últimos 10 anos. Foram excluídos da pesquisa trabalhos como artigos de opiniões, comunicações breves e cartas ao editor, além daqueles que não atendiam aos critérios de buscas, bem como aqueles que divergiam do objetivo proposto no presente trabalho.

Foram selecionados artigos que possuíam os termos no seu título. As análises iniciais dos conteúdos encontrados se basearam numa leitura detalhada dos artigos, resultando em uma seleção de quais artigos atenderiam a necessidade de solucionar a problemática e sua compreensão. Por fim, as informações pertinentes foram agrupadas de maneira sistematizada para discussão sobre o tema com o uso total de 40 artigos em inglês para compor esse trabalho.

4.2 LOCAL DE EXECUÇÃO

O trabalho foi realizado nas dependências do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande com o grupo de pesquisa BASE (Biotecnologia Aplicada à Saúde e Educação). O grupo de pesquisa e a Universidade, nas dependências do

laboratório de ensino H1, ofereceram toda a infraestrutura intelectual, financeira e computacional de rede necessária para a realização do trabalho.

4.3 ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS ENVOLVIDAS COM A INTOLERÂNCIA A FRUTOSE

Foi construída uma base de dados composta por centenas de sequências dos genes ALDO A (Gene ID: 226; também conhecido como ALDA, GSD12, HEL-S-87p total de 428 sequências nucleotídicas) e ALDO B (Gene ID: 229; também conhecido como ALDB, ALDO2 total de 350 sequências nucleotídicas) e ALDOC (Gene ID: 230 com 450 sequências nucleotídicas) das mais diferentes espécies identificadas para a intolerância a frutose provenientes dos Bancos de Dados GenBank (NCBI – National Center for Biotechnology Information) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) e das vias bioquímicas (KEGG – Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) (<http://www.genome.jp/kegg/>).

Após essas sequências serem alinhadas pelo programa Clustal-Omega (CHOJNACKI *et al.*, 2017) (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) elas foram visualizadas pelo programa MUSCLE (Multiple Sequence Comparison by Log- Expectation), MUSCLE é utilizado para alcançar melhor precisão média e melhor velocidade do que o ClustalW2 ou T-Coffee, dependendo dos parâmetros de execução dos algoritmos escolhidos (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>).

Após analisadas as sequências foram submetidas aos programas para a construção dos primers do NCBI (Primer 3 - Pick Primers) (<http://primer3.ut.ee/>) (YE *et al.*, 2012). Os pares de oligonucleotídeos gerados foram confrontados novamente com os bancos de dados e com programas de análises como o Oligo Analysis Tool da IDT (Integrated DNA Technologies) para confirmação da eficiência e características dos mesmos para os genes de interesse na progressão da intolerância a frutose com a finalidade de estudos futuros, tudo isto para escolher os que melhor se adequariam aos pretensos testes *in vitro*. Os primers desenvolvidos já foram sintetizados e adquiridos, estão apenas aguardando a normalização das atividades pós-pandemia COVID-19 para os testes *in vitro* com uma alta probabilidade de sucesso devido ao ser árduo processo de escolha e testes computacionais.

4.4 VIABILIDADE

Este trabalho está em acordo com a Lei Nº 13.123, de 20 de maio de 2015 que define “patrimônio genético” como “informação de origem genética de espécies vegetais, animais, microbianas ou espécies de outra natureza, incluindo substâncias oriundas do metabolismo destes seres vivos” e “conhecimento tradicional associado” como “informação ou prática de população indígena, comunidade tradicional ou agricultor tradicional sobre as propriedades ou usos diretos ou indiretos associada ao patrimônio genético”.

Este trabalho segue as normas do CGEN - Conselho de Gestão do Patrimônio Genético. Dito isto, a presente pesquisa cumpre todos os requisitos estabelecidos pela referida lei e por ser de prospecção de dados já disponíveis na internet em bancos de dados especializados não requer autorizações prévias tampouco aprovações em comitês de ética em pesquisa seja humana ou animal.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Devido à importância do conhecimento na vida dos profissionais que lidam com a saúde dos seus pacientes, é fundamental que os nutricionistas possuam conhecimentos apropriados, dos mais diferentes tipos de acometimentos que interagem diretamente com a função nutricional que os indivíduos podem apresentar. Neste sentido, a nutrigenética surge como conhecimento essencial, tendo em vista que seu objetivo é compreender como a composição genética de um indivíduo coordena sua resposta à alimentação. A nutrigenética estuda o efeito da variação genética na interação entre dietas e doenças, incorporando a ciência da identificação e caracterização de variantes de genes quando associados a respostas diferenciais aos nutrientes (ORDOVAS; MOOSER, 2004).

Compreender os nutrientes e como seus compostos bioativos modulam o funcionamento do genoma, assim como as suas características influenciam a resposta a alimentação é fundamental na busca contínua da homeostase corporal dos indivíduos afetados por estas interações. Desse modo estes conhecimentos favorecerão o correto diagnóstico por parte de uma equipe médica multidisciplinar, bem como a efetiva tomada de ações com base em investigações genéticas pontuais na tentativa de diminuir os impactos de certas doenças utilizando estratégias especialmente alimentares específicas que podem permitir uma melhor qualidade de vida para os afetados através do tratamento contínuo para os pacientes respeitando as individualidades de cada caso, tornando possíveis alterações adequadas na conduta no decorrer tratamento.

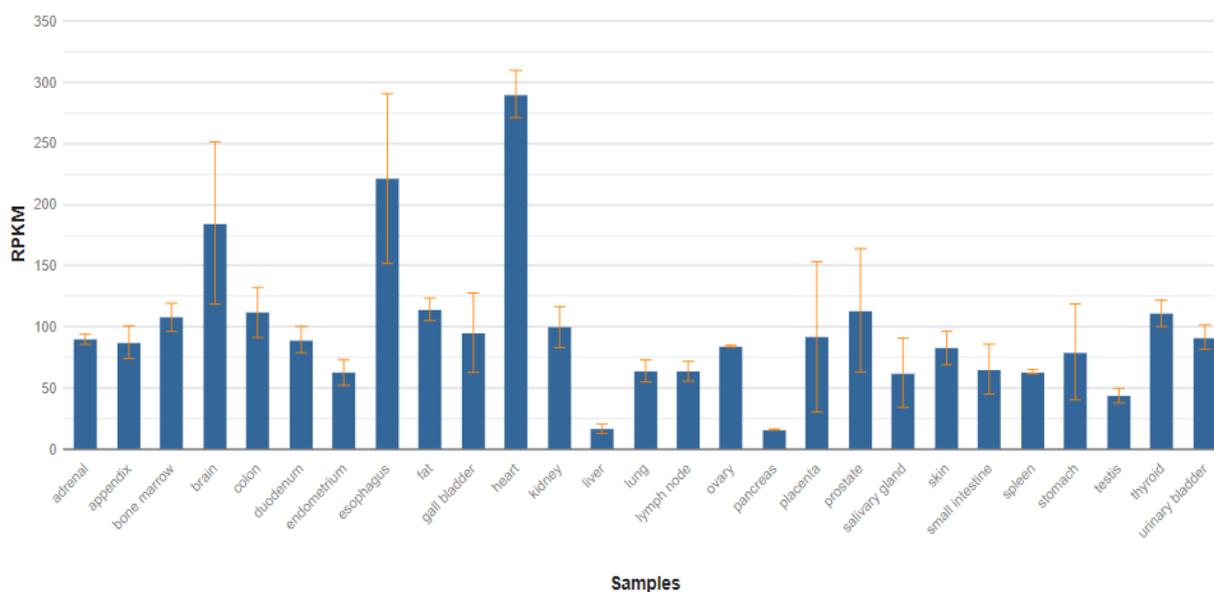
Com relação aos genes envolvidos no processo de intolerância a frutose em humanos, os resultados obtidos mostraram que, a frutose-1,6-bisfosfato aldolase é uma enzima glicolítica tetramérica que catalisa a conversão reversível de frutose-1,6-bifosfato em gliceraldeído 3-fosfato e di-hidroxiacetona fosfato. Com as consultas aos bancos de dados de sequências genômicas e de conhecimento associado ao componente genético da intolerância a frutose, foram constatados um total de 3 genes para aldolase em humanos responsáveis pela via bioquímica de degradação da frutose e descritos como influenciadores desta patologia hereditária, são eles (ALDO-A), (ALDO-B) e (ALDO-C) potencialmente relevantes para este acometimento.

Contudo, a pesquisa realizada mostra que existem divergências entre eles e que apenas um pode ser apontado como principal responsável pelo surgimento da intolerância a frutose. No período embrionário o embrião produz aldolase A em quantidades maiores no músculo adulto equivalendo a 5% da proteína celular total, já no fígado, rim e intestino de adultos, a

expressão da aldolase A é reprimida dando lugar a expressão da aldolase B a partir do 5º ano de vida aproximadamente. No cérebro as aldolases A e C são expressas igualmente. ALDOA e C são muito semelhantes, mas a B é diferente. (KAJITA et al., 2001)

A aldolase A, também denominada ALDOA, GSD12 e HEL- S-87p, é um gene, responsável por codificar um membro da família das proteínas classe I da frutose-bifosfato aldolase. A proteína codificada é uma enzima glicolítica que catalisa a conversão reversível de frutose-1,6-bifosfato em gliceraldeído 3-fosfato e fosfato de di-hidroxiacetona. Três isoenzimas da aldolase (A, B e C), codificadas por três genes diferentes, são expressas diferencialmente durante o desenvolvimento. Mutações nesse gene foram associadas à Doença de Armazenamento de Glicogênio XII, um distúrbio autossômico recessivo associado à anemia hemolítica. A interrupção desse gene também desempenha um papel na progressão de vários tipos de câncer. Pseudogenes relacionados foram identificados nos cromossomos 3 e 10. Estudos indicam que o ALDOA funciona como promotor de tumor, desempenha um papel proeminente na proliferação, migração e invasão de células RCC com alta expressão, e pode promover EMT e ativar a via de sinalização Wnt / β -catenina (HUANG et al., 2018).

Este fato reafirma as indicações em estudos citados acima, de que há uma infinidade de patologias ligadas às aldolases e suas formas de expressão nos diferentes tecidos do corpo humano. Conforme descrito no gráfico 1, é possível observar a presença da ALDOA nos mais diferentes tecidos, em quantidades significativamente diferentes sendo mais expressa no coração com 290.312 RPKM (*Reads per Kilobase per Milion*), , esôfago e cérebro. Isto corrobora a identificação da atuação do gene ALDOA no desenvolvimento cerebral fetal. É notório que as células e tecidos possuem memória celular e uma localização e desenvolvimento já pré-definidas nas suas instruções genéticas, sendo assim qualquer alteração nucleotídica nos genes, por menor que seja, pode comprometer o correto desenvolvimento cerebral e conseqüentemente a saúde vital nutricional do indivíduo para sua plena e correta progressão.

Gráfico 1: Análise das expressões de Aldolase A em tecidos do corpo humano.

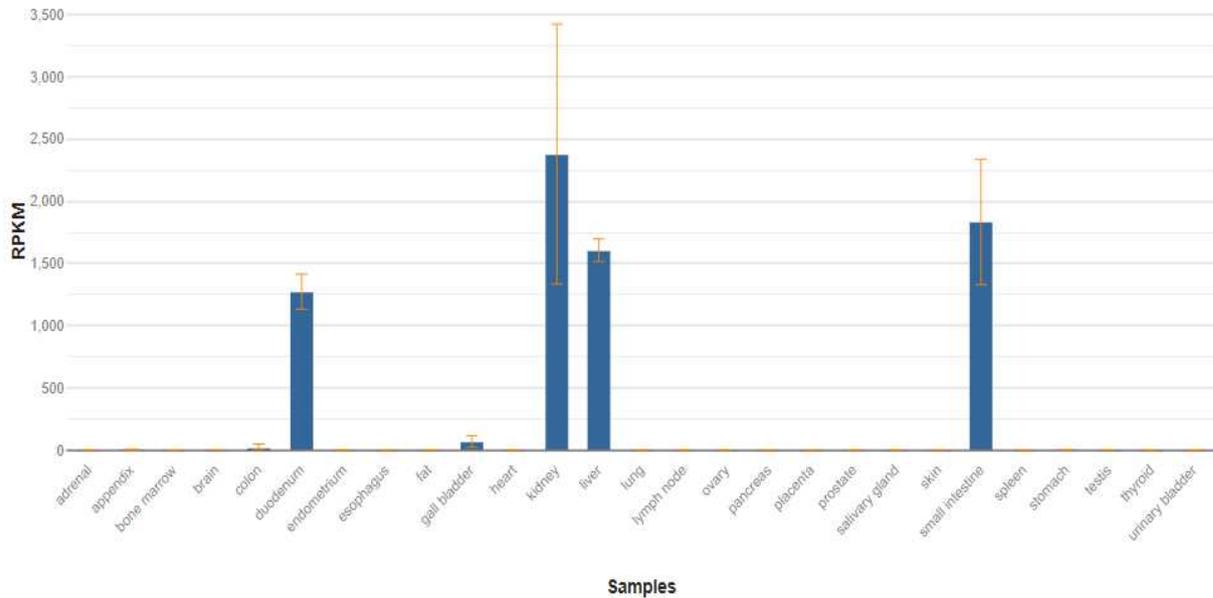
Fonte: Fagerberg *et al.*, 2014.

Assim como a ALDOA a ALDOB apresenta-se como uma enzima glicolítica tetramérica que catalisa a conversão reversível de frutose-1,6-bisfosfato em gliceraldeído 3-fosfato e fosfato de di-hidroxiacetona. Os vertebrados possuem 3 isoenzimas aldolase que se distinguem por suas propriedades eletroforéticas e catalíticas. As diferenças indicam que as aldolases A, B e C são proteínas distintas, os produtos de uma família de genes relacionados à 'limpeza' que exibem expressão regulada pelo desenvolvimento das diferentes isoenzimas (enzimas que diferem na sequência de aminoácidos, mas que catalisam a mesma reação química). O embrião em desenvolvimento produz aldolase A, que é produzida em quantidades ainda maiores no músculo adulto, onde pode atingir 5% da proteína celular total. No fígado, rim e intestino adulto, a expressão de aldolase A é reprimida e a aldolase B é produzida. No cérebro e outro tecido nervoso, as aldolase A e C são expressas de forma igual. Existe um alto grau de homologia entre aldolase A e C. Defeitos no ALDOB causam intolerância hereditária à frutose. Sua maior expressão foi encontrada no fígado com 2378.72 RPKM. Esses valores representam a comparação da sua expressão nesse tecido contrastando com outros 26 tecidos analisados (REFERENCIA – DE ONDE VC RETIROU ESTA INFORMAÇÃO?).

Entretanto, o ALDOB não está ligado apenas a HFI, assim como a aldolase A o ALDOB mostrou-se presente em casos de câncer, especialmente em tecidos onde os tumores apresentavam estado avançado de metástase, sua superexpressão vem sendo relacionada a sobrevivência de pacientes com câncer colorretal (CCR) em diferentes estágios de progressão. De acordo com LI *et al.*, (2017) níveis de expressão das enzimas glicolíticas ALDOB eram

significativamente mais altos nos tecidos do câncer do que nos tecidos normais. A alta expressão de ALDOB foi correlacionada com o estágio avançado do tumor, e a expressão de ALDOB foi um biomarcador de prognóstico independente no CCR.

Gráfico 2: Análise das expressões de Aldolase B nos diferentes tecidos do corpo humano.



Fonte: Fagerberg *et al.*, 2014.

Foi possível identificar que, o *ALDOB* possui nove éxons localizado no cromossomo 9 na posição 9q31.1 e abrange um segmento de DNA de 14,5 kb. O mRNA de *ALDOB* codifica um polipeptídeo de 364 aminoácidos; Sequências de flanqueamento de 5' (até 200 pares de bases) de *ALDOB* de diferentes espécies são altamente conservadas (REFERENCIA??). Em indivíduos normais, a aldolase B converte rapidamente a frutose intravenosa em glicose, resultando em hiperglicemia; a frutose também pode ser convertida em lactato, provocando acidose metabólica. Seus sintomas podem aparecer precocemente em recém-nascidos após a fase de aleitamento, durante o processo de introdução alimentar. Os pacientes com deficiência congênita apresentaram câibras no estômago, inchaço, produção excessiva de gases e diarreia, resultando em perda de peso e desnutrição (KATO *et al.*, 2018). Segundo Mehta e Beg (2018) os sintomas não estão associados apenas a problemas gastrointestinais tais como dor e distensão abdominal.

Tabela 1: Descrição do Gene ALDOB.

Gene	Chromosome Locus	Protein	Locus-Specific Databases	HGMD	ClinVar
ALDOB	9q31.1	Fructose-bisphosphate <u>aldolase B</u>	Hereditary Fructose Intolerance <u>Mutational Database</u> <u>ALDOB database</u>	ALDOB	ALDOB

Fonte: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK333439/>.

Atualmente sabe-se que existem aproximadamente 60 variantes patogênicas do *ALDOB* que foram descritas e são catalogadas no Banco de Dados de Mutação Genética Humana (HGMD). Os tipos de variantes patogênicas incluem variantes sem sentido (*missenses*) e de emenda, pequenas inserções e deleções que resultam em uma mudança no quadro de leitura (*frameshift*) e várias deleções grandes. O espectro e a frequência alélica de vários alelos patogênicos *ALDOB* foram descritos principalmente em populações europeias, e norte-americanas com HFI (Sánchez-Gutiérrez *et al.*, 2002, Santer *et al.*, 2005, Gruchota *et al.*, 2006, Davit-Spraut *et al.*, 2008, Coffe *et al.*, 2010, Ferri *et al.*, 2012).

Tabela 2: Variantes patogênicas para *ALDOB* descritas na população europeia.

Alteração do nucleotídeo de DNA	Alteração prevista de proteína (Alias) ¹	Sequências de referência
c.178C> T	p.Arg60Ter	NM_000035 .3 NP_000026 .2
c.324 + 1G> A	-	
c.360_363delCAAA	p.Asn120LysfsTer32	
c.448G> C	p.Ala150Pro	
c.524C> A	p.Ala175Asp	
c.865delC	p.Leu288PhefsTer10	
C1005C> G	p.Asn335Lys	

Fonte: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK333439/>.

É possível notar, apenas analisando o quadro acima o grau de dificuldade em entender e identificar ao certo a HFI, bem como seu componente genético, visto que existe uma gama relevante de possibilidade de sintomas e manifestações associadas a seu acometimento, que só poderão ser esclarecidos com o aumento dos estudos a respeito. Todavia, estudos de prevalência estão sendo considerados e já trazem dados importantes a respeito, um estudo americano realizado por Lazarin *et al.*, (2013) teve como alvo cinco alelos de *ALDOB* específicos, visando subestimar a prevalência europeia até então mais conhecida, além dele, Schorodi *et al.*, (2015)

criaram estimativas de prevalência de densidade de probabilidade posterior para HFI; com base nos dados disponíveis, a prevalência de HFI foi estimada em 1: 34.461 (intervalo de confiança 95% 1: 16.800 a 1: 94.500).

Tabela 3: Prevalência e probabilidade da Intolerância a Frutose em países Europeus.

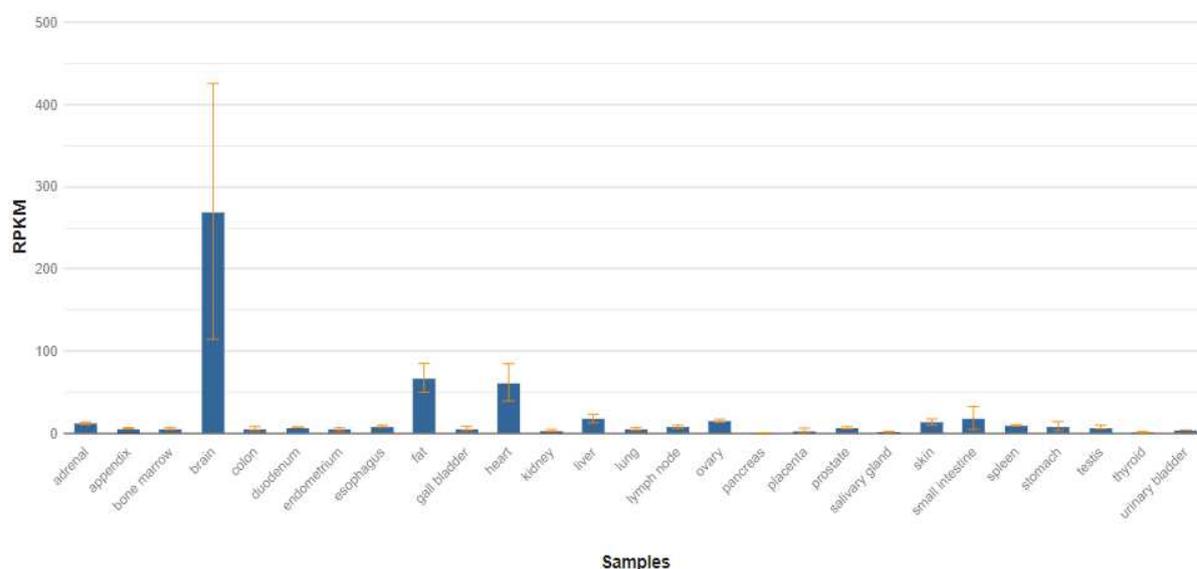
		UK ¹	Alemanha ²	Polônia ³	NOS		
					Todos os ⁴	ME ⁴	AA ⁴
Prevalência extrapolada de HFI ⁵		1: 18.000	1: 26.000	1: 31.000	1: 60.000	1: 38.000	1: 205.000
Variantes Testadas	p.Ala150Pro	X	X	X	X		
	p.Ala175Asp		X		X		
	p.Asn335Lys		X		X		
	De outros				p.Tyr205Ter, p.Asn120LysfsTer32		

Fonte: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK333439/>.

Contemplando as informações contidas na tabela 3, descritas no estudo de Lazarim *et al.*, (2013) viu-se que, em um grande estudo de rastreamento de portadores de distúrbios múltiplos em uma população etnicamente diversa nos Estados Unidos, a frequência geral de portadores para uma variante patogênica ALDOB foi de 1: 122 (~ 0,8%). As frequências de portadoras em pessoas que se identificaram como Oriente Médio (n = 388) e afro-americanas (n = 678) foram 1:97 (~ 1,0%) e 1: 226 (~ 0,4%), respectivamente. Usando o princípio Hardy-Weinberg, esses dados geram estimativas de frequência de doenças de 1: 60.000 para toda a população dos EUA, 1: 38.000 para a população dos EUA identificada como Oriente Médio e 1: 205.000 para a população dos EUA identificada como afro-americana

No que diz respeito ao ALDOC viu-se que, este gene codifica um membro da família de genes classe I de frutose-bifosfato aldolase. Expressa especificamente nas células do hipocampo e Purkinje do cérebro, a proteína codificada é uma enzima glicolítica que catalisa a clivagem reversível de aldol de frutose-1,6-bifosfato e frutose-1-fosfato em di-hidroxiacetona fosfato e di-hidroxiacetona fosfato e gliceraldeído-3-fosfato ou gliceraldeído, respectivamente. Além disso, Huang *et al.*, (2018) relata que o ALDOC é considerado semelhante a expressão da ALDOA, expressando igualmente a ele em alguns tecidos do corpo humano, onde tardiamente no decorrer do desenvolvimento humano sua expressão torna-se diminuta dando lugar a expressão maior do ALDOB. No gráfico 3 é possível observar a localização deste gene nos tecidos.

Gráfico 3: Análise da expressão de Aldolase C nos diferentes tecidos do corpo humano apresentando maior prevalência no cérebro com 270.017 RPKM.



Fonte: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3916642/>

Mesmo diante de uma gama de informações, de acordo com Baker *et al.*, (2015) ainda não existem diretrizes formais e precisas para o tratamento da intolerância hereditária a frutose nem tão pouco métodos de vigilância para acompanhar o avanço de novos casos. Embora o enfoque isoelétrico da transferrina e/ou o monitoramento da aspartilglucosaminidase (elevado no HFI não tratado) tenham sido sugeridos como marcadores do controle da doença no HFI, nenhum desses testes clinicamente disponíveis comprovou definitivamente sua utilidade no diagnóstico ou vigilância (PRONICKA *et al.*, 2007, MICHELAKAKIS *et al.*, 2009, QUINTANA *et al.*, 2009). Nesse ponto reside a importância do estudo com possibilidade de obtenção de testes diagnósticos mais elaborados para análise de mutações nesses genes.

Segundo a pesquisa, isso indica que, o número de pessoas acometidas com HFI em todo mundo pode ser imensurável, além dos fatores de riscos genéticos pouco conhecidos, que desempenham um papel fundamental em todos os tipos de sintomas apresentados, isto se dá, pelo fato de haver uma grande variedade de vias bioquímicas responsáveis pela metabolização não só da frutose, mas de outros tipos de carboidratos, que ainda não foram totalmente estudadas e podem ocasionar em outros problemas metabólicos ou atuarem como agravantes de outras patologias associadas ao retardo na degradação. Wilder-smith, Olesen, Materna e Drewes (2017) reforçam este pensamento e dizem que, recentemente, a atenção concentrou-se em oligo-, di, monossacarídeos e polióis fermentáveis de cadeia curta (FODMAPs) como uma causa potencial dos sintomas característicos de distúrbios gastrointestinais funcionais (FGID).

Especialmente por essas questões o diagnóstico da intolerância a frutose é considerado difícil, por se tratar de um distúrbio raro e pouco conhecido. Além disso, seus sintomas estão presentes em uma infinidade de patologias comuns, que são levadas em consideração quase que imediatamente a sua descrição, deixando o diagnóstico ser realizado de forma indevida, passando despercebido pelos “olhos clínicos” dos profissionais de saúde. Amieva-Blamori *et al.*, (2019) diz que se os testes de rotina são negativos, esses pacientes são frequentemente rotulados como síndrome do intestino irritável. Desta forma os indivíduos começam a ser tratados de forma irregular, tratando muitas vezes o problema de forma medicamentosa uma patologia não existente no organismo, o que pode agravar o estado de saúde desencadeando outras complicações de saúde.

Entretanto, o diagnóstico da HFI pode ser estabelecido, a partir de métodos dos mais variados tipos. Entre eles o teste efetuado em um probando com distúrbios metabólicos sugestivos após exposição de dieta rica em frutose, sacarose ou sorbitol (BEKER *et al.*, 2015). Outros testes genéticos mais abrangentes, quando disponíveis ou acessíveis a população, podem ser realizados, dentre eles encontram-se o sequenciamento de exoma, sequenciamento mitocondrial e sequenciamento de genoma, um painel multigênico que inclui a ALDOB ou genes de interesse também pode ser levado em consideração. Toda via existem testes de tolerância a frutose, sorbitol e sacarose que podem ser aplicados no âmbito hospitalar durante um internamento ou exame de rotina. Contudo os testes mais requisitados pelos profissionais são os de alergia ou intolerância a lactose ou proteína de leite de vaca por se tratarem de casos mais corriqueiros atualmente.

Devido sua alta sensibilidade, os testes genéticos moleculares tornam-se cada vez mais preferíveis no diagnóstico da HFI, excluindo a necessidade de ser fazer uma biopsia hepática, que caracteriza por um procedimento mais invasivo.

Morales-Alvarez *et al.*, (2019) diz que, particularmente é importante a realização de métodos para diagnósticos de HFI para que haja uma resposta positiva ao tratamento, a fim de evitar que as crianças que não têm a doença sejam submetidas a uma dieta desnecessariamente restritiva. Por estas razões, e também pelo fraco reconhecimento clínico e suspeita desta doença, o diagnóstico de HFI em adultos representa um enorme desafio.

Uma vez realizado o diagnóstico o acometido deve passar pela fase de tratamento constante, para que a HFI seja controlada. Durante o processo é necessário que haja acompanhamento da dieta do paciente bem como seus parâmetros bioquímicos que devem ser devidamente interpretados, neste caso o nutricionista é essencial, tendo em vista que até então apenas a restrição total da frutose da dieta tem se mostrado eficaz no combate dos sintomas

agudos da patologia. Todavia, o que parece ser uma solução simples e rápida acaba se tornando difícil pelo fato de existir uma gama imensurável de alimentos ricos em frutose, ou dos demais açúcares simples, a falta de informação e educação nutricional a respeito pode se tornar um agravante da intolerância e influenciar a qualidade de vida do paciente.

Vale ressaltar que a utilização de suplementos e vitaminas devem ser considerados, caso o nutricionista responsável julgue necessário a suplementação, que neste caso são introduzidos aos paciente com tratamento ativo, isto porque a baixa ingestão de frutas e alimentos influenciadores dos sintomas da HFI podem causar distúrbios tais como a hipovitaminoses e deficiências nutricionais pela escassez de consumo dos demais nutrientes contidos nestes alimentos, gerando um impacto negativo no quadro geral de saúde do indivíduo acometido.

Com base nos argumentos citados, foi visto que a intolerância hereditária a frutose é uma patologia herdada de forma autossômica recessiva, que refere-se a uma característica ou distúrbio que requer presença de variantes patogênicas bialélicas ou seja, variantes homozigotas ou heterozigotas compostas em um locus específico, com a finalidade de expressar um fenótipo observável, o que diz respeito especificamente a genes em um dos 22 pares de autossomos ou “cromossomos não sexuais”, isso causa maior dificuldade na percepção do problema. Sendo assim, a HFI torna-se passível de ser herdada ocasionando riscos aos demais membros da família de um indivíduo afetado. De acordo com Magalhães, Burin, Souza, Bitencourt, Sebastião, Silva, Vairo e Schwartz (2019) a HFI é também conhecida na classe dos distúrbios congênitos da glicosilação ou CDG são doenças genéticas que afetam a síntese e o processamento de glicanos a partir de glicoproteínas e glicolipídios, também causadas pela herança autossômica recessiva em sua maior parte, caracterizada por deficiência total ou parcial de proteínas envolvidas na glicosilação de proteínas ou lipídios.

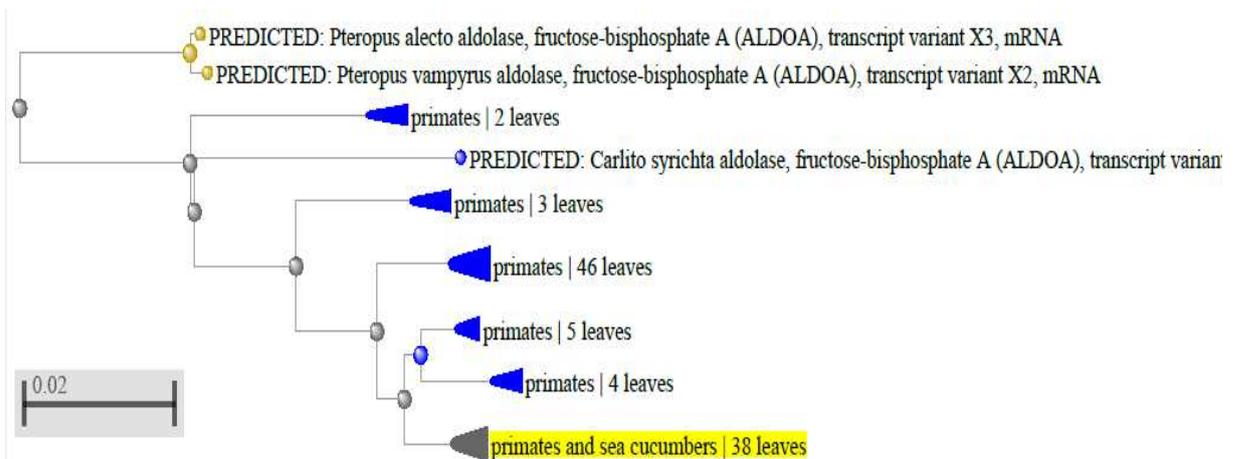
A figura 1 mostra um trecho da comparação filogenética do gene da ALDOA e outros organismos modelos, especialmente os primatas. É possível perceber a presença da aldolase de forma semelhante a humanos. De acordo com os bancos de dados genético, o gene ALDOA é conservado no chimpanzé, macaco *Rhesus*, cachorro, vaca, rato, peixe-zebra, *C. elegans*, arroz e sapo. Viu-se também que, 158 organismos têm ortólogos com o gene humano ALDOA. Isso é a comprovação por resultados da possível utilização desses organismos como modelo para estudos genéticos.

Tais informações chamam atenção e despertam interesse em novas buscas por acometimentos das patologias já citadas estão presentes em outras espécies. Estudos realizados com ratos nos trazem algumas informações a respeito de patologias como câncer e doenças crônicas não transmissíveis tais como obesidade e diabetes. Contudo, nota-se que existem

ligações indiretas no acometimento de outras doenças sob a influência das aldolases. Assim como presente em macacos, cachorros e vacas a aldolase também está presente no meio das bactérias onde tornam-se influentes inclusive em surtos alimentares.

De acordo com London; Chace; Kline, (1975) vários graus de reatividade cruzada foram observados entre as aldolases de certas espécies de *Eubacterium*, *Butyribacterium* e *Propionibacterium* e o soro anti-estreptocócico da aldolase. Também são apresentadas evidências confirmando estudos anteriores de que as aldolases das espécies de *Acholeplasma* reagem com o soro anti- *S. faecalis* aldolase. Em outro estudo realizado por Ziveri *et al.*, (2017) relata que, várias tentativas de interromper os genes da classe II de bifosfato aldolase de frutose de diferentes espécies bacterianas, incluindo *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa* não foram bem-sucedidas, sugerindo que as aldolases da FBP da Classe II eram essenciais para a viabilidade desses organismos. No *M. tuberculosis*, a FBA demonstrou ser de fato essencial.

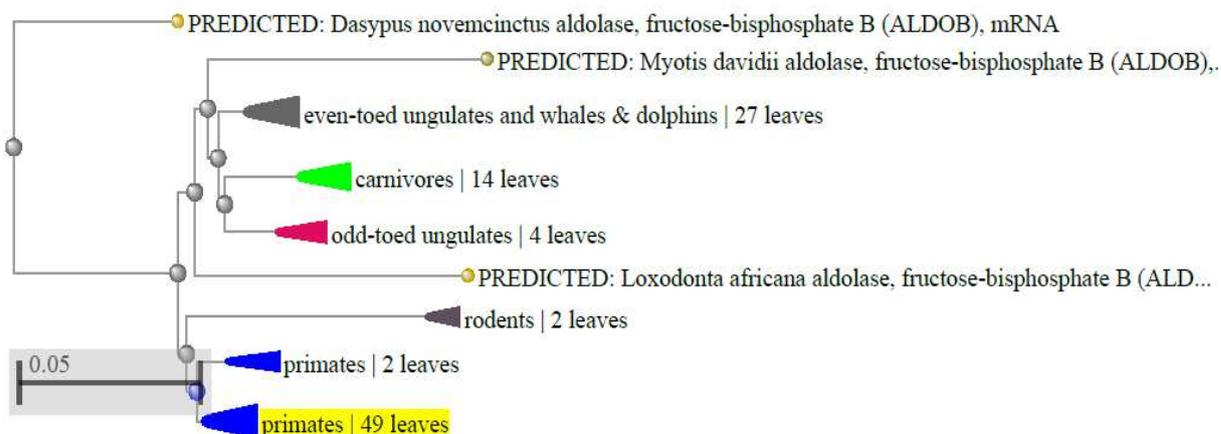
Figura 1. Filogenia de similaridade entre as aldolases A de diferentes espécies.



Fonte: Próprio autor, 2020.

Em continuidade, nota-se a partir da figura 2, as expressões da ALDOB em outros organismos, tais como roedores e carnívoros em geral. Sendo tão abundante em animais quanto nos humanos, estudos mostram as interações da expressão da aldolase em diferentes espécies especialmente a aldolase presente nos músculos.

Figura 2. Filogenia de similaridade entre as aldolases B de diferentes espécies.



Fonte: Próprio autor, 2020.

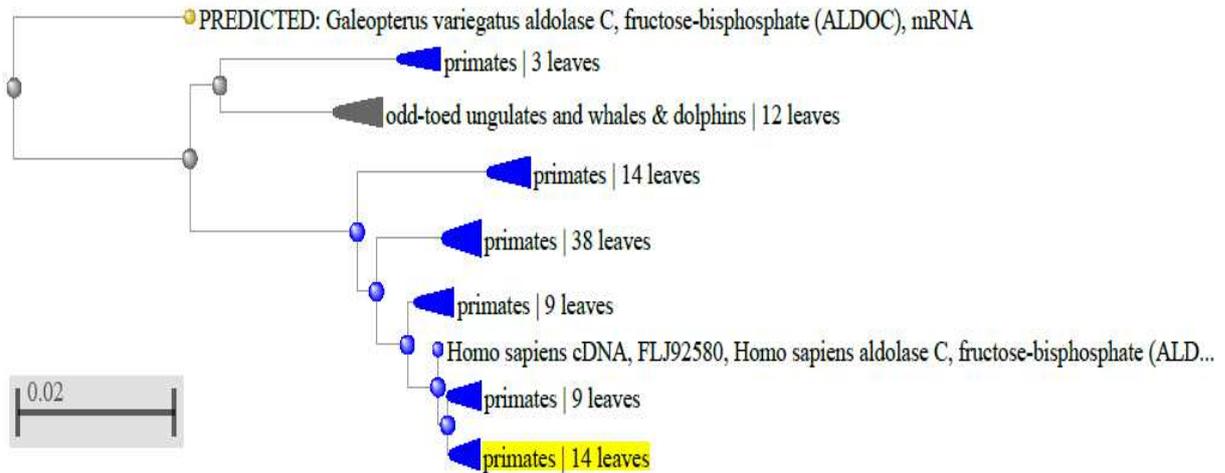
Neste sentido as interações da enzima glicolítica, frutose-1,6-bifosfato aldolase (aldolase), com F-actina podem ser um mecanismo para a colocação de enzimas glicolíticas. O exame dessas interações em diferentes espécies animais testa essa hipótese, observando se os locais de ligação são conservados entre as espécies. As simulações da dinâmica browniana (BD) fornecem descrições dessas interações proteína-proteína com as isoformas musculares dos peixes zebra e da aldolase humana (FORLEMU *et al.*, 2007). O peixe-zebra é um organismo genético modelo bem explorado e pode ser utilizado experimentalmente com o mínimo de conflitos éticos para análises futuras dos genes associados a ALDO B.

Visto isso, também notou-se a presença das aldolases em plantas, tais como o trigo, que nada mais é que um dos alimentos mundialmente conhecidos e consumidos em ao longo de toda história da evolução humana, utilizado em receitas no preparo de alimentos como pães, bolos, massas em geral e eternizado como símbolo de fartura e vida. Estes dados denotam a possibilidade da utilização de organismos genéticos modelo para análises mais profundas da composição e influência desse gene nas populações humanas por homologia com desenvolvimento de primers específicos para as espécies escolhidas.

A partir do exposto dos genes citados acima, a figura 3 traz uma maior expressão de aldolase C em animais aquáticos, especialmente baleias e golfinhos. Sabe-se que a semelhança das expressões da família ALDO são facilmente encontradas especialmente em peixes, estando localizadas mais precisamente nos músculos, tornando-os comparáveis ao que é encontrado em humanos. Essa percepção é essencial para a utilização desses organismos como modelo para estudos comparativos em humanos. Todavia, este resultado nos leva a acreditar que esta

expressão em maior concentração nos músculos pode resultar em uma participação ativa na influência destes genes no processo de degradação energética para estes tecidos.

Figura 3. Filogenia de similaridade entre as aldolases C de diferentes espécies.



Fonte: Próprio autor, 2020.

Mesmo diante de tantos estudos e avanço de novos métodos de pesquisa, nada foi relatado em relação ao acometimento de intolerância a frutose ou outro acometimento influenciado pelas aldolases de forma direta nestes organismos. Entretanto é algo que desperta interesse no meio científico diante de tanta semelhança em um número abundante de espécies na qual elas se expressam. Isto é fator chave para a descoberta por homologia de como o comportamento desse gene pode afetar o metabolismo energético dos indivíduos e assim afetar por completo outros metabolismos e vias diretamente relacionadas com a manutenção da homeostasia e envelhecimento corporal também.

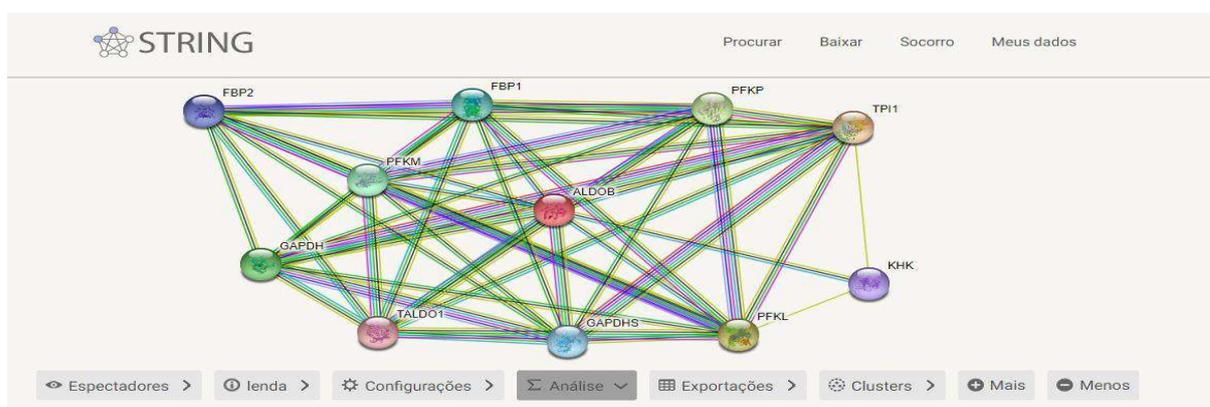
Sabendo que as aldolases são as principais influentes no acometimento dos indivíduos com intolerância hereditária a frutose, e que em maior amplitude a ALDOB é a principal responsável, a partir dos resultados descritos ao longo desta pesquisa, viu-se que os carboidratos de modo geral estão ligados ao surgimento não só de intolerâncias, como de outros distúrbios.

Isso se dá pelo fato de que as enzimas são protagonistas das cascatas bioquímicas na degradação de diversos compostos, em grande parte de suas reações elas apresentam-se de forma direta na metabolização dos alimentos entre eles os carboidratos, que são considerados a maior fonte de energia para os tecidos de todo corpo humano. Desse modo, quaisquer defeitos nestas vias ocasionado por fator genético ou ambiental resulta em um problema de maior dimensão, no caso em questão a intolerância a frutose.

Ao longo do tempo a frutose começou a ser utilizada de forma desenfreada pela indústria de alimentos por ser um carboidrato simples, e de fácil acesso e custo, desde então, uma gama de produtos dos mais variados tipos contém frutose em quantidade significativamente alta, o que nos leva a acreditar que devido ao alto consumo deste carboidrato influenciou o aparecimento de patologias ligada a ele.

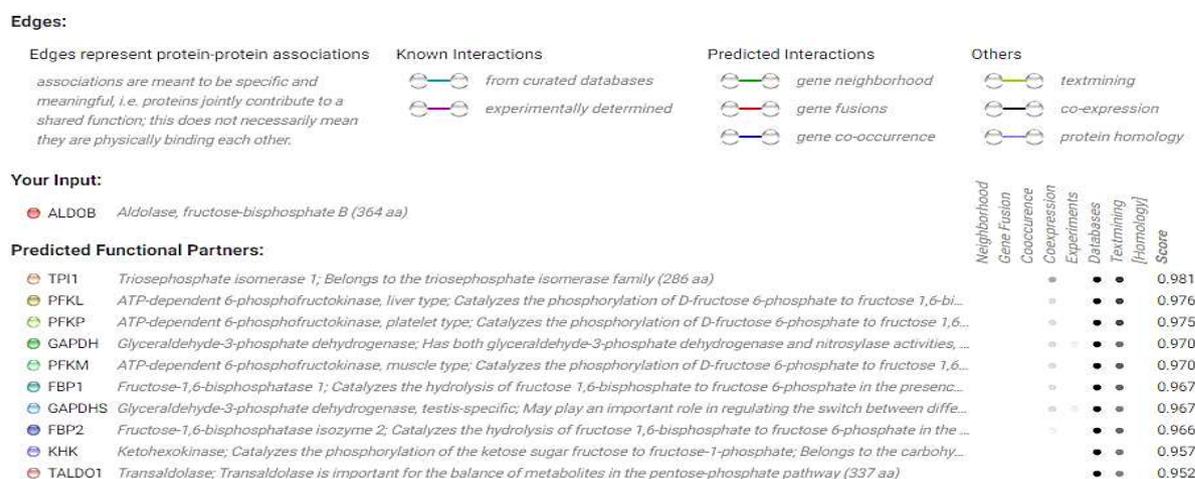
O manejo desse carboidrato associado aos demais compostos da indústria intriga os profissionais de nutrição de modo geral, inclusive pesquisadores de outras áreas, isso porque a degradação destes subprodutos ainda é desconhecida e pode estar facilmente associada ao agravamento ou surgimento de doenças, a longo prazo manifestações genéticas podem surgir como consequência desse uso desenfreado dos carboidratos mais precisamente os de classe “simples” além das comorbidades já conhecidas como diabetes, obesidade e consequentemente hipertensão arterial gerando a síndrome metabólica uma condição de saúde preocupante quando ocorrida no organismo. Partindo dessa ideia, informações do banco de dados genéticos, mostram interações de diversas proteínas com o ALDOB participando de vários processos biológicos e podem estar ligadas a diferentes graus de manifestação da HFI como observado na figura 4.

Figura 4: Inter-relações metabólicas entre o gene ALDO B central em vermelho e demais vias.



Fonte: <https://string-db.org/network/9606.ENSP00000363988>.

Figura 5: Legenda dos tipos de inter-relações anotadas e funções previstas das interações com o gene ALDO B.



Fonte: <https://string-db.org/network/9606.ENSP00000363988>.

A figura 5 mostra um total de 10 complexos metabólicos relacionados com o ALDOB, cada um deles com incontáveis desdobramentos e funções observa-se que estes fazem parte de vias de metabolização de monossacarídeos, como também metabolização de glicose para piruvato, metabolização de hexose, metabolização e catabolização das hexoses e metabolização de glicose. Achados como este, tornam sólidas as hipóteses do possível envolvimento destas interações com a ALDOB em diferentes graus de intolerâncias, visto que todas compõem uma quantidade considerável de vias metabólicas importantes, onde qualquer alteração gera facilmente um distúrbio com um potencial alto de abalar fortemente o corpo humano a partir de seus sintomas e manifestações clínicas principalmente no seu estado nutricional e energético. Diante disto, torna-se cada vez mais necessário profissionais dedicados e atentos aos sintomas apresentados por um afetado, para que esses distúrbios não sejam tratados de forma errada, chegando a conclusão de um diagnóstico impreciso, evidenciando um tratamento ineficiente.

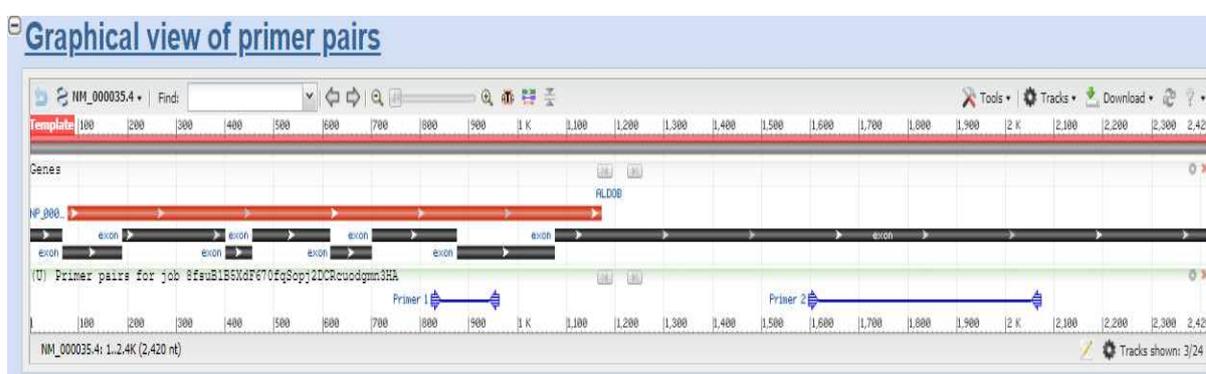
Nesse contexto, é fundamental propiciar a aquisição de informações precisas *in silico*, construindo primers específicos para estudos futuros tendo como alvo genes que trazem potencial interesse no acometimento de intolerância a frutose.

Tendo como base os dados anteriores é possível a construção de primers universais que podem ser inicialmente utilizados em organismos modelo com maior facilidade, para depois extrapolar esses testes em humanos com o intuito de desvendar as diferenças genéticas existentes entre os genes de indivíduos acometidos ou não pela intolerância a frutose, utilizando o gene ALDOB como modelo inicial. Os primers para o gene ALDO A, ALDOB e ALDOC

foram construídos utilizando a ferramenta PickPrimers do NCBI com a ID de sequência LS482415.1, após esse passo, todos os primers foram confrontados com o programa Oligo Analysis Tool para verificação da validade das construções e sua eficácia *in silico* para possível posterior aplicação *in vivo*.

Seguindo a sequência iniciou-se a construção de primers para os 3 genes ALDO ALDOA, ALDO B e ALDO C. Todos os primers foram obtidos com grande potencial para estudos futuros. Nota-se a partir da imagem a localização dos mesmos quanto a posição gênica das séries construídas, contudo suas sequências serão suprimidas devido as possibilidades patentárias futuras. Para os primers ALDO A apenas duas séries de primers mostraram resultados *in silico*, porém estes resultados não foram satisfatórios, figura 6.

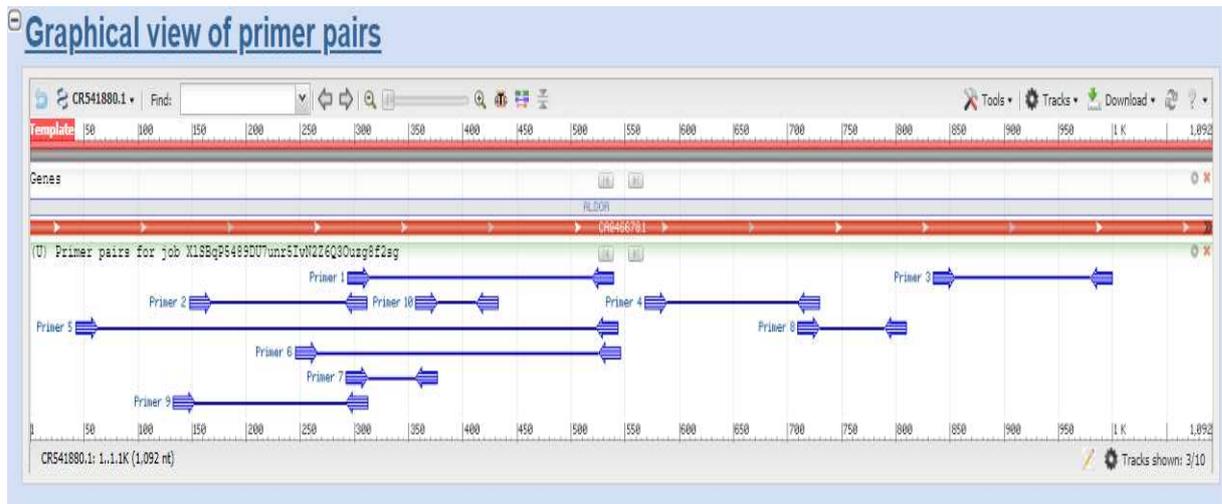
Figura 6: Primers ALDO A.



Fonte: Próprio autor, 2020.

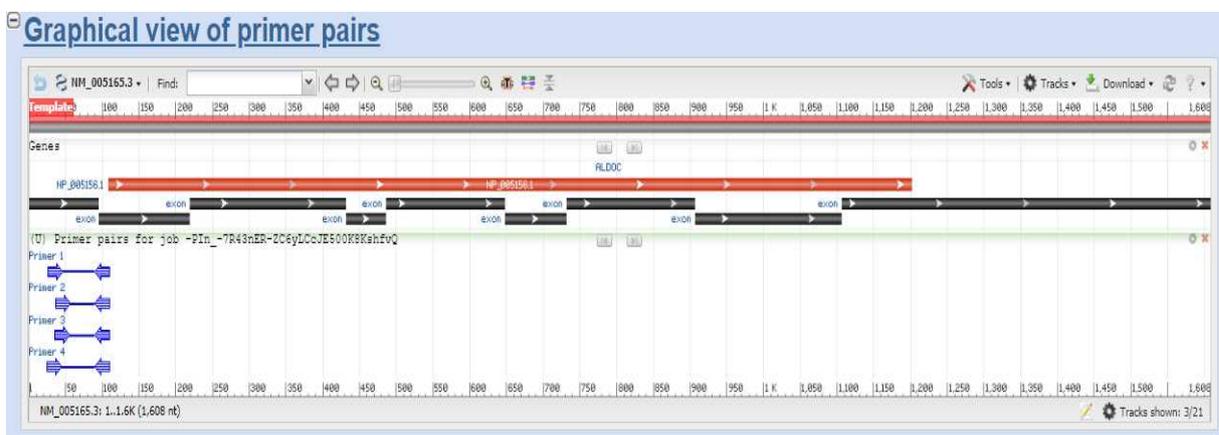
Então concentramos os esforços no gene ALDO B (figura 7) mais reconhecido como influenciador da via de degradação da frutose. Foram então construídas 10 séries de primers com base nas sequências obtidas dos bancos de dados para o gene ALDOB, desses primers, as séries 1, 7, 8, e 10 não passaram nos testes *in silico* para sua construção, favorecendo o aparecimento de dímeros e parâmetros não usuais nas possíveis reações *in vitro* pretendidas.

Por outro lado, as séries de primers 2, 3, 5, 6 e 9 apresentaram estruturas satisfatórias na análise *in silico*. Isto indica que esses primers podem ser utilizados para os mais diversos fins em biologia molecular, amplificando fragmentos do gene ALDOB de humanos e de tantos outros organismos para análises de homologia e procura por mutações relacionadas ao acometimento pela intolerância a frutose. Em breve serão oferecidas condições para iniciar esse tipo de estudo. O par de primers escolhido já foi construído e sintetizado estando disponível para os primeiros testes *in vitro*, contudo devido aos desafios impostos pela COVID-19 os mesmos ainda não foram testados em laboratório, mas em breve serão.

Figura 7: Primers ALDO B.

Fonte: Próprio autor, 2020.

Assim como nos demais, primers para ALDOC foram construídos, em um total de 4 séries, conforme a figura abaixo as séries mostram-se próximas uma da outra, diferentemente da mostrada nas séries de ALDOA que apresentam posições gênicas distintas. No entanto, sua eficiência também não foi confirmada *in silico*.

Figura 8: Primers ALDO C.

Fonte: Próprio autor, 2020.

Segundo Alemão *et al.*, (2011) os seres humanos são diferentes em suas necessidades e respostas aos vários componentes de uma dieta, e identificar quais dessas diferenças se devem a variações hereditárias de sequências genéticas é uma área-chave no auxílio do tratamento de doenças, tais como intolerâncias e demais distúrbios metabólicos. Mais de 20% da população dos países desenvolvidos têm alergias ou intolerâncias alimentares, prevalência que está a aumentar cada vez mais ao longo dos anos (ZOPF *et al.*, 2009). De acordo com Schryver *et*

al., (2014) as alergias e intolerâncias alimentares apresentam um número crescente em países desenvolvidos sem razões definidas, acometendo cerca de 6% de crianças e 3% dos adultos. Levando em consideração de não existem métodos definidos de vigilância e notificação de casos desses casos específicos os números de acometidos podem ser ainda maiores que os descritos acima, tornando possível afirmar que uma boa parcela da população sofre com este problema e não é tratado de forma correta, situações de saúde pública como estas causam sofrimento constante a população.

É nesse contexto que se insere a importância de trabalhos para a comunidade científica e a sociedade em geral na busca por conhecimentos que possam elucidar as diferentes atuações genéticas que favorecem o desenvolvimento da intolerância a frutose. Uma melhor compreensão da biologia e mudanças de expressão gênica que ocorrem dentro do processo de metabolização da frutose causando alterações genéticas pode fornecer novos caminhos para estratégias de intervenção principalmente nutricional.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho ofereceu uma visão bem abrangente e complexa dos estudos sobre a genética molecular da intolerância a frutose, utilizando as ferramentas computacionais disponíveis para análises genéticas por meio da bioinformática.

Foram identificados e sistematizados vários genes potencialmente envolvidos nesse acometimento, contudo o ALDO B é o mais efetivo.

Foram construídas 10 séries de primers específicos para o gene ALDOB levando em consideração sua eficiência *in silico*, são elas as séries 2, 3, 5, 6 e 9.

Para os fatores genéticos relatados associados à HFI listados neste trabalho, alguns podem ser muito preliminares, enquanto outros podem já ter evidências confirmatórias ou contraditórias. Portanto, muitos dos genes ou loci relacionados à Intolerância Hereditária a Frutose precisam ser ainda mais validados. Além disso, os defeitos genéticos exatos e suas consequências funcionais relacionadas que contribuem para a HFI aguardam ainda a descoberta. Apesar disso, o ALDOB e suas variantes podem ser uma possibilidade concreta de influência nesse acometimento. Portanto, em conjunto com estudos funcionais e uma combinação de diferentes tecnologias moleculares seria essencial para melhorar nossa compreensão dos fatores genéticos na intolerância a frutose, levando à melhorias na previsão do início, prevenção e tratamento no futuro, garantindo uma maior qualidade de vida aos indivíduos acometidos.

REFERÊNCIAS

- ALEMÃO, JB.; ZIVKOVIC, AM.; DALLAS, DC.; SMILOWITZ, JT. Nutrigenômica e dietas personalizadas: O que eles querem dizer com alimentos? *Annu Rev Food Sci Technol*. 2011; 2: 97–123. Doi: 10.1146 /annurev.food.102308.124147.
- AMIEVA-BALMORI, M. *et al.* Utilidade diagnóstica dos testes de respiração de carboidratos para intolerância à SIBO, frutose e lactose. *Dig Dis Sci* (2019). <https://doi.org/10.1007/s10620-019-05889-9>.
- BARREIROS, R. C.; BOSSOLAN, G.; TRINDADE, C. E. R. Frutose em humanos: efeitos metabólicos, utilização clínica e erros inatos associados. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 18, n. 3, p. 377-389, 2005.
- BAKER, P. II, AYRES, L., GAUGHAN, S. *et al.* Intolerância Hereditária à Frutose. In: ADAM, MP; ARDINGER, HH.; PAGON, RA, *et al.*, Editores. **GeneReviews®** [Internet]. Seattle (WA): Universidade de Washington, Seattle; 1993-2019. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK333439/>.
- COFFE, E. M; TOLAN, D. R. Mutations in the Promoter Region of the Aldolase B Gene that cause Hereditary Fructose Intolerance. *J Inherit Metab Dis*; 33(6): 715–725. 2010.
- CHOI H. W., LEE Y. J., OH S. H., KIM K. M., RYU J. M., LEE B. H., KIM G. H., YOO H. W. 2012. A Novel frameshift mutation of the ALDOB gene in a Korean girl presenting with recurrent hepatitis diagnosed as hereditary fructose intolerance. *Gut Liver*. 6:126–128.
- CONSELHO FEDERAL DE NUTRICIONISTAS. Código de Ética e de Conduta do Nutricionista; Resolução CFN nº 599, de 25 de fevereiro de 2018. Brasília –DF.
- DAVIT-SPRAUL, ANNE, *et al.* Hereditary fructose intolerance: Frequency and spectrum mutations of the aldolase B gene in a large patients cohort from France—Identification of eight new mutations. *Molecular Genetics And Metabolism*, [s.l.], v. 94, n.4, p.443-447. Elsevier BV. Ago. 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2008.05.003>.
- DI DATO, F., SPADARELLA, S., PUOTI, M. G., CAPRIO, M. G., PAGLIARDINI, S., ZUPPALDI, C., SPAGNUOLO, M. I. Daily Fructose Traces Intake and Liver Injury in Children with Hereditary Fructose Intolerance. *Nutrients*, 11(10), 2397. 2019, doi:10.3390/nu11102397 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6835214/>.
- FEDEWA, A.; RAO, S. C. Dietary Intolerance, Fructan Intolerance and FODMAP's. *Current gastroenterology reports*, 2014.
- FERRIL, CACIOTTI A, CAVICCHI C, RIGOLDI M, PARINI R, CASERTA M, CHIBBARO G, GASPERINI S, PROCOPIO E, DONATI MA, GUERRINI R, MORRONE A. Integration

of PCR-sequencing analysis with multiplex ligation-dependent probe amplification for diagnosis of hereditary fructose intolerance. **JIMD Rep.** 2012;6:31–7.

FORLEMU, N. Y.; WAINGEH, V. F.; OUPOROV, I. V.; LOWE, S. L.; THOMASSON, K. A. Theoretical study of interactions between muscle aldolase and F-actin: Insight into different species. **Biopolymers**, [s.l.], v. 85, n. 1, p.60-71, 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/bip.20611>.

FAGERBERG, L., HALLSTROM, B. M., OKSVOLD, P., KAMPF, C., DJUREINOVIC, D., ODEBERG, J. et al. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. **Molecular & cellular proteomics: MCP**, 13(2), 397–406. 2014, <https://doi.org/10.1074/mcp.M113.035600>

GRUCHOTA J, PRONICKA E, KORNISZEWSKI L, STOLARSKI B, POLLAK A, ROGASZEWSKA M, PŁOSKI R. Aldolase B mutações e prevalência de intolerância hereditária à frutose em uma população polonesa. **Mol Genet Metab.** 2006; 87: 376–8.

HU, Y.; SEMOVA, I.; SUN, X.; KANG, H.; CHAHAR, S.; HOLLENBERG, A. N.; BIDDINGER, S. B. Fructose and glucose can regulate mammalian target of rapamycin complex 1 and lipogenic gene expression via distinct pathways. **The Journal of biological chemistry**, 293(6), 2006–2014.2018, doi:10.1074/jbc.M117.782557.

HUANG, Z.; HUA, Y.; TIAN, Y.; QIN, C.; QIAN, J.; BAO, M.; LIU, Y.; WANG, S.; CAO, Q.; JU, X. High expression of fructose-bisphosphate aldolase A induces progression of renal cell carcinoma. **Oncology Reports**, [s.l.], p.2996-3006, 18 abr. 2018. Spandidos Publications. <http://dx.doi.org/10.3892/or.2018.6378>.

IZQUIERDO-GARCÍA, Elsa; ESCOBAR-RODRÍGUEZ, Ismael; MORENO-VILLARES, José Manuel; IGLESIAS-PEINADO, Irene. Necesidades sociosanitarias en pacientes con intolerância hereditaria a la fructosa en España. **Endocrinología, Diabetes y Nutrición**, [s.l.], v. 67, n. 4, p. 253-262, abr. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.endinu.2019.06.005>.

KATO, T. K. I.; TAKAO, K. Y. HORIKAWA, K. T.; TAKEDA, J. ChREBP-Knockout camundongos mostram intolerância à sacarose e má absorção de frutose. **Nutrientes**. 10 (3): 340. 2018. Doi: 10.3390 / nu10030340.

KAJITA, E. et al. Quantitative expression studies of aldolase A, B and C genes in developing embryos and adult tissues of *Xenopus laevis*. **Mechanisms Of Development**, [s.l.], v. 102, n. 1-2, p.283-287, abr. 2001. **Elsevier BV**. [http://dx.doi.org/10.1016/s0925-4773\(01\)00324-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0925-4773(01)00324-0).

LAZARIM, GA.; HAQUE, IS.; NAZARETH, S.; IORI, K. et al. Uma estimativa empírica das frequências portadoras para mais de 400 variantes mendelianas causais: resultados de uma amostra clínica etnicamente diversa de 23.453 indivíduos. **Genet Med.** 2013; 15: 178–86.

- LI, Qingguo et al. Aldolase B Overexpression is Associated with Poor Prognosis and Promotes Tumor Progression by Epithelial-Mesenchymal Transition in Colorectal Adenocarcinoma. **Cellular Physiology And Biochemistry**, [s.l.], v. 42, n. 1, p.397-406, 2017. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000477484>.
- LV, G.; GUO, X.; XIE, L.; XIE, C.; ZHANG, X.; YANG, Y.; XIAO, L.; TANG, Y.; PAN, X.; GUO, A.. Molecular Characterization, Gene Evolution, and Expression Analysis of the Fructose-1, 6-bisphosphate Aldolase (FBA) Gene Family in Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Frontiers In Plant Science**, [s.l.], v. 8, p.1030-1066, 14 jun. 2017. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2017.01030>.
- LONDON, J.; CHACE, N. M.; KLINE, K.. Aldolase of Lactic Acid Bacteria: Immunological Relationships Among Aldolases of Streptococci and Gram-Positive Nonsporeforming Anaerobes. **International Journal Of Systematic Bacteriology**, [s.l.], v. 25, n. 2, p.114-123, 1 abr. 1975. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/00207713-25-2-114>.
- MAGALHÃES, Ana Paula Pereira Scholz de; BURIN, Maira Graeff; SOUZA, Carolina Fischinger Moura de; BITENCOURT, Fernanda Hendges de; SEBASTIÃO, Fernanda Medeiros; SILVA, Thiago Oliveira; VAIRO, Filippo Pinto e; SCHWARTZ, Ida Vanessa Doederlein. Transferrin isoelectric focusing for the investigation of congenital disorders of glycosylation: analysis of a ten-year experience in a brazilian center. : analysis of a ten-year experience in a Brazilian center. **Jornal de Pediatria**, [s.l.], p. 1-7, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jped.2019.05.008>.
- MEHTA, M.; BEG, M. Fructose Intolerance: Cause or Cure of Chronic Functional Constipation. **Global Pediatric Health**, Syracuse, Ny, Eua, v. 5, p.1-5, Jan. 2018.
- MICHELAKAKIS, H.; MORAITOU, M.; MAVRIDOU, I.; DIMITRIOU, E. Plasma lysosomal enzyme activities in congenital disorders of glycosylation, galactosemia and fructosemia. **Clin Chim Acta**; 401:81–3. 2009.
- MORALEZ-ALVAREZ, MARTHA CATALINA et al. “Fructosúria e hipoglicemia recorrente em um paciente com uma nova variante c.1693T> A na região 3 'não traduzida do gene da aldolase B.” **SAGE relatos de casos clínicos abertos** vol. 7 2050313X18823098. 10 de janeiro de 2019, doi: 10.1177 / 2050313X18823098.
- MORGULIS, A; COULOURIS, G; RAYTSELIS, Y; THOMAS L; Richa, M. A.; ALEJANDRO, A. S. "Database Indexing for Production MegaBLAST Searches", **Bioinformatics** 24:1757-1764, 2008.
- PRONICKA, E.; ADAMOWICZ, M.; KOWALIK, A.; PLOSKI, R.; RADOMYSKA, B.; ROGASZEWSKA, M.; et al. Elevated carbohydrate-deficient transferrin (CDT) and its

normalization on dietary treatment as a useful biochemical test for hereditary fructose intolerance and galactosemia. **Pediatr Res.** 62:101–5. 2007.

ORDOVAS, J. M., MOOSER, V. Nutrigenomics and nutrigenetics. **Current Opinion Lipidology**, Texas, v. 15, p.101-108, 2004.

QUINTINA, E.; STURIALE, L.; MONTERO, R.; ANDRADE, F.; FERNANDES, C. et al. Secondary disorders of glycosylation in inborn errors of fructose metabolism. **J Inherit Metab Dis:** 32 Suppl 1:S273–8. 2009.

SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, JC.; BENLLOCH, T.; LEAL, MA.; SAMPER, B.; GARCÍA-RIPOLL, I.; FELÍU, JE. Análise molecular do gene da aldolase B em pacientes com intolerância hereditária à frutose da Espanha. **J. Med Genet.** 39: e56. 2002.

SANTER, R.; RISCHERWSKI, J.; VON, W. M.; NIEDERHAUS, M. et al. O espectro de mutações da aldolase B (ALDOB) e a prevalência de intolerância hereditária à frutose na Europa Central. **Hum Mutat.** 25: 594. 2005.

SCHORDI, SJ.; DEBARBE, A.; HE, M. Y. Z.; PEISSING, P. et al. Estimativa de prevalência para doenças autossômicas recessivas monogênicas usando dados genéticos de base populacional. **Hum Genet.** 134: 659–69. 2015.

SCHRYVER, S., MILL, J., MILL, C. - Diagnosis and management of food allergies: new and emerging options : a systematic review. **Journal of Asthma and Allergy.** (2014) 141–164.

VALADARES, E. R., CRUZ, A. F., ADELINO, T. E., KANUFRE, V., RIBEIRO, M., PENIDO, M. G. VALADARES, L. M. (2015). Hereditary fructose intolerance in Brazilian patients. **Molecular genetics and metabolism reports**, 4, 35–38. doi:10.1016/j.ymgmr.2015.05.007 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4750570/>.

ZHENG, Z., SCOTT, S., WAGNER, L., and Webb Miller (2000), "A greedy algorithm for aligning DNA sequences", **J Comput Biol** 2000; 7(1-2):203-14.

ZIVERI, J., TROS, F., GUERRERA, IC *et al.* A enzima metabólica frutose-1,6-bifosfato aldolase atua como um regulador da transcrição na *Francisella* patogênica. **Nat Commun** 8, 853 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00889-7>.

WILDER-SMITH, C. H.; OLESEN, S. S.; MATERNA, A.; DREWES, A. M. Predictors of response to a low-FODMAP diet in patients with functional gastrointestinal disorders and lactose or fructose intolerance. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, [s.l.], v. 45, n. 8, p. 1094-1106, 24 fev. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/apt.13978>.