SMMR

Série Manual do Médico-Residente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Coordenadores da Série

Jose Otavio Costa Auler Junior

Luis Yu

Genética Médica

Editores do Volume

Chong Ae Kim • Lilian Maria José Albano

Debora Romeo Bertola • Rachel Sayuri Honjo Kawahira

HC FMUSP
MEDICINA USP
HC FMUSP EEP Escola de Educação Permanente
Instituto da Criança Hospital das Clínicas - FMUSP
Atheneu

DISTRIBUIÇÃO PROIBIDA

SÉRIE MANUAL DO MÉDICO-RESIDENTE

GENÉTICA MÉDICA

HC FMUSP
MEDICINA USP
HC FMUSP EEP Escola de Educação Permanente
Instituto da Criança Hospital das Clínicas - FMUSP
Atheneu

SÉRIE MANUAL DO MÉDICO-RESIDENTE

Coordenadores da Série
Jose Otavio Costa Auler Junior
Luis Yu

- *Acupuntura e Medicina Tradicional Chinesa*
- *Anestesiologia*
- *Cirurgia da Mão*
- *Cirurgia de Cabeça e Pescoço*
- *Cirurgia Geral*
- *Cirurgia Plástica*
- *Cirurgia Torácica*
- *Condutas Práticas em Cardiologia*
- *Cuidados Paliativos – Falências Orgânicas*
- *Dermatologia*
- *Endocrinologia e Metabologia*
- *Endoscopia*
- *Genética Médica*
- *Geriatria*
- *Imunologia Clínica e Alergia*
- *Infectologia*
- *Mastologia*
- *Medicina de Família e Comunidade*
- *Medicina do Trabalho*
- *Medicina Esportiva*
- *Medicina Física e Reabilitação*
- *Medicina Legal e Perícia Médica*
- *Nefrologia*
- *Neurocirurgia*
- *Neurologia*
- *Neurologia Infantil*
- *Oftalmologia*
- *Ortopedia e Traumatologia*
- *Otorrinolaringologia*
- *Pediatria*
- *Pneumologia*
- *Radiologia e Diagnóstico por Imagem*
- *Reumatologia*
- *Urologia*

DISTRIBUIÇÃO PROIBIDA



SMMR



Série Manual do Médico-Residente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Coordenadores da Série
JOSE OTAVIO COSTA AULER JUNIOR
LUIS YU

VOLUME
GENÉTICA MÉDICA

DISTRIBUIÇÃO PROIBIDA

Editoras do Volume
CHONG AE KIM
DEBORA ROMEO BERTOLA
LILIAN MARIA JOSÉ ALBANO
RACHEL SAYURI HONJO KAWAHIRA

HC FMUSP
MEDICINA USP
HC FMUSP EEP Escola de Educação Permanente
Instituto da Criança Hospital das Clínicas - FMUSP
Atheneu

EDITORA ATHENEU

São Paulo	—	*Rua Maria Paula, 123 - 18º andar* *Tel.: (11) 2858-8750* *E-mail: atheneu@atheneu.com.br*
Rio de Janeiro	—	*Rua Bambina, 74* *Tel.: (21) 3094-1295* *E-mail: atheneu@atheneu.com.br*

CAPA: Equipe Atheneu
PRODUÇÃO EDITORIAL: Fernando Palermo

CIP-BRASIL. CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO
SINDICATO NACIONAL DOS EDITORES DE LIVROS, RJ

G29

Genética médica / editores Chong Ae Kim ... [et al.] ; coordenação Jose Otavio Costa Auler Junior , Luis Yu. - 1. ed. - Rio de Janeiro : Atheneu, 2022.
: il. ; 18 cm. (Manual do Médico-Residente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo)

Inclui bibliografia e índice
ISBN 978-65-5586-516-3

1. Genética. 2. Evolução humana. 3. Genética humana. I. Kim, Chong Ae. II. Auler Junior, Jose Otavio Costa. III. Yu, Luis. IV. Série.

22-79365 CDD: 576.5
CDU: 575

Gabriela Faray Ferreira Lopes - Bibliotecária - CRB-7/6643

10/08/2022 15/08/2022

KIM, C. A.; BERTOLA, D. R.; ALBANO, L. M. J.; KAWAHIRA, R. S. H.
Série Manual do Médico-Residente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – Volume Genética Médica

© Direitos reservados à EDITORA ATHENEU – Rio de Janeiro, São Paulo, 2023.

DISTRIBUIÇÃO PROIBIDA

Capítulo 1

Bases genéticas e doenças raras

Leslie Domenici Kulikowski

DISTRIBUIÇÃO PROIBIDA

Introdução

Um objetivo principal da genética humana é identificar variantes de sequência de DNA que influenciam o fenótipo clínico, principalmente aquelas variantes associadas ao início e progressão de doenças. Nos últimos 25 anos, acompanhamos um enorme progresso na realização deste objetivo, uma vez que a genética médica vive uma transformação sustentada pelo avanço das ferramentas bioanalíticas, tecnológicas e pelo acesso a um volume enorme de dados genômicos informatizados.

As descobertas genéticas melhoraram substancialmente a nossa compreensão dos mecanismos responsáveis por muitas doenças, tanto as raras quanto as frequentes, e possibilitaram o desenvolvimento de novas estratégias preventivas e terapêuticas. Assim as inovações médicas se concentram cada vez mais no atendimento personalizado e nos cuidados adaptados aos padrões genéticos individuais e de predisposição de cada indivíduo.

Todo o conhecimento que envolve as relações "genótipo-fenótipo" está catalogado em uma base de dados, o OMIM (*Online Mendelian*

Inheritance in Man), que armazena mais de 4.000 genes codificadores de proteínas (aproximadamente 20% dos cerca de 20.000 genes humanos codificadores de proteínas) associados a uma ou mais doenças fenótipos (www.OMIM.org).[1]

Estes dados ilustram a amplitude do conhecimento genético até o momento, e vai se atualizando à medida que novas informações são cientificamente produzidas. No entanto, concluir um diagnóstico molecular mesmo com as tecnologias e conhecimentos atuais ainda representa um desafio para os geneticistas.

Conceitos básicos de genética e genômica e as doenças raras

Doenças raras são definidas como aquelas que afetam menos de 1 em 2.000 indivíduos na população em geral. Essas doenças permanecem raras na população porque geralmente afetam a capacidade reprodutiva. Estima-se que existam 7.000 doenças raras, das quais aproximadamente 80% têm uma causa genética.[1-3]

Embora tenha sido demonstrado que variantes raras em cerca de 1.500 genes podem ser a causa de transtornos do desenvolvimento, muitos outros genes diretamente associados a doenças ainda precisam ser descobertos.[8,9] O diagnóstico preciso, ou seja, a identificação e classificação acurada das variantes genômicas (genótipo) que podem explicar as características clínicas das doenças raras (fenótipo), é o alicerce da prática da genética médica.[4,5]

Um diagnóstico genético eficaz também permite a determinação precisa do risco para membros da família existentes e futuros. No entanto, como já comentado, encontrar um diagnóstico para cada indivíduo demanda um esforço considerável devido à variabilidade genética e fenotípica associada a essas doenças e ao nosso conhecimento ainda em constante desenvolvimento.[6]

Bases do diagnóstico genético

As variantes genéticas causais são alterações na arquitetura do DNA do paciente. Essas alterações podem variar em tamanho e podem ser desde substituições de pares de bases, deleção ou duplicação de um único par de bases, até variantes estruturais e números de cópias alterados de um cromossomo inteiro (aneuploidia) ou do genoma completo (como no mosaicismo diploide/triploide).

DISTRIBUIÇÃO PROIBIDA

Não apenas as doenças causadas por essas variantes individualmente, são muito raras ou ultrarraras (< 1 em 100.000), mas também há geralmente variabilidade clínica na penetrância da doença e na expressividade das características individuais dentro das entidades da doença.

Uma proporção dessa variabilidade nas doenças genéticas pode ser atribuída à heterogeneidade do locus e à heterogeneidade alélica, que pode ser intensa (p. ex., a característica clínica "deficiência intelectual" pode ser causada por variantes monoalélicas ou bialélicas em um ou mais de 700 genes diferentes.[7,8] Outras fontes importantes de variabilidade incluem variantes genéticas em um ou mais outros loci modificadores e/ou fatores ambientais, que atualmente são difíceis de identificar e quantificar. Como consequência, a maioria das doenças genéticas raras não tem apresentações clínicas suficientemente distintas e são inacessíveis para o diagnóstico clínico por abordagens clássicas, que normalmente dependem do reconhecimento de um padrão consistente de características clínicas, como uma combinação de crescimento anomalias, malformações específicas do local e uma aparência facial característica.

Além disso, nem todos os distúrbios raros são de origem genética e, em todo o mundo, permanece uma pequena, mas importante, contribuição da exposição a teratógenos, por exemplo em doenças pediátricas raras, como a síndrome alcoólica fetal, a toxoplasmose congênita ou síndromes causadas pelos vírus Zika.[8,9]

Assim, até recentemente, a maioria das doenças raras, especialmente aquelas que envolvem distúrbios do desenvolvimento, permaneciam sem diagnóstico. Mas um conjunto de novas tecnologias citogenômicas, incluindo o sequenciamento massivo paralelo, mais conhecido como sequenciamento de última geração (NGS) melhoraram enormemente as perspectivas de obtenção de um diagnóstico genético conclusivo, em parte porque é uma abordagem não completamente dependente do fenótipo.[10]

O sequenciamento simultâneo de cada gene no genoma detecta a grande maioria das variações importantes presentes no genoma de um indivíduo e potencialmente permite que os diagnósticos sejam feitos em uma gama de fenótipos raros, mesmo para condições raras e ultrarraras, incluindo aqueles com os quais o médico pode não estar familiarizado.[10]

Uma vez que a base genética de uma doença é identificada, a gama de apresentações clínicas frequentemente aumenta, pois, combinações mais brandas ou incompletas das características clínicas são reconhecidas por compartilharem sua base genética molecular.[10,11]

DISTRIBUIÇÃO PROIBIDA

Os avanços nas tecnologias genômicas tiveram um impacto particular nas doenças pediátricas raras devido ao seu início precoce e à natureza e frequência diferentes das variantes causais em comparação com a doença genética adulta rara, o que significa que o rendimento do diagnóstico molecular é geralmente maior.[11]

Embora os genomas humanos variem entre si em cerca de 4 a 5 milhões de pares de bases, a grande maioria dessas variantes são consideradas comuns e benignas.[12]

Os diferentes tipos de variantes genômicas e suas características estruturais contribuem diretamente para a diversidade genética, para susceptibilidade à doença, e podem ser ou não específicas.[13]

As variantes estruturais (SV) são geralmente definidas como trechos do DNA que mostram uma mudança no número de cópias genômicas (CNVs), como as deleções, as inserções e as duplicações, inversões e ainda as translocações. As SVs podem ser balanceadas, sem perda ou ganho de material genético, como inversões de um segmento ou translocações de uma região de DNA dentro ou entre cromossomos; ou ainda serem desequilibradas, onde uma parte do genoma é perdida ou duplicada. As aneuploidias cromossômicas seriam, na verdade, casos extremos de variações estruturais desequilibradas.[13,14]

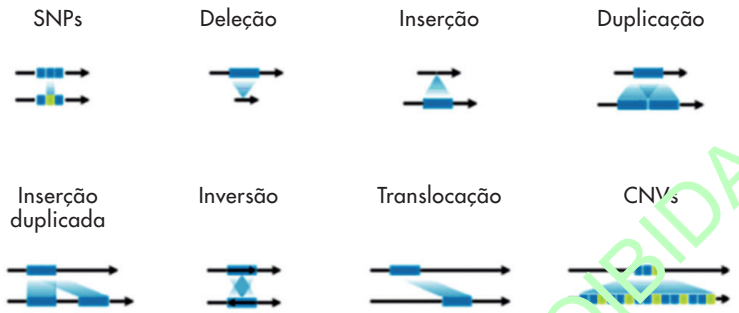
Dentre as variantes genômicas de importância clínica, estão as CNVs *(Copy Number Variations)*, que são variações no número de cópias genômicas de um segmento e que podem variar de aproximadamente 1 kb a muitos megabases (Mb) de tamanho. As CNVs são geralmente herdadas e sua frequência varia dependendo do tamanho considerado na alteração, mas estimativas sugerem que mais de 12% do genoma de qualquer indivíduo pode conter variantes em número de cópias, ou seja, indivíduos normais e saudáveis também apresentam CNVs em seu genoma.[13,14]

Outros segmentos variantes de DNA com relevância clínica para doenças recessivas e raras são as regiões de homozigosidade (ROHs – *Regions of Homozygosity*), que são trechos longos de homozigosidade genômica, capazes de serem detectados por técnicas citogenômicas voltadas para o diagnóstico, como os arrays e o NGS.[13,14]

Todos os tipos de variantes podem ser considerados patogênicas independentemente do tamanho, assim em alguns casos, as SVs podem ter um grande efeito em doenças raras, em outros, variantes relativamente comuns mostraram ter efeitos mais leves em doenças complexas. Embora a maioria dos estudos que abrangem SVs envolvam variações desequilibradas, as SVs balanceadas também representam risco para doença principalmente

DISTRIBUIÇÃO PROIBIDA

Figura 1.1. Tipos de variantes encontrados no genoma (modificada de Nature Reviews Genetics).[15]



quando seus pontos de quebra genômicos afetam genes relevantes, além disso podem aumentar o risco de doenças futuras.

Mas nem todas as variantes estruturais são patogênicas, algumas apresentam um significado incerto, conhecidas como VUS (*Variant of Unknown Significance*), porque não há consenso na literatura cientifica sobre a sua ligação com um fenótipo clínico específico, enquanto outras alterações, principalmente quando presente nos pais saudáveis, são consideradas benignas. A maioria desses SVs variam em tamanho de 100bp a 50Kb e, globalmente, eles se sobrepõem a aproximadamente 60% do genoma, levando em consideração que os limites dessas variantes ainda não são completamente definidos e, portanto, pode haver uma superposição estimativa do tamanho real das variantes.

Várias iniciativas geraram catálogos abrangentes, que são os bancos de dados dos SVs identificados e classificados, como variantes patogênicas, benignas ou VUS. O Banco de Dados de Variantes Genômicas (http://dgv.tcag.ca/) vem coletando dados sobre SV desde 2004. Um resumo desses bancos pode ser visto na Tabela 1.1.

Fica evidente que a genética, por ser um campo em rápido desenvolvimento, aumenta cada vez mais a compreensão das bases moleculares das doenças, fato que já está começando a transformar a qualidade do atendimento médico que pode ser prestado hoje (Figura 1.2).

DISTRIBUIÇÃO PROIBIDA

Tabela 1.1 – Bancos de dados e referências usados na busca de informações e referências para a classificação das CNVs

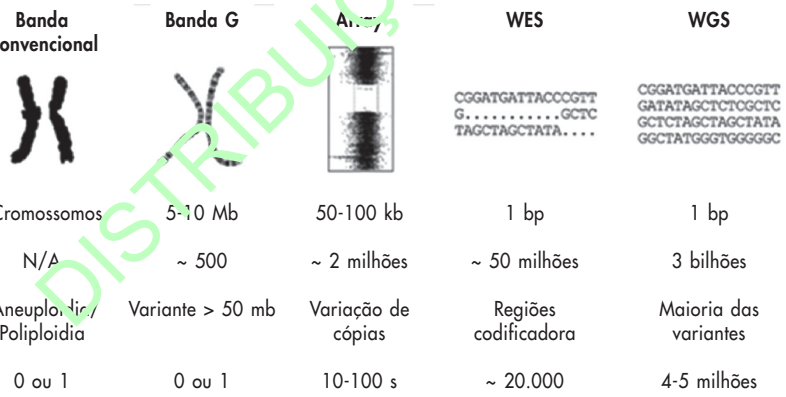
Banco de dados e referências	Descrição
ClinGen (*Clinical Genome Resource*)	Ferramenta colaborativa de investigação de dados fenotípicos, genes e variantes de relevância clínica para uso na medicina de precisão e pesquisa, financiada pela pelo NIH (Institutos Nacionais de Pesquisa, do inglês, *National Institutes of Health*)
Decipher	Plataforma para depósito, análise e compartilhamento da interpretação clínica de variações genômicas patogênicas provenientes de pacientes com fenótipo bem estabelecido e afetados por doenças genéticas raras
DGV (*The Database of Genomic Variants*)	Catálogo público de alterações estruturais encontradas no genoma de indivíduos controle em populações diversas, usado para pesquisa básica e diagnóstico clínico
GnomAD (*The Genome Aggregation Database*)	Ferramenta colaborativa que agrega e harmoniza dados obtidos por meio de exomas e sequenciamentos completos do genoma de forma acessível e organizada para a comunidade científica
ISCA (*The International Standards for Cytogenomic Arrays*)	Consórcio de laboratórios de citogenética e biologia molecular comprometidos em melhorar a qualidade do cuidado de pacientes por meio da adequada indicação clínica para direcionamento da testagem citogenética molecular, incluindo os arrays
NCBI (*National Center for Biotechnology Information*)	Fonte americana de informações em biologia molecular que promove pesquisa em problemas biomédicos, utilizando métodos matemáticos e computacionais; possui colaborações com o Instituto Nacional de Saúde americano e outras agências governamentais, instituições de ensino, indústria Promove a divulgação científica Coordena diversos bancos de dados e *softwares* para a comunidade médica e científica
OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*)	Catálogo online e gratuito, continuamente atualizado, de genes humanos, doenças genéticas, com ênfase na relação molecular entre variação genética e expressão fenotípica

DISTRIBUIÇÃO PROIBIDA

Banco de dados e referências	Descrição
Pubmed	Site de referência para busca de referências compiladas e mundialmente disponíveis e acessíveis (artigos inéditos, artigos de revisão, estudos de casos, capítulos de livros, etc.)
UCSC Genome Browser	Ferramenta de visualização prática e objetiva de porções de interesse no genoma em qualquer escala, combinados a dados diversos, que podem ser incluídos ou excluídos da tela de visualização, como bandas cromossômicas, Genes conhecidos, RNAs mensageiros, ilhas CpG, cobertura de variações de base única, homologia com outros organismos, rastros evolutivos, posicionamento de sondas de array de *kits* variados, relatos de pacientes com alterações fenotípicas associadas a regiões de interesse, frequência na população em geral, entre outros

Fonte: Chehimi e Kulikowski, 2020.

Figura 1.2. Estratégias de testes citogenômicos para doenças raras. À medida que a resolução do teste aumenta, o número de variantes detectáveis também aumenta. (modificada de Nature Reviews Genetics).[15]



O futuro provavelmente trará fluxos de trabalho aprimorados que encontrarão uma gama mais ampla de aplicações clínicas e levarão a novas opções de tratamento.

DISTRIBUIÇÃO PROIBIDA

Referências

1. European Organisation for Rare Diseases. Rare Diseases: Understanding this Public Health Priority. Eurodis, 2005.
2. Boycott KM et al. International cooperation to enable the diagnosis of all rare genetic diseases. Am. J. Hum. Genet. 100:695-705, 2017.
3. Quintana-Murci L. Understanding rare and common diseases in the context of human evolution. Genome Biol. 17:225, 2016.
4. Wright CF et al. Genetic diagnosis of developmental disorders in the DDD study: a scalable analysis of genome-wide research data. This is an important paper outlining a prototype clinical bioinformatics pipeline for the diagnosis of developmental disorders. Lancet. 385:1305-1314, 2015.
5. Deciphering Developmental Disorders Study. Prevalence and architecture of de novo mutations in developmental disorders. Nature 542:433-438, 2017.
6. Austin CP et al. Future of rare diseases research 2017-2027: an IRDiRC perspective. Clin. Transl Sci. https://doi.org/10.1111/cts.12500 (2017).
7. Grozeva D et al. Targeted next-generation sequencing analysis of 1,000 individuals with intellectual disability. Hum. Mutat. 36:1197-1204, 2015.
8. Kochinke K et al. Systematic phenomics analysis deconvolutes genes mutated in intellectual disability into biologically coherent modules. Am. J. Hum. Genet. 98:149-164, 2016.
9. Chavali PL et al. Neurodevelopmental protein Musashi-1 interacts with the Zika genome and promotes viral replication. Science. 357:83-88, 2017.
10. Baynam G et al. The rare and undiagnosed diseases diagnostic service – application of massively parallel sequencing in a state-wide clinical service. Orphanet J. Rare Dis. 11:77, 2016.
11. Posey JE et al. Resolution of disease phenotypes resulting from multilocus genomic variation. N. Engl. J. Med. 376:21-31, 2017.
12. The 1000 Genomes Project Consortium. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. Nature. 491:56-65, 2012.
13. Connolly JJ, Glessner JT, Almoguera B, Crosslin DR, Jarvik GP, Sleiman PM, Hakonarson H. Copy number variation analysis in the context of electronic medical records and large-scale genomics consortium efforts. Front Genet. 2014;5:51.
14. Briefings in Functional Genomics. 14(5):305-314, 2015.
15. Wright CF et al. Nat Rev Genet. Review. Paediatric genomics: diagnosing rare disease in children, 2018.

DISTRIBUIÇÃO PROIBIDA