



Genética e Avaliação de Tecnologia

Conferência Doutoral
FCT-UNL, 20 Julho 2012

Salomé de Almeida
Centro Hospitalar de Lisboa Central, EPE

E quando a Genética e a Avaliação de Tecnologia se cruzam ...



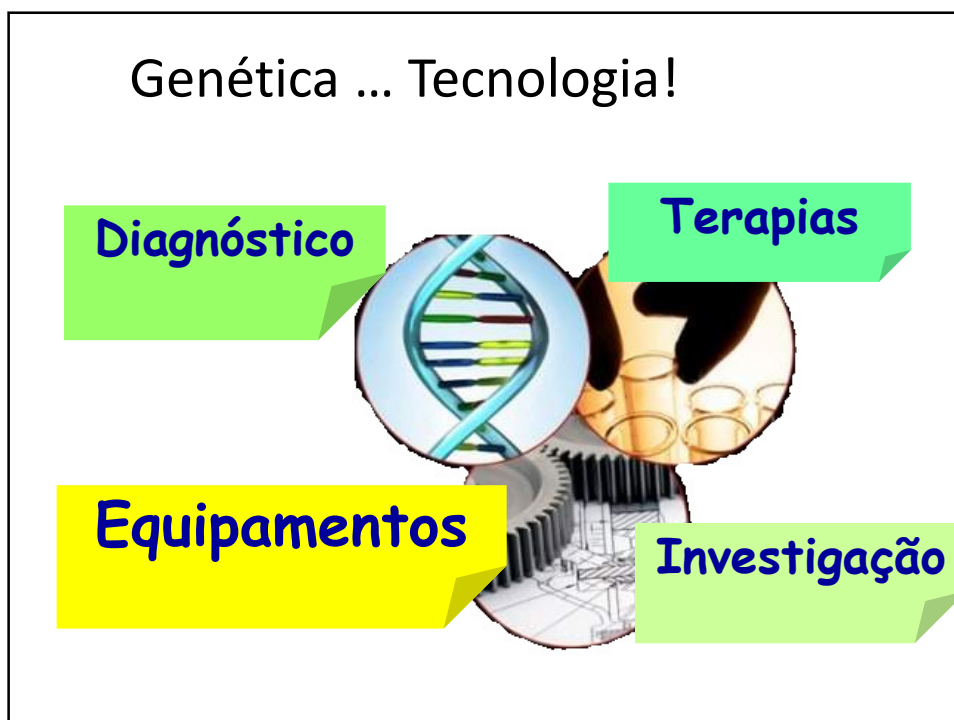
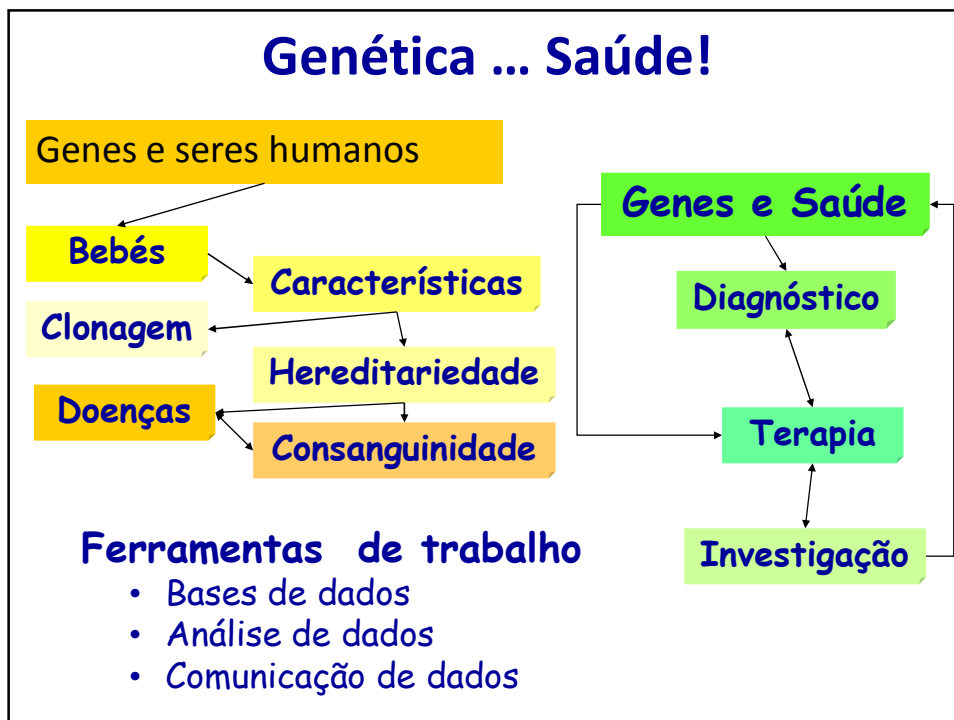




Reparação do tecido cardíaco



Tratamento de patologias da visão





Biochips

Laser e campos elétricos combinados em chip-laboratório
 A técnica permite manipular bactérias, vírus ou moléculas de DNA, trazendo para dentro de um chip o que hoje exige equipamentos de laboratório de grande porte. 14/07/2011 [Leia mais...](#)

Biochip mede nível de glicose na saliva
 A técnica poderá representar o fim das picadas que pacientes de diabetes precisam tomar diariamente. 09/03/2012 [Leia mais...](#)

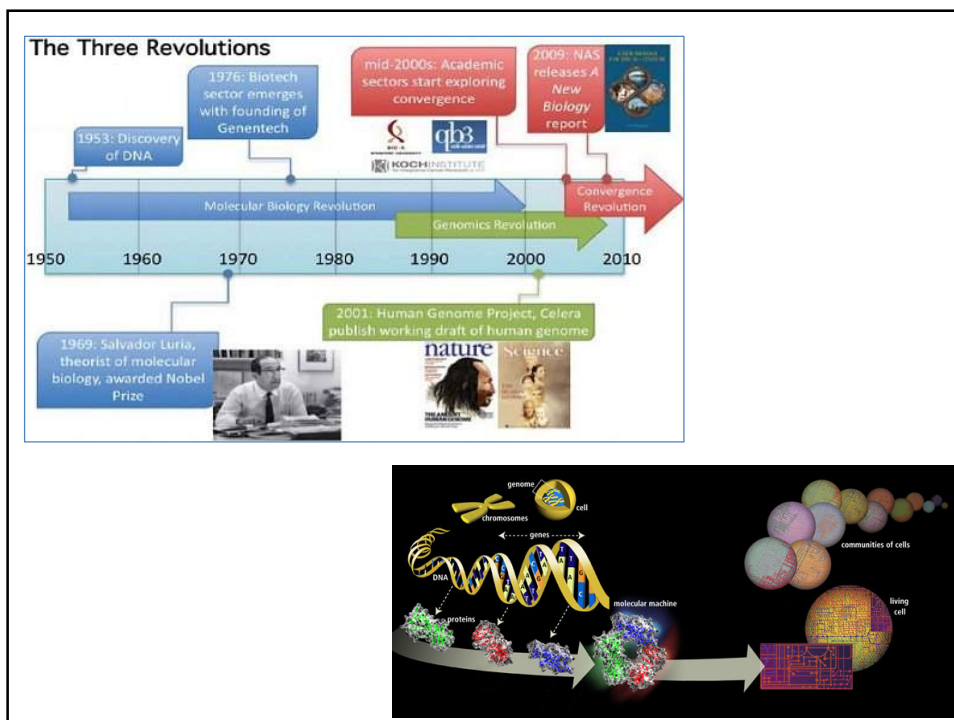
Biochip implantável libera medicamentos automaticamente
 O primeiro teste em humanos do biochip implantável e controlado remotamente foi realizado com sucesso na Dinamarca. 17/02/2012 [Leia mais...](#)

Biochip impresso simplifica processo de análise genética
 O dispositivo necessita de uma quantidade menor de amostras de DNA e reagentes do que no processo convencional por lidar com volumes da ordem de microlitros. 27/05/2011 [Leia mais...](#)

Microlaboratório portátil detecta vírus em 35 minutos
 Cientistas miniaturizaram a técnica mais sensível disponível atualmente para detecção de vírus, criando um microlaboratório que cabe na palma da mão. 10/02/2011 [Leia mais...](#)

Fábrica de clones ganha versão para drosófilas
 Verdadeiras fábricas biológicas, onde embriões são cultivados em série e se desenvolvem sob os olhos atentos dos cientistas, acabam de se tornar realidade. 28/12/2010 [Leia mais...](#)

Um "USB" para os diagnósticos médicos?
 A necessidade de criar uma interface específica para cada biochip é um grande entrave para que os bons resultados nos laboratórios se transformem em soluções comerciais disponíveis para a população. 22/12/2010 [Leia mais...](#)



Células

↓

Tecidos

↓

Órgãos

↓

Sistemas

↓

Organismo

Definições

Célula – unidade básica do organismo

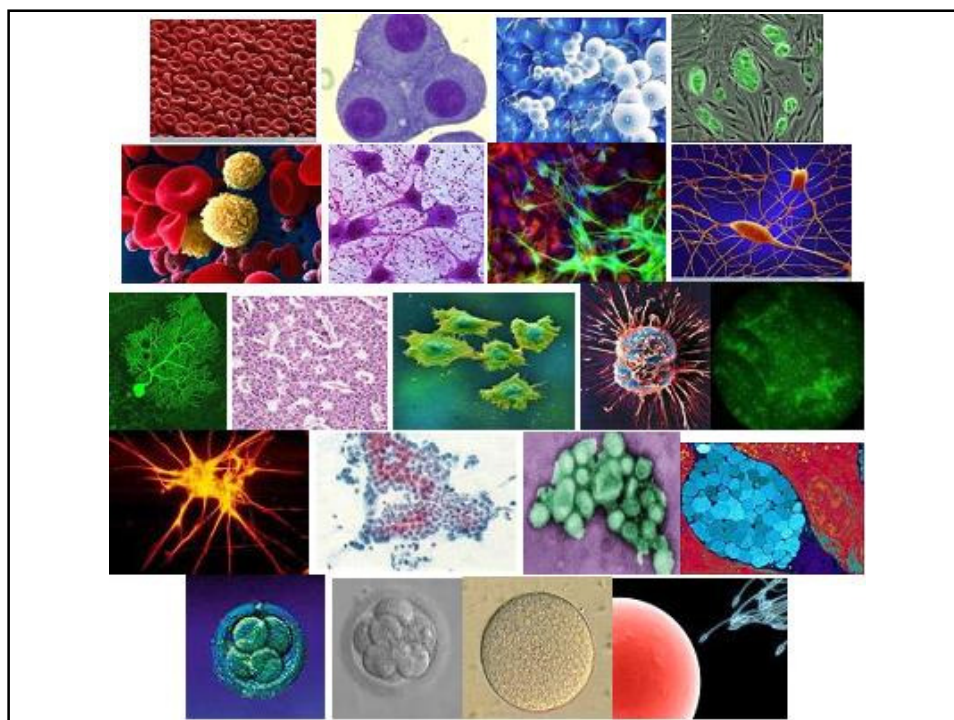
Com exceção dos vírus, todos os seres têm as suas estruturas fundamentadas na **célula**.

Muitos são apenas unicelulares, outros são multicelulares.

Apesar da variedade imensa de formas, a arquitectura fundamental da célula repete-se com impressionante semelhança em todos os níveis de organização → a célula como a **Unidade Biológica**.







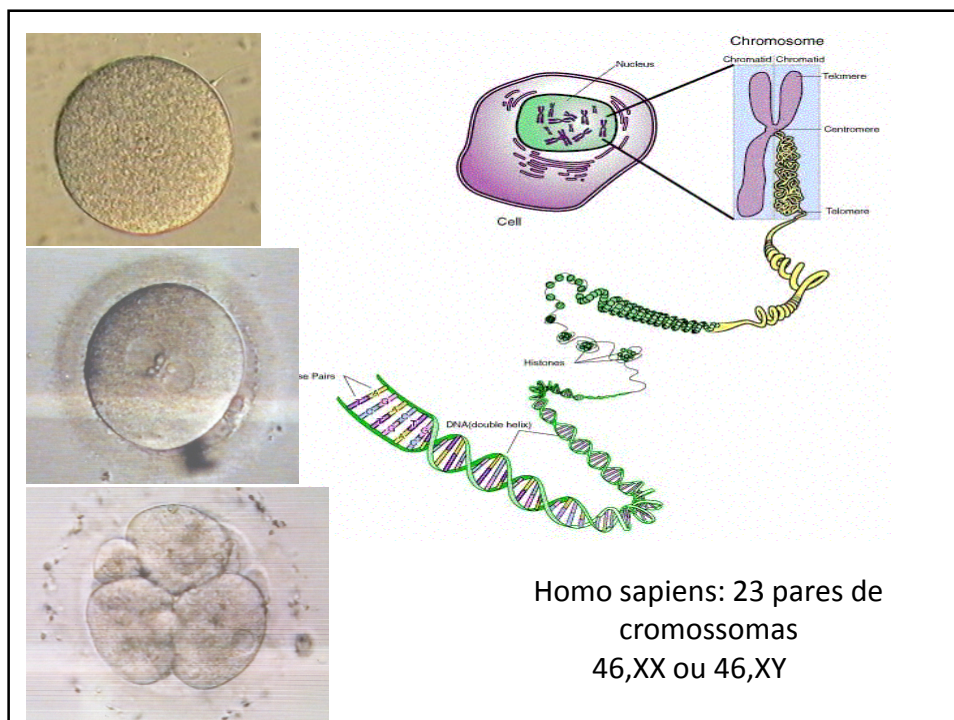
Património Genético

▶ Informação dupla - metade proveniente de cada progenitor

▶ Informação genética organizada no DNA - *desoxiribonucleic acid*

GENOMA

▶ DNA nuclear e DNA mitocondrial



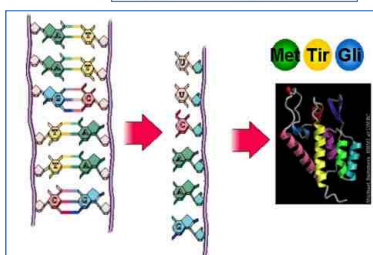
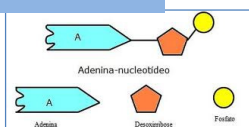
O código genético

4 letras

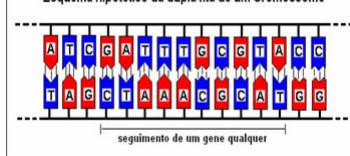
A C G T

A = T

C ≡ G



Esquema hipotético da dupla fita de um Cromossomo

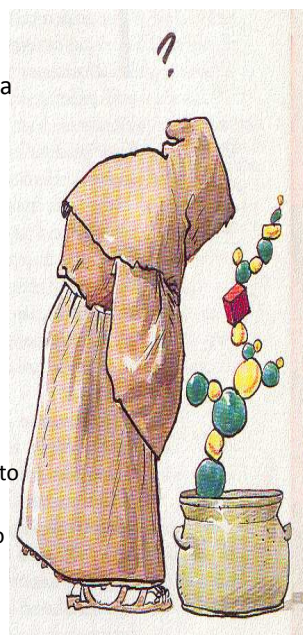


	T	C	A	G
T	TTT Phe (F) TTC " TTA Leu (L) TTG "	TCT Ser (S) TCC " TCA " TCG "	TAT Tyr (Y) TAC " TAA Ter TAG Ter	TGT Cys (C) TGC " TGA Ter TGG Trp (W)
C	CTT Leu (L) CTC " CTA " CTG "	CCT Pro (P) CCC " CCA " CCG "	CAT His (H) CAC " CAA Gln (Q) CAG "	CGT Arg (R) CGC " CGA " CGG "
A	ATT Ile (I) ATC " ATA " ATG Met (M)	ACT Thr (T) ACC " ACA " ACG "	AAT Asn (N) AAC " AAA Lys (K) AAG "	AGT Ser (S) AGC " AGA Arg (R) AGG "
G	GTT Val (V) GTC " GTA " GTG "	GCT Ala (A) GCC " GCA " GCG "	GAT Asp (D) GAC " GAA Glu (E) GAG "	GGT Gly (G) GGC " GGA " GGG "

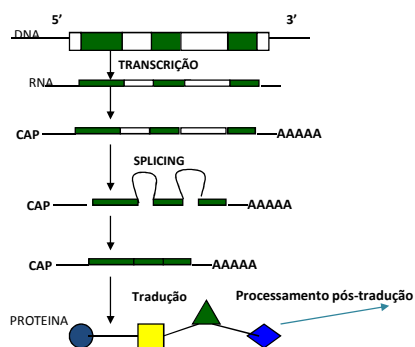
20 aminoácidos

DNA vs GENES

- ▶ Os genes são as sequências de pares de bases que contêm uma mensagem traduzível em característica do indivíduo
- Letras da vida: A, C, G, T (bases azotadas),
organizadas aos pares A = T C ≡ G
- ▶ *Homo sapiens*:
2 x 3 000 000 000 de pares de bases
- Cerca de 30 000 genes
- ▶ Ocupam 3 - 5 % do genoma humano
- ▶ O DNA é constituído por 3 grupos:
 - **Genes estruturais** - dão as ordens sobre os tipos de proteínas a produzir
 - **Genes reguladores** - dão ordens sobre quando e quanto se deve produzir
 - **DNA sem função clarificada** - constitui mais de 50% do genoma!



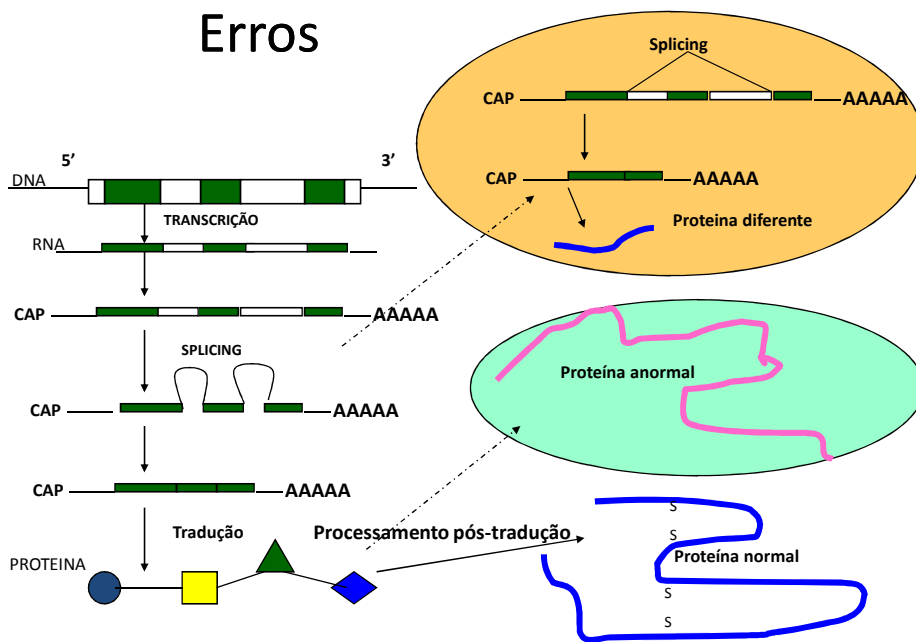
Genes ... intrões e exões



- Zonas codificantes - exões
- Zonas intrónicas - não codificantes
- Sequências específicas para definir o splicing dos intrões
- Sequência de terminação do gene
- Sequências envolvidas na regulação da transcrição
- Região de imprinting

Estudo do DNA - tecnologias e metodologias cada vez mais poderosas
 enzimas de restrição; plasmídeos; transfecção;
 culturas microorganismos; southern blot;
 sequenciação; CLONAGEM; bioinformática ...

Erros



Mutações

Podem ocorrer em qualquer parte do gene -
exão, intrão, sequências ladeantes

As mutações podem ser:

- pontuais - troca de um par de bases
- de tamanho - envolvem vários pares de bases

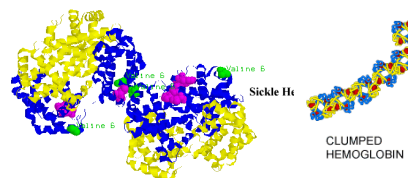
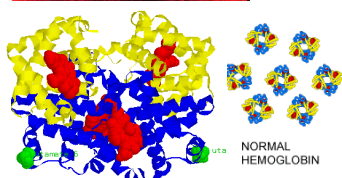
- As mutações podem afectar directamente o gene e/ou os seus produtos de expressão
- Podem afectar outros genes envolvidos na activação ou regulação do gene em causa
- Podem envolver vários genes e/ou diferentes cromossomas
- Consoante o tipo de mutação podem ser mais ou menos graves

ou

podem traduzir-se num benefício

Ex: anemia das células falciformes; Fibrose quística

Anemia das células falciformes



Note: The Sickle hemoglobin image is drawn at 50% of the size of the Normal hemoglobin

<http://www.nslc.wustl.edu/sicklecell/part2/molecular.html>

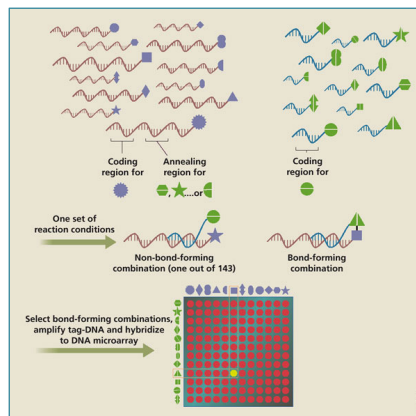
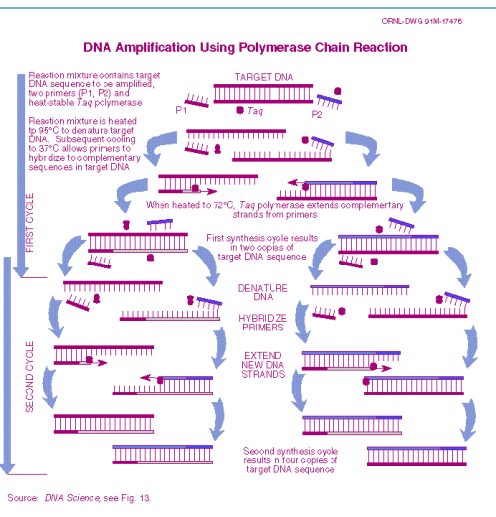
http://carnegeinstitution.org/first_light_case/horn/lessons/sickle.html

Biodiversidade



Conhecer DNA

Amplificação do DNA



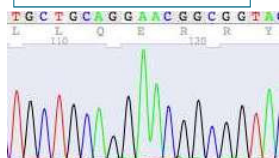
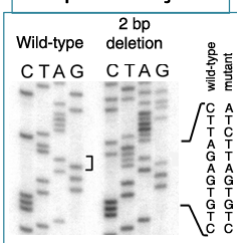
microarray

Conhecer DNA

software for molecular biologists

Sequencing of Alignments Annotations Cloning Maps Blast

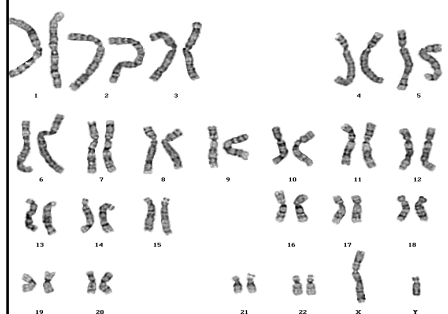
Sequenciação



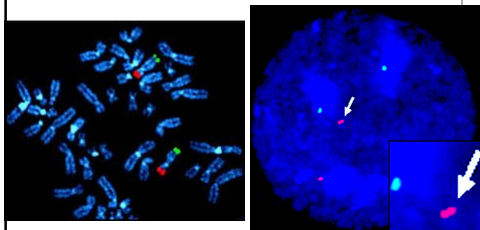
The screenshot displays a complex bioinformatics software interface with multiple panels. On the left, there's a circular genome map. The central part shows a 3D protein structure with various colored domains. Below that, there are several windows displaying sequence alignments, annotations, and a detailed view of a protein structure with its amino acid sequence.

Genes ... por todo o lado

Cariotipo de sangue periférico: 46,XY



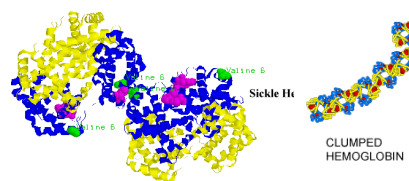
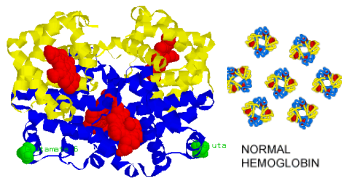
- Microdeleções
- Deleções sub-teloméricas



Anomalias cromossómicas

- Resultam de alterações nos cromossomas
 - Numéricas – alteração de número
 - Trissomia 21, 13, 18
 - XXY; XXX; XYY
 - 45,X – síndrome de Turner
 - Estruturais
 - Quebra do cromossoma e reorganização da estrutura de outra forma
 - Deleção, duplicação, inserção, translocação, isocromossomas,

Anemia das células falciformes



Note: The Sickle hemoglobin image is drawn at 50% of the size of the Normal hemoglobin

<http://www.nslc.wustl.edu/sicklecell/part2/molecular.html>

http://carnegieinstitution.org/first_light_case/horn/lessons/sickle.html

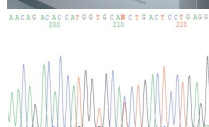
DNA Sequencing



1980-1990

Radio - gel

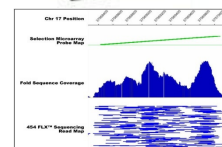
Thousand bp / day



1990-2005

Fluorescent - capillary

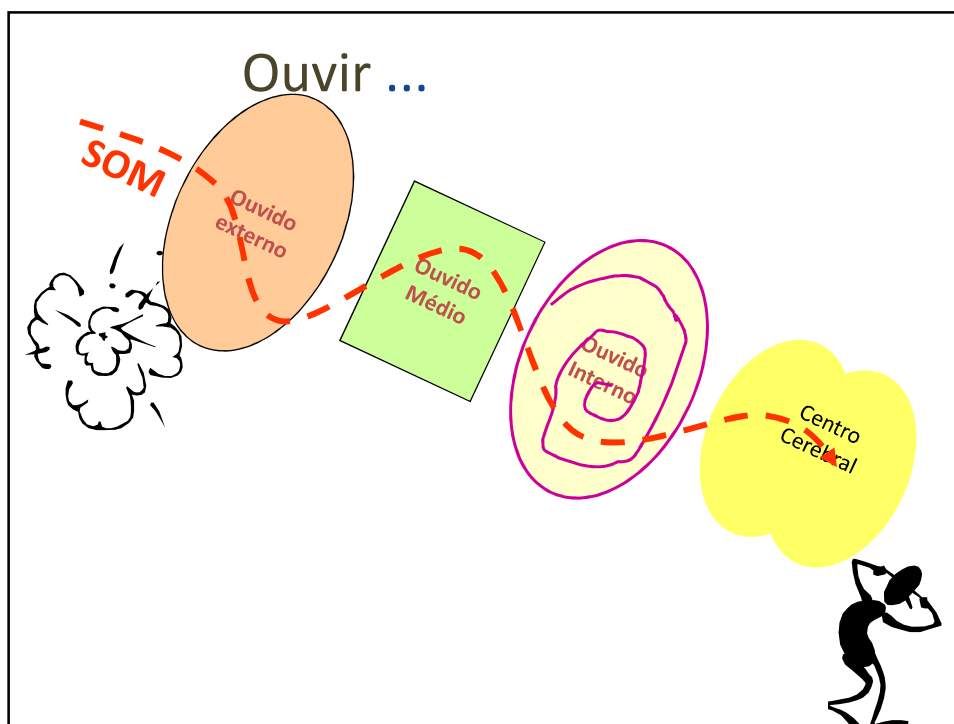
Million bp / day



> 2005

Next generation

Billion bp / day



OUVIR ...

É UM PROCESSO COMPLEXO!

Mecanismos fisiológicos

vias metabólicas

comunicação entre células

sinais bioquímicos

proteínas

transportadores impulsos eléctricos

reguladores

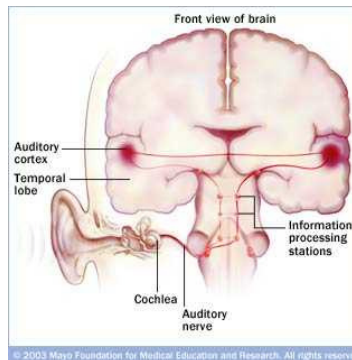
inibidores ...

GENES

Ouvir ...



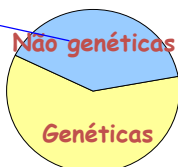
Alec N. Salt, Washington University



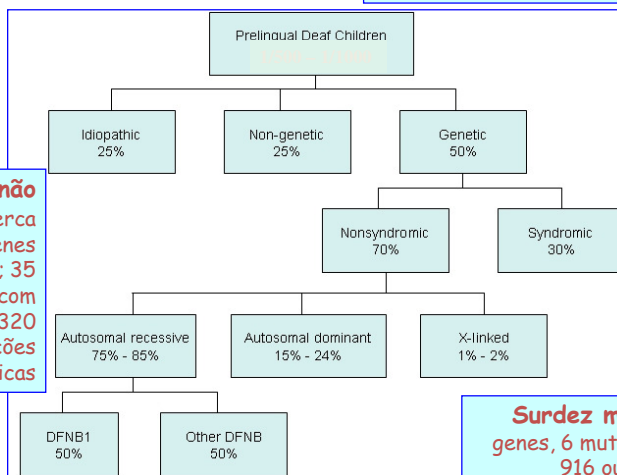
© 2003 Mayo Foundation for Medical Education and Research. All rights reserved.

Cóclea humana - 3.500 CCI; 12.000 CCE.
Células diferenciadas.
Nº final de células ciliadas é atingido cerca das 10 semanas de gestação

Infeções, teratogénios, traumatismos, desconhecidas



Recém nascidos de alto risco: 1 a 4%



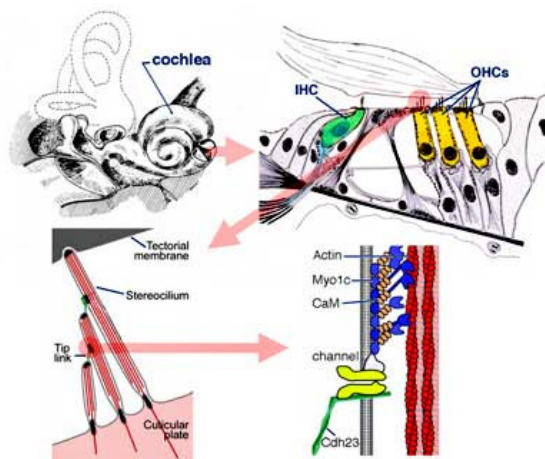
Surdez não síndrômica: Cerca de 100 genes identificados; 35 genes com diagnóstico; ≈320 mutações patológicas

>400 síndromas que incluem surdez

Surdez mitocondrial - 2 genes, 6 mutações principais; 916 outras mutações - susceptibilidade a aminoglicosídeos

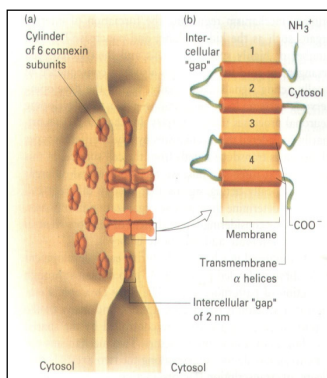
Genes do ouvido interno

- Surdez congénita neurosensorial - genes expressos no ouvido interno, envolvendo:
 - As células ciliadas
 - A comunicação entre células no ouvido interno
 - A matriz tectorial
- 3 exemplos:
 - Conexina 26,
 - Miosina VIIA
 - α -Tectorina



Zheng J, BMC Genomics. 2009 PMID: 19320974

Conexina 26



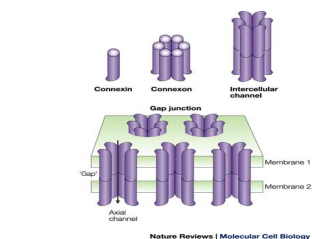
• **Conexina** - proteína da “Gap junction”. Envolvida na transmissão de sinais entre células

• Conexinas envolvidas na surdez

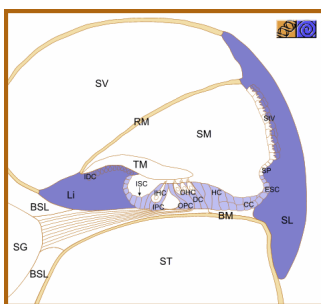
Cx26 (GJB2) - formas de surdez nãoindr.: DFNA3; DFNB1

formas de surdezindr.:

Cx32 (GJB1) - Charcot-Marie-Tooth XL tipo 1; Cx30 (GJB6); Cx31 (GJB3)



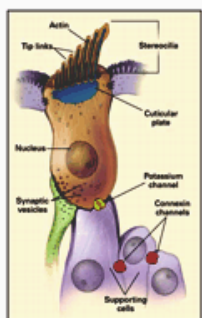
Nature Reviews | Molecular Cell Biology



Expressão da conexina 26

Legend BM Basilar membrane OHC Outer hair cells BSL Bony spiral lamina OPC Outer pillar cell CC Claudius cells RM Reissners' membrane DC Deiters' cells SG Spiral ganglion ESC External sulcus cells SL Spiral ligament HC Hensen cells SM Scala media IDC Interdental cells SP Spiral prominence IHC Inner hair cell ST Scala tympani IPC Inner pillar cell SIV Stria vascularis ISC Inner sulcus cells SV Scala vestibuli Li Limbus TM Tectorial membrane

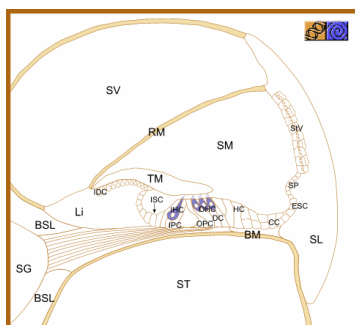
Gene da Miosina VIIA (MYO7A)



Origina a proteína miosina 7A, do citoesqueleto; responsável pela movimentação intracelular de sinais moleculares

Função:

- transporte intracelular orientado
- actividade enzimática - hidrólise de ATP Mg²⁺ e ligação de Mg²⁺

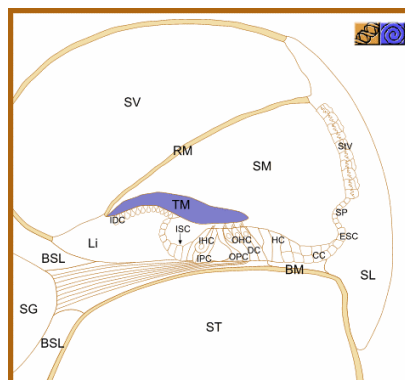


Expressão da Miosina VIIA

Legend BM Basilar membrane OHC Outer hair cells BSL Bony spiral lamina OPC Outer pillar cell CC Claudius cells RM Reissner's membrane DC Deiters' cells SG Spiral ganglion ESC External sulcus cells SL Spiral ligament HC Hensen cells SM Scala media IDC Interdental cells SP Spiral prominence IHC Inner hair cell ST Scala tympani IPC Inner pillar cell SV Stria vascularis ISC Inner sulcus cells SV Scala vestibuli Li Limbus TM Tectorial membrane

Gene da Tectorina alfa (TECTA)

Constituinte não colagénio da membrana tectorial (Matriz extracelular do ouvido interno)
Contacta com os cílios das células ciliadas especializadas
O som induz o movimento das células ciliadas motivando flutuações no potencial de membrana e traduzindo o som em sinais eléctricos.
Função: ligação e transporte de moléculas específicas
Surdez autossómica: DFNA8, DFNA12 e DFNB21



Expressão da TECTA

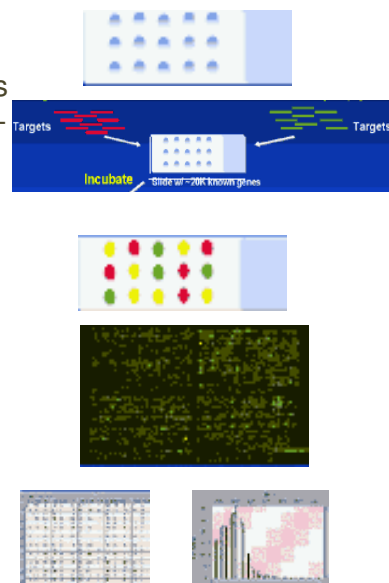
Legend BM Basilar membrane OHC Outer hair cells BSL Bony spiral lamina OPC Outer pillar cell CC Claudius cells RM Reissner's membrane DC Deiters' cells SG Spiral ganglion ESC External sulcus cells SL Spiral ligament HC Hensen cells SM Scala media IDC Interdental cells SP Spiral prominence IHC Inner hair cell ST Scala tympani IPC Inner pillar cell SV Stria vascularis ISC Inner sulcus cells SV Scala vestibuli Li Limbus TM Tectorial membrane

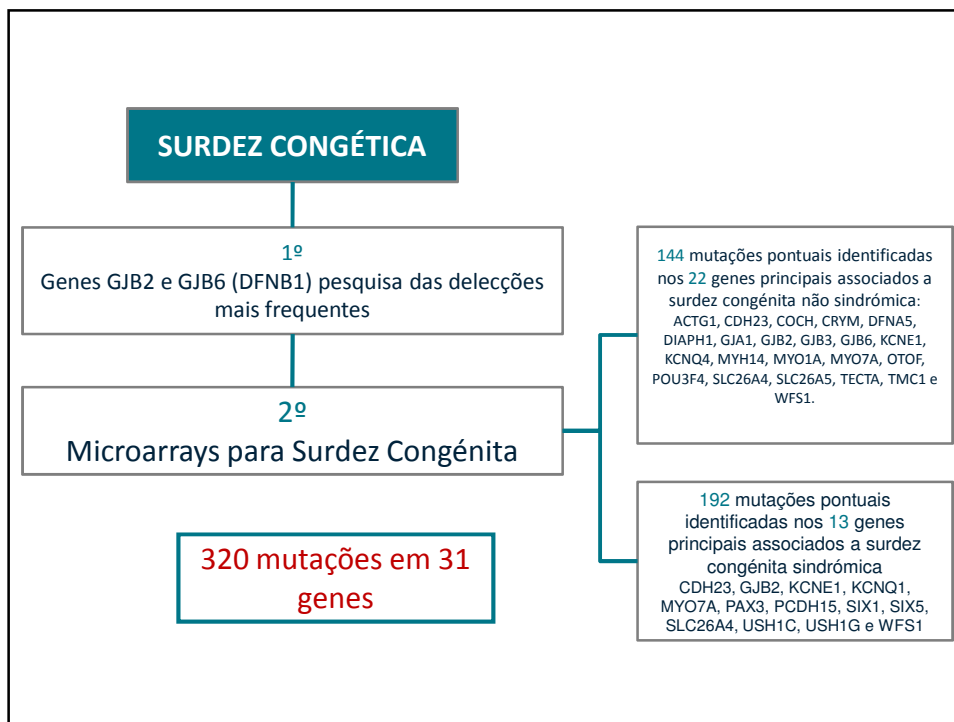
Tecnologia de inovação - microarrays

- Num mesmo suporte, imobilizam dezenas a milhares de seqüências de genes, arranjados (arrayed) numa determinada ordem.
- Os suportes podem ser lâminas de vidro, membranas de nylon ou de sílica
- As seqüências de genes podem ser DNA ou cDNA (sintetizado a partir de RNA)
- O DNA pode ser impresso ou sintetizado directamente no suporte

Microarrays

- Cada array tem seqüências dos genes arrumadas (arrayed) numa ordem pré-estabelecida
- Fragmentos de DNA da amostra a testar são marcados com fluorescência (sondas) e adicionados ao array.
- As sondas são complementares das seqüências presentes no array e hibridam com elas
- Leitura num sistema de laser com um detector das fluorescências emitidas
- Armazenamento e tratamento dos dados – Bioinformática





Human hearing loss loci

1999

LISTEN UP

Forty-six genes causing nonsyndromic hearing impairment: which ones should be analyzed in DNA diagnostics?, (2009) Guy Van Camp;

Mutat Res. 2009 ; 681(2-3): 189–196

Surdez - Patologia sensorial mais comum ; afeta 1:500 recém-nascidos
[1:1000 surdez profunda: 2-3:1000 surdez parcial]

- bilateral permanente
- Perda auditiva ≥ 40 dB

Prevalencia:

< 5anos \rightarrow 2,7 por 1000; adolescencia \rightarrow 3,5 por 1000

Classificação da perda auditiva:

condutiva – afeta o ouvido externo e médio --- frequentemente podem ser tratadas medicamente ou cirurgicamente com eficácia

neurosensorial – defeitos no ouvido interno --- quase todas podem ser compensadas com proteses auditivas

Mista – envolve ambas, condutiva e neurosensorial

perda auditiva central – resulta da lesão dos nervos ou do sistema nervoso central, na comunicação com o cérebro ou no cérebro

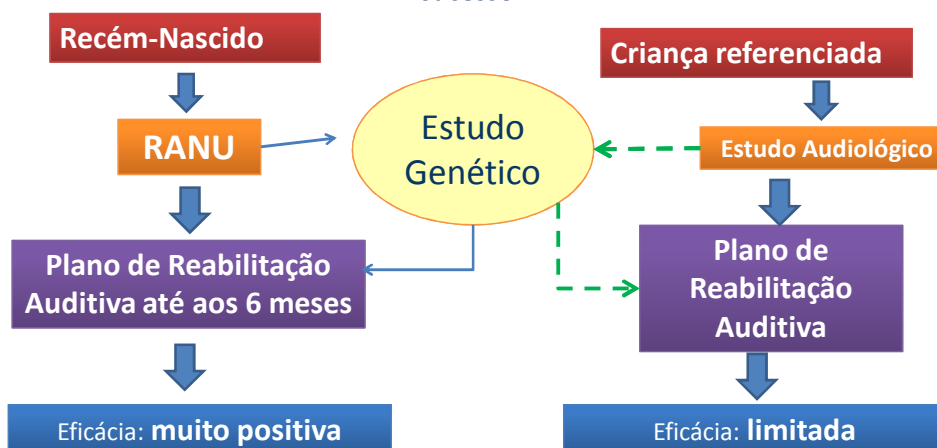
RANU: PEATC – potenciais evocados auditivos do tronco cerebral;
OEA – oto emissões acusticas

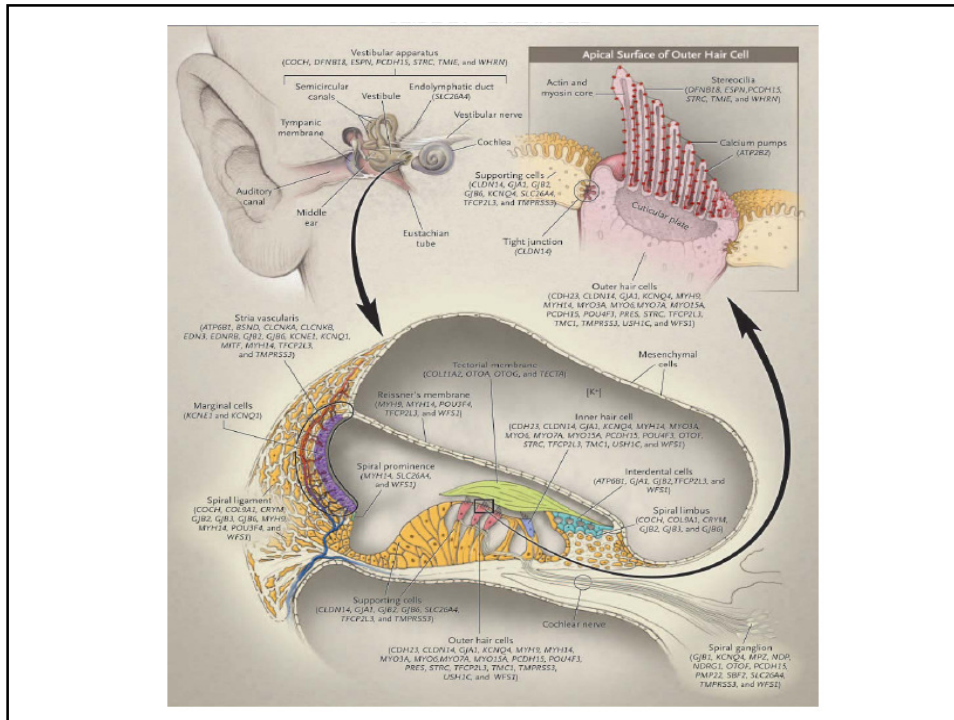
Identificação precoce da surdez - caracterização da surdez até aos 6 meses

----- intervenção precoce

--- (re) habilitação auditiva

--- sucesso





46 genes – associados causalmente a surdez não síndrómica

Frequências de mutações variam com a **etnia**

A maioria das famílias reportadas com ARNSHL, são provenientes da região consanguínea que envolve o norte de África, o médio oriente e a Índia

Famílias com ADNSHL são, em contraste, maioritariamente da Europa, América do Norte e Austrália

1ª Classificação de todas as mutações descritas para os genes da surdez não síndrómica (NSHL)

Integração da informação genética no processo clínico

- Muita informação
- Informação em diferentes formatos
- Perceber o que é importante

- Problemas de ética
- Problemas de confidencialidade
- Interferência familiar

Processo clínico ou processos clínicos?
Associação aos processos dos familiares?

Produção de informação genética

- Diferentes origens
- Diferentes formatos
- Diferentes objectivos

- Testes genéticos complexos
- Testes genéticos com informação a mais
- Testes de suscetibilidade

- Informação proveniente do seguimento do doente (follow up)

Gestão de informação genética

- Dupla confidencialidade – inclusão dos resultados genéticos no processo clínico
 - O problema do processo clínico eletrónico

- Investigação em genética

Acesso a dados de doentes e familiares

- Outras utilizações da informação genética:

Epidemiologia

Situações de saúde pública

surdez;

suicídio;

doença mental --- Madeira tem uma frequência aumentada de X-frágil

doença de Machado Joseph – Ilha das Flores

Morte in útero – causas ambientais vs genéti

Outras utilizações da informação genética

Utilização pessoal → **MEDICINA PERSONALIZADA**

Eu, como gestor da minha saúde

The screenshot displays the 23andMe website interface. At the top, the 23andMe logo is visible with the tagline "genetics just got personal." Below the logo is a navigation menu with options: welcome, ancestry, health, how it works, and store. The main content area features a large promotional banner for the "deCODEme Complete Scan". The banner includes a testimonial from Kirk C. stating, "Because I had given my doctor information from 23andme, he got to a diagnosis much faster. 23andme saved my life." The price is listed as \$99, with a note that it was previously \$199. A prominent "Order Now" button is present. To the right, there is a section titled "deCODEme Complete Scan" with a description: "Explore your genetic risk factors and keep a vigilant eye on your prospects for prolonged health. The Complete Scan is the most accurate, advanced and comprehensive test of its kind." Below this, it states, "The Complete Scan focuses on medical conditions that can either be improved by altering your lifestyle or have better treatment options if caught early." A section titled "Learning about risk is the first step towards prolonged health" explains that the scan provides an overall picture of genetic risk for 47 common diseases. A list of included conditions is partially visible: "an analysis of genetic risk factors for 47 traits and conditions". The price of \$1,100 USD is also shown, along with a "Try Demo" button. The bottom of the page includes a "CUSTOMER SUPPORT & CONSULTATIONS" section with the phone number 1-877-222-6510 and a "Need help? Have a question or a suggestion?" link.

Outras utilizações da informação genética

Utilização forense

Medicina legal

Catástrofes

Base de dados de perfis de ADN com propósitos forenses em Portugal - questões actuais de âmbito ético, prático e político

Investigadores: Helena Machado (coord), Helena Falcão de Oliveira, Manuela Pereira da Cunha, Susana Costa, Filipe Santos e Susana Silva

Financiamento: Fundação para a Ciência e Tecnologia; 2010 - 2013

Condenados identificados pelo ADN com a ajuda do FBI

DN: 18 Março 2009

Justiça. Uma delegação do FBI esteve ontem em Coimbra a instalar o sistema informático que vai dar corpo à primeira base de dados de ADN em Portugal. Até ao final do ano cerca de 6000 condenados a penas de mais de três anos vão ali ficar identificados através da sua informação genética...

ADN ilegal

DN: 07 Jan 2011

As amostras de ADN recolhidas na base de dados do Laboratório da Polícia Científica da Polícia Judiciária de 2002 a 2007 são ilegais. Estas amostras não podem ser usadas em processo penal e terão de ser destruídas.

<http://dnadatabase.ces.uc.pt/index.php>



The screenshot shows the website interface with a navigation menu (Home, Project, People, Documents, Public Consult, Links, News) and a 'Restricted Area' login section. A news article titled 'Forensic DNA databasing in Portugal - contemporary issues in ethics, practices and policy' is displayed, featuring a DNA double helix graphic and a person silhouette. Below the article is a URL: <http://dnadatabase.ces.uc.pt/>

Normas éticas

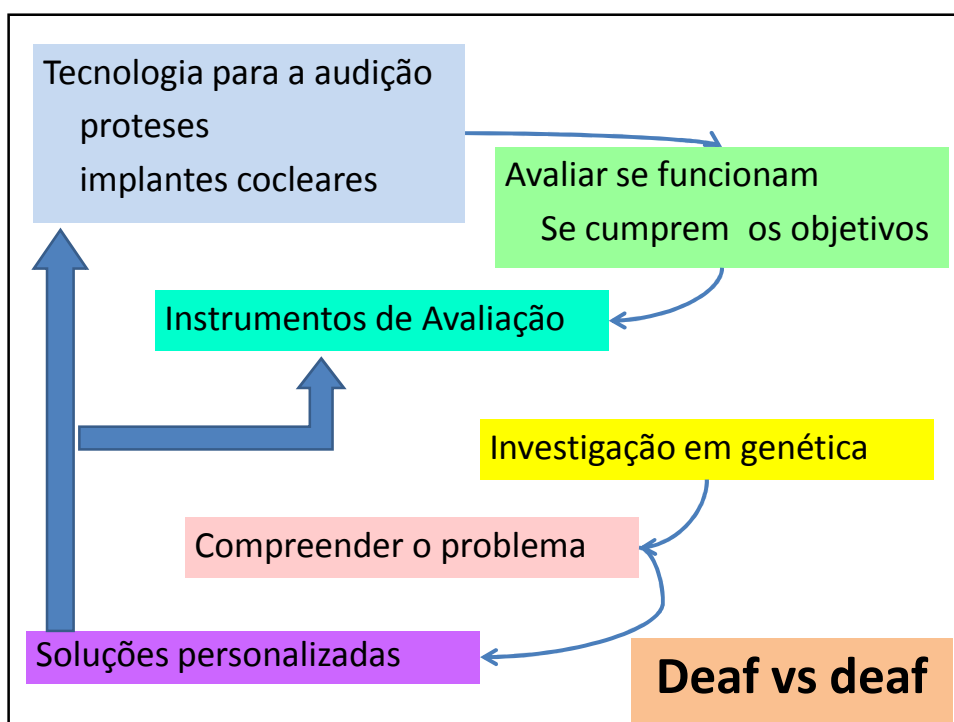
Legislação para a genética

Aceitaria ter o seu perfil de ADN no BI?



Ponto de partida: não ouve
resultado final: consegue ouvir

Procedimentos de qualidade
Avaliar a tecnologia





CENTRO
HOSPITALAR
DE LISBOA
CENTRAL EPE

Obrigada!

Salomé de Almeida
salome.almeida@chlc.min-saude.pt