

A IMPORTÂNCIA DA APLICAÇÃO DA MEDICINA PERSONALIZADA

Leonardo Floriano Faria¹; Carolina Rodrigues de Paula¹; Natália Prearo Moço^{2,6}, Ana Cláudia Conde Peres^{3,6}, Gabriel Capella Machado^{4,6}, Catarina Akiko Miyamoto^{5,6*}

¹ Graduando em Biomedicina das Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS; ² Doutora em Patologia (FMB-UNESP); ³ Mestre em Biologia animal (UFMS); ⁴ Doutor em Ciências Biológicas (Genética) pelo Instituto de Biociências de Botucatu (IBB-UNESP); ⁵ Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica) – USP; Pós-doutorado – Weill Medical College of Cornell University; ⁶ Docente das Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS

* autor correspondente: catarinanyyny@gmail.com

RESUMO

Os avanços recentes da biologia molecular, em especial no campo da medicina genética, têm facilitado de forma significativa o esclarecimento dos mecanismos das doenças humanas. O avanço nos testes genéticos tem o potencial para aplicação de terapias mais efetivas em grupos de indivíduos e populações pela possibilidade de se conhecer a origem e causa molecular da doença. E desta maneira, é possível a prescrição personalizada dos medicamentos necessários de forma específica para cada caso. Em muitos casos, o polimorfismo de sequência gênica pode levar ao desenvolvimento de distúrbios fisiopatológicos e/ou esconder possíveis fenótipos que predispõem os indivíduos a doenças das quais não estão cientes e que podem se manifestar ao longo da vida. Variantes de número de cópias (CNVs) podem ocasionar grandes distinções e/ou heterogeneidade de fenótipos comuns e raros. Desta forma, as CNVs também podem afetar a maneira pela qual as pessoas reagem às drogas, mesmo quando pessoas com casos similares são submetidas às mesmas drogas e tratamentos. Os testes genéticos para enfermidades de origem genética (câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, etc.) têm o benefício de apontar riscos de alguma doença ser gerada mesmo no caso de pessoas saudáveis e/ou melhor adequação de terapias em pessoas já acometidas por alguma das enfermidades citadas.

PALAVRAS-CHAVE: herança genética; genética molecular; sequenciamento gênico; testes genéticos.

1 INTRODUÇÃO

Os avanços recentes da medicina genética molecular e da tecnologia têm facilitado de forma significativa o esclarecimento dos mecanismos das doenças humanas de herança genética e epigenética (SOLIER et al., 2020; RABBANI, 2016).

A aplicação de ensaios biomédicos emergentes, de alto rendimento e intensivos em dados (sequenciamento de DNA, proteômica, protocolos de imagem e dispositivos de monitoramento sem fio) tem revelado uma grande variação interindividual em relação aos efeitos e mecanismos de fatores que contribuem para os processos do desenvolvimento da doença. De fato, atualmente, acredita-se

que a heterogeneidade subjacente de muitos processos fisiopatológicos sugere que há diferentes estratégias individuais para o tratamento e possível monitoramento ou prevenção das doenças. O enfoque deve ser adaptado ou “personalizado” de acordo com a bioquímica, fisiologia, exposição ambiental, e perfil comportamental particular (CDC, 2016; NIH, 2018).

Os testes genéticos atuais têm o potencial em idealizar individualmente o tipo e a posologia do(s) medicamento(s) utilizado(s) para o tratamento da enfermidade, uma vez que o polimorfismo genético leva a diferentes fenótipos. Deste modo, a pesquisa das variantes causais e da farmacogenética pode levar ao desenvolvimento da medicina persona-

lizada (MP). Em outras palavras, a aplicação de testes genéticos amplos e da farmacogenética na clínica médica podem prover terapias eficazes na sociedade em geral, desde pacientes individuais a grupos populacionais (RABBANI, 2016).

Os métodos de sequenciamento de últimas gerações [*Next Generation Sequencing* (NGS) e *Third Generation Sequencing* (TGS)] apresentam o potencial para o estudo do polimorfismo genético populacional e subseqüentes diagnósticos específicos e terapias personalizadas (VAN DIJK et al., 2018).

Os objetivos deste trabalho são descrever os benefícios da genotipagem populacional para (i) prevenção do desenvolvimento de possíveis doenças de heranças genéticas e/ou epigenéticas e (ii) terapia personalizada para amenização dos sinais e sintomas das estabelecidas.

Este projeto baseou-se em revisão bibliográfica da literatura científica nacional e internacional publicada em livros e artigos específicos do tema. A pesquisa foi realizada em plataformas especializadas como PubMed, Scielo e Lilacs. Priorizaram-se artigos recentes (2010-2020), porém os mais antigos com dados relevantes não foram descartados.

2 UMA BREVE HISTÓRIA DA GENOTIPAGEM

Desde os primeiros experimentos, verificou-se que o sequenciamento genômico não seria simples (SHENDURE et al., 2017).

Wu e colaboradores (1968) aplicaram, pela primeira vez, os métodos de prolongamento de iniciadores de oligonucleotídeos para determinar 12 bases das extremidades coesivas do bacteriófago lambda.

Gilbert e Maxam (1973) constataram a existência de 24 bases do sítio de ligação do repressor da lactose (*operon* Lac), por transcrição das mesmas em RNA e subseqüente sequenciamento.

O desenvolvimento da tecnologia do

sequenciamento de DNA fez com que houvesse um aumento extraordinário de dados armazenados no GenBank. Em 1982, houve o depósito de mais de 500 mil bases e até 1986, já havia aproximadamente 10 milhões de bases (SANGER et al., 1982).

Em 1987, foi possível a geração de aproximadamente 1.000 bases diárias em virtude da automatização do método de sequenciamento de Sanger, com a utilização de fluoróforos específicos para a identificação de cada base. Subseqüentemente, houve aumento exponencial de dados sobre sequenciamento genético e estímulo para a criação de centrais de dados, como o GenBank. Assim, as seqüências depositadas puderam ser pesquisadas e analisadas por meio de ferramentas de alinhamento (FASTA, BLAST, etc.). Fatos estes valorizaram o significado de cada seqüência e implementou o espírito de compartilhamento de dados (CONNELL et al., 1987; SMITH et al., 1986).

Amplios fragmentos do genoma humano foram clonados por *hierarchical shotgun* em cromossomos artificiais bacterianos (BACs); estratégia esta utilizada como guia do Projeto Genoma Humano (HGP). Os grandes fragmentos de DNA dos BACs foram clivados, separados por tamanho, subclonados e isolados de forma individual (SHENDURE et al., 2017).

Em 2001, poucos centros acadêmicos de genoma operavam em linhas de produção, de forma automatizada e produção de cerca de 10 milhões de bases por dia. Os montadores TIGR e Celera, mais capacitados em lidar com genomas mais complexos, utilizaram ferramentas como o phrap para o desenvolvimento de *softwares* mais acurados de montagem de genomas (SHENDURE et al., 2017; MYERS et al, 2000; SUTTON et al, 1995).

Em 2004, com equipamentos capazes de produzir de 600-700 pb no valor de US\$ 1, por leitura, novas melhorias se tornaram menos urgente. Deste modo, o futuro do sequenciamento

do HGP em grande escala não era certo, mesmo após com a finalização do mesmo (SHENDURE et al., 2017).

3 MEDICINA PERSONALIZADA

Variantes de número de cópias (CNVs) correspondem a uma mudança estrutural comum e representam 6-19% dos cromossomos (ZARREI et al., 2015). Seres diferentes com a mesma variação estrutural são capazes de apresentar grandes distinções e/ou heterogeneidade de fenótipos comuns e raros. Desta forma, as CNVs também podem afetar a maneira pela qual as pessoas reagem às drogas (MACDONALD et al., 2014; IAFRATE et al., 2004; SEBAT et al., 2004).

Mudanças estruturais do cromossomo são um dos fatores que mais contribuem para o desenvolvimento e/ou progressão de doenças humanas devido aos efeitos adversos funcionais das variações das sequências, conforme o tamanho, local e tipo. Tem sido demonstrado que uma CNV de ≥ 1 kb presente em número variável de cópias em relação ao genoma referência (FEUK et al., 2006) participa em fenótipos humanos para câncer, distúrbios psiquiátricos e defeitos congênitos (BECKMANN et al., 2007; MCCARROLL et al., 2007; ANTONARAKIS et al., 2006).

3.1 Oncologia

A oncologia é uma grande área de interesse para a medicina personalizada, pois o câncer resulta de uma aglomeração do número de mutações em genes de alta relevância, o que leva a alteração(ões) molecular(es). Cerca de 10-15% dos casos de câncer têm origem hereditária, logo com o conhecimento de biomarcadores específicos, a pesquisa de variações gênicas e de CNVs pode determinar o risco de desenvolvimento e prever os prognósticos com maior precisão. Testes genéticos oncológicos têm o benefício de apontar riscos de gerar alguma desordem no caso de pessoas saudáveis

e/ou melhor adequação de terapias em pessoas já acometidas. Devido à caracterização molecular do câncer, há possibilidade em antecipar sua fisiopatologia e elaborar estratégias de tratamento para cada paciente (Di SANZO et al., 2017).

A evolução de métodos de sequenciamento de DNA tem permitido a coleta de informações de grande relevância sobre a heterogeneidade de células intratumorais, principalmente sobre tumores resistentes a drogas. A metodologia de sequenciamento NGS tem sido utilizada para a desenvolvimento de drogas com efeitos terapêuticos mais eficazes para o câncer (SOLIER, 2020).

3.2 Doenças Cardíacas

Vários estudos indicam que as variações clínicas de doenças cardiovasculares (CVDs) estão ligadas a fatores hereditários, como nos casos de predisposição familiar ao infarto do miocárdio, fibrilação atrial e insuficiência cardíaca congestiva. Condições hereditárias incluem calcificação da artéria coronária, pressão arterial sanguínea, colesterol total e índice de massa corporal (Di SANZO et al., 2017).

Conforme a Associação Americana do Coração (*The American Heart Association*), a epidemiologia genômica compreende três categorias de condições cardiovasculares, (I) aterosclerose e infarto do miocárdio, (II) colesterol elevado e outras desordens lipídicas e (III) pressão sanguínea e hipertensão. Além disso, o Instituto Nacional de Coração, Pulmão e Sangue dos Estados Unidos (*The National Heart, Lung and Blood Institute of USA*) sugerem que há possíveis contribuintes genéticos relacionados a doença cardíaca coronária. Estudos genômicos nesse campo de pesquisa correlaciona a influência dos genes em resposta às drogas (LYNCH et al., 2008).

3.3 Diabetes

Altas taxas de hospitalizações são decorrentes de condições induzidas por

estilo de vida e/ou crônicas, como síndrome metabólica, *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2), doenças cardiovasculares e obesidade (VORDERSTRASSE, 2013).

O DM2 é uma desordem metabólica de origem genética e/ou do estilo de vida (fatores ambientais – má alimentação, sedentarismo, obesidade e estresse) (LAWLOR et al., 2017; FLANNICK; FLOREZ, 2016; Singh; Usman; Banerjee, 2016). Resulta da deficiência da produção de insulina pelas células β -pancreáticas (ilhotas de Langerhans) por disfunção ou perda das mesmas (DEFRONZO, 2004) e/ou defeito na cascata de sinalização da insulina (SINGH; USMAN; BANERJEE, 2016).

Por outro lado, a diminuição dos sinais e sintomas do DM2 pode ocorrer por rápidas mudanças socioculturais, atividades físicas frequentes e bons hábitos alimentares (CORREIA et al, 2013).

O conhecimento dos genes envolvidos no DM2 pode levar à prevenção do desenvolvimento da doença por melhoria das estratégias de triagem e melhor adaptação das terapias medicamentosas pela amenização das reações adversas durante tratamentos padrões, porém o estudo genético individual ainda é pouco utilizado (GOETZ; SCHORK, 2018).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação da medicina personalizada nas várias especialidades tem muitas possibilidades benéficas para que o indivíduo possa prezar melhor sua saúde pelo conhecimento da sequência genômica individual.

Tal estratégia pode ser utilizada para se evitar, antecipar e até mesmo melhorar a adequação do tratamento de um possível quadro clínico futuro, independentemente da fase do desenvolvimento etário em que o indivíduo se encontra.

A medicina personalizada adequada aumenta a margem de sucesso de preservação de saúde, otimiza o tempo do tratamento e a escolha de recursos

específicos mais eficientes de forma individual.

REFERÊNCIAS

ALBRECHTSEN, A. et al. Exome Sequencing-Driven Discovery of Coding Polymorphisms Associated With Common Metabolic Phenotypes. *Diabetologia*, v. 56, n. 2, p. 298-310, 2013.

ANTONARAKIS, S. E.; BECKMANN, J. S. Mendelian disorders deserve more attention. *Nature Reviews Genetics*, v. 7, p. 277-282, 2006.

BECKMANN, J. S.; ESTIVILL, X.; ANTONARAKIS, S. E. Copy Number Variants and Genetic Traits: Closer to the Resolution of Phenotypic to Genotypic Variability. *Nature Reviews Genetics*, v. 8, n. 8, p. 639-46, 2007.

CDC. 2016. Disponível em: <https://blogs.cdc.gov/genomics/2016/04/21/shift>.

CONNELL, C. et al. Automated DNA sequence analysis. *Biotechniques*, v. 5, p. 342–348, 1987.

CORREIA, L. G. et al. Diabetes: Factos e Números 2013 – Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes: Sociedade Portuguesa de Diabetologia; 2013.

DeFRONZO, R. A. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Medical Clinics of North America*, v. 88, n. 4, p. 787-835, 2004.

Di SANZO, M. et al. Clinical Applications of Personalized Medicine: A New Paradigm and Challenge. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, v. 18, n. 3, p. 194-203, 2017.

FARBEROV, L. et al. Meeting summary: ethical aspects of whole exome and whole genome sequencing studies

(WES/WGS) in rare diseases. Cambridge University Press, v. 95, n. 2-3, p. 53-56, Jan. 2013.

FEUK, L.; CARSON, A. R.; SCHERER, S.W. Structural variation in the human genome. *Nature Reviews Genetics*, v. 7, p. 85-97, 2006.

FLANNICK, J.; FLOREZ, J. C. Type 2 diabetes: genetic data sharing to advance complex disease research. *Nature reviews genetics*, v. 17, p. 535-549, Jul. 2016.

GILBERT, W.; MAXAM, A. The nucleotide sequence of the lac operator. *Proceedings of National Academy of Sciences. USA*, v. 70, n. 12, p. 3581-3584, Dez. 1973.

GIRAULT, G. et al. High-throughput sequencing of bacillus anthracis in france: investigating genome diversity and population structure using whole-genome snp discovery. *BMC Genomics*, v. 15, n. 288, 2014.

GOETZ, L. H.; SCHORK, N. J. Personalized medicine: motivation, challenges, and progress. *Fertility and Sterility*, v. 109, n. 6, p. 952-963, 2018.

GOODHEAD, I. et al. Whole-Genome Sequencing of *Trypanosoma brucei* Reveals Introgression between Subspecies That Is Associated with Virulence. *Molecular BioSystems*, v. 4, n. 4, p. e00197-213, Aug. 2013.

IAFRATE, A. J. et al. Detection of large-scale variation in the human genome. *Nat Genet*, v. 36, p. 949-51, 2004.

LAWLOR, N. et al. Genomics of Islet (Dys) function and Type 2 Diabetes. *Trends in Genetic*, v. 33, n. 4, p. 244-255, Apr. 2017.

LYNCH, A. I. et al. Pharmacogenetic

association of the NPPA T2238C genetic variant with cardiovascular disease outcomes in patients with hypertension. *JAMA*, v. 299, n. 3, p. 296-307, 2008.

MACDONALD, J. R. et al. The Database of Genomic Variants: a curated collection of structural variation in the human genome. *Nucleic Acids Research*, v. 42, n. D1, p. D986-992, Jan. 2014.

MCCARROL, S. A.; ALTSHULER, D. M. Copy-number variation and association studies of human disease. *Nature Reviews Genetics*, v. 39, p. S37-S42, 2007.

MYERS, E. W. et al. A whole-genome assembly of *Drosophila*. *Science*, v. 287, n. 546, p. 2196-2204, Mar. 2000.

NIH. 2018 disponível em: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/precision-medicine/precisionvspersonalized>.

RABBANI, B. et al. Next generation sequencing: Implications in personalized medicine and pharmacogenomics. *Molecular BioSystems*, v. 12, p. 1818-1830, 2016.

SANGER, F. et al. Nucleotide sequence of bacteriophage lambda DNA. *J. Mol. Biol.* v. 162, p. 729-773, 1982.

SEBAT, J. et al. *Science*, v. 305, n. 5683, p. 525-528, Jul. 2004.

SHENDURE, J. et al. DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature*, v. 550, n. 7676, p. 345-353, 2017.

SINGH, S.; USMAN, K; BANERJEE, M. Pharmacogenetic studies update in type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, v. 7, n. 15, p. 302-315, 2016.

SMITH, L. M.; et al. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature*, v. 18, n. 321, p. 674-679, Jun. 1986.

SOLIER, S.; MÜLLER, S.; RODRIGUEZ, R. Whole-genome mapping of small-molecule targets for cancer medicine. *Current Opinion in Chemical Biology*, v. 56, p. 42-50, 2020.

SUTTON, G. G. et al. TIGR assembler: a new tool for assembling large shotgun sequencing projects. *Genome Science and Technology*, v. 1, n. 1, p. 9-19, 1995.

VAN DIJK, E. L. et al. The third revolution in sequencing technology. *Trends in Genetics*. v. 34, n. 9, p. 666-681, Sep. 2018.

VORDESTRASSE, A. A. et al. Health coaching and genomics – potential

avenues to elicit behavior change in those at risk for chronic disease: protocol for personalized medicine effectiveness study in air force primary care. *Global Advances in Health and Medicine*, v. 2, n. 3, p.26-38, 2013.

WU, R.; KAISER, A. D. Structure and base sequence in the cohesive ends of bacteriophage lambda DNA. *Journal of Molecular Biology*, v. 35, n. 3, p. 523–537, 1968.

ZARREI, M. et al. A copy number variation map of the human genome. *Nature Reviews Genetics*, v. 16, n. 3, p. 172-83, 2015.