



Mapa
Genoma Brasil

Coleta e Registro de Dados em Medicina Genômica

Subprojeto II - Cardiogenética

Livro 4



A Beneficência
Portuguesa
de São Paulo



PROADI-SUS
Programa de Apoio ao Desenvolvimento
Institucional do Sistema Único de Saúde



MINISTÉRIO DA
SAÚDE



Projeto Mapa Genoma Brasil

BP - A Beneficência Portuguesa de São Paulo

Gerente Executivo PROADI SUS:

Dante Dianezi Gambardella

Coordenadora Projeto Mapa Genoma Brasil

Mariana Beraldo da Costa Saad

Coordenador Projeto Qualificação e Treinamento

José Pereira de Souza

Assessoria Técnica

Erika Maria Monteiro Santos

Autoras

Pablo De Nicola

Equipe Qualificação e Treinamento

Cristiane da Fonseca Amancio

Fernando Alves Alencar de Moura

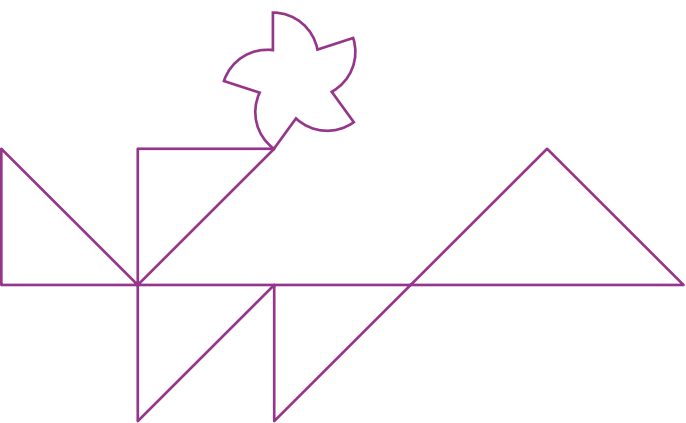
Giovanna Tiemi Goto Forniellles

Luanda Guimarães da Silva

Lucas Campacci

Esta obra é disponibilizada nos termos da Licença Creative Commons – Atribuição – Não Comercial – Compartilhamento pela mesma licença 4.0 Internacional. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte.





Apresentação

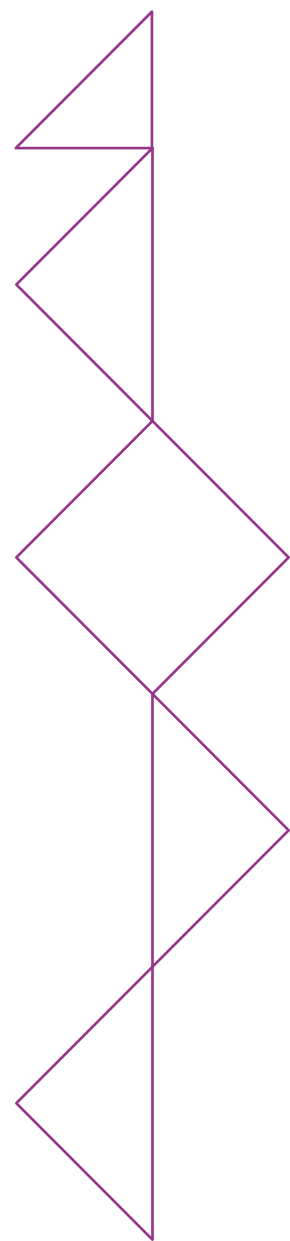
Prezado(a) Colega,

Nesta apostila, abordaremos a unidade intitulada “Complexidade da Informação Genética”.

Esta fase é crucial para assegurar o êxito e a precisão na execução do projeto. Agradecemos pela oportunidade de compartilhar esses conceitos com todos vocês.

Desejamos ótimos estudos!

Atenciosamente,
Equipe Mapa Genoma Brasil



Su má rio



Dicas

- O índice é interativo, permitindo que você seja direcionado para o tópico desejado com um clique.
- Além disso, ao clicar no logo do Mapa Genoma Brasil no topo, você retornará ao índice.

1 Variação genética 05

Variações cromossômicas 06

Variações gênicas 09

2 Variantes genéticas e desenvolvimento de doenças 15

Variantes genéticas quanto ao tipo de alteração na codificação da proteína 16

Variante silenciosa 16

Variante neutra 17

Variante missense 18

Variante sem sentido (ou nonsense) 19

Variante de mudança de leitura (ou frameshift) 20

Classificação das variantes quanto à associação à doença 21

Variante benigna 22

Variante provavelmente benigna 22

Variante de significado incerto (VUS) 22

Variante provavelmente patogênica 22

Variante patogênica 23

Referências 25

1. Variação genética

Como pode ser observado, a organização da informação genética é complexa.

Com a conclusão do sequenciamento do genoma humano, muita atenção tem sido direcionada à descoberta e à catalogação da variação no sequenciamento entre diferentes indivíduos (incluindo tanto indivíduos saudáveis como àqueles com várias doenças) e entre diferentes populações ao redor do mundo.

Há milhares de variantes comuns que são vistas numa frequência significativa em uma ou mais populações. Além disso, há variantes muito raras, muitas das quais provavelmente só existem em somente um ou poucos indivíduos. Todo e qualquer tipo de variação pode influenciar a função biológica e, portanto, deve ser contabilizada em qualquer tentativa de compreender a contribuição da genética à saúde humana (NUSSBAUM, MCINNES, WILLARD, 2016).

Assim, as variações genéticas no DNA são alterações no DNA em relação ao DNA considerado referência. Ou seja, temos uma sequência de um gene que é observada na maioria da população, e podemos observar variações nessa sequência (NUSSBAUM, MCINNES, WILLARD, 2016).

Anteriormente, para alterações no DNA se utilizava o termo mutação. No entanto, uma vez que esse termo está associado à ocorrência de doença, optou-se por alterar o termo para variante genética. Isso porque nem toda alteração genética está associada à ocorrência de doenças.

A maioria das variantes genéticas não

está associada ao desenvolvimento de doenças. Temos variantes genéticas que correspondem a variação entre as pessoas, levando a composição genética única que cada ser humano possui.

Essa diversidade de composição genética entre indivíduos da mesma espécie que contribui para a diversidade fenotípica que observamos. Por exemplo essas alterações no DNA e contribuem para que uma pessoa tenha olhos escuros ou claros, seja mais alta ou mais baixa, tenha cabelos lisos ou ondulados. Esses são apenas alguns exemplos de como essas variantes genéticas podem influenciar as características fenotípicas dos seres humanos e de outras espécies também.

As variantes genéticas podem ser classificadas em em duas categorias: **cromossômicas e gênicas.**

Você sabia?



A trissomia do cromossomo 21, resulta em diversas alterações neurológicas, cardiovasculares, dentre essas, se observa um maior risco no desenvolvimento de tumores hematológicos (leucemias e linfomas).

A criança portadora da Síndrome de Down que desenvolve leucemia, apresenta uma doença de risco elevado para recidivas, uma vez que a doença é mais agressiva.

Variações cromossômicas

As variações que afetam o número de cromossomos de uma célula são chamadas de aneuploidias.

Como exemplo mais conhecido, temos a Síndrome de Down, na qual observamos três (e não duas) cópias do cromossomo 21, sendo observada a trissomia do cromossomo 21 (NUSSBAUM, MCINNES, WILLARD, 2016) (Figura 1) uma sequência idêntica ou uma forma com algumas diferenças, e isso é chamado de alelo.

O indivíduo recebe um dos pares dos cromossomos do pai e o outro, da mãe (NUSSBAUM, MCINNES, WILLARD, 2016).

A Figura 1 apresenta um cariótipo com os 22 autossomos e os cromossomos sexuais.

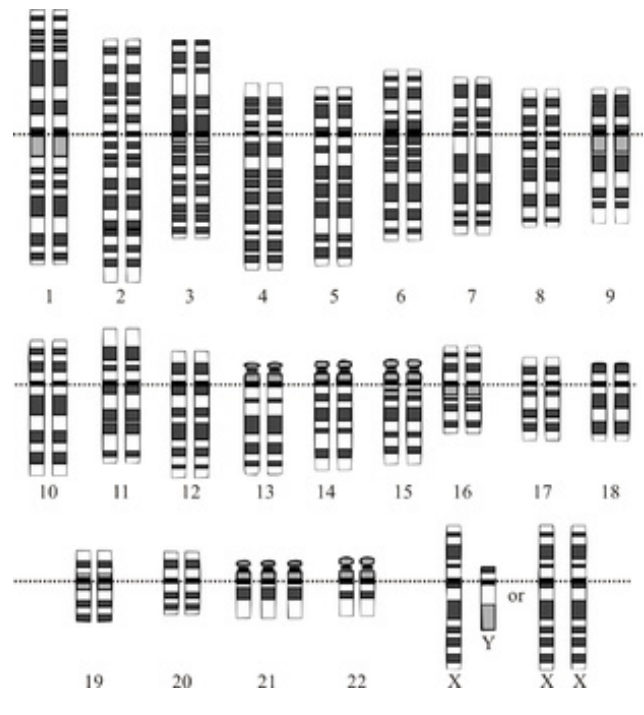


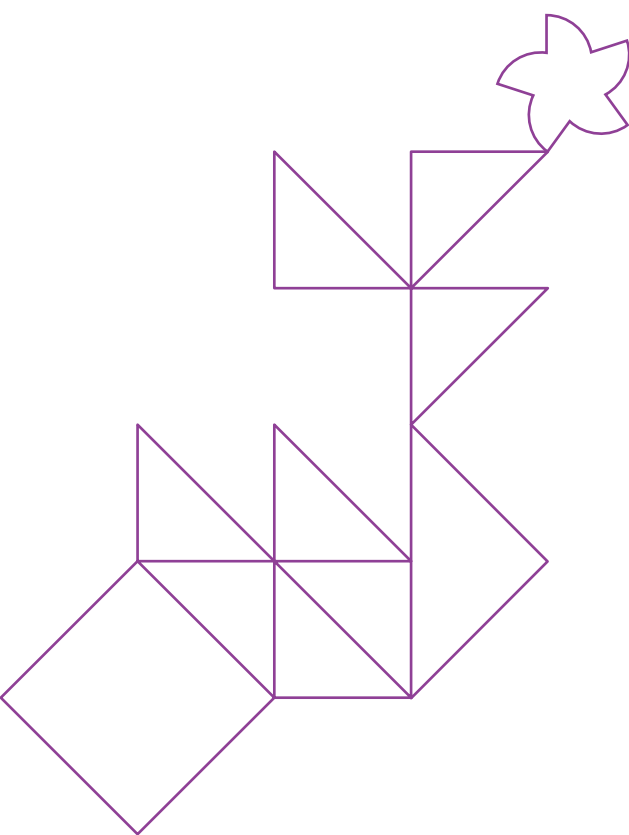
Figura 1 - Mutação genômica – trissomia do cromossomo 21.   possível observar três cromossomos 21 que estão associados à Síndrome de Down.

O ser humano possui 23 pares de cromossomos, sendo 22 autossomos e um par de cromossomos sexuais (XX no sexo feminino e XY no sexo masculino).

A quantidade de cromossomos normal em uma célula é denominada euploidia.

Já as variações gen micas alteram o número de cromossomos, e resultam em uma célula com aneuploidia.

A aneuploidia é uma característica observada na célula neoplásica, uma vez que o tumor cresce de forma desorganizada, tem o DNA desorganizado, resultando em células com quantidade anormal de cromossomos.



Alterações cromossômicas estruturais

As alterações cromossômicas estruturais caracterizam-se por alterações da morfologia dos cromossomos. Elas podem ser do tipo deleção, duplicação, inversão e translocação. Nas deleções ocorre quando um fragmento do cromossomo é perdido e, consequentemente os genes daquela região. Nas duplicações um segmento do cromossomo é duplicado. Quando ocorre a inversão de um fragmento do cromossomo, constitui-se uma inversão. Já no caso das translocações, um fragmento de um cromossomo é translocado para outro cromossomo. Na figura 2 observa-se as principais alterações estruturais cromossômicas descritas acima. (NUSSBAUM, MCINNES, WILLARD, 2016). Dentre as variações cromossômicas, podemos citar a translocação entre o cromossomo 9 e o cromossomo 22. Nesta translocação, observamos quebra e troca de material entre os dois cromossomos.

Essa translocação dá origem ao cromossomo Filadélfia (Ph+), que foi

descrito em 1976 como causador de leucemia mieloide crônica. A leucemia mieloide crônica pode ocorrer em razão a uma proteína de fusão BCR-ABL. A proteína de fusão ocorre porque no cromossomo está o gene BCR e no cromossomo está o gene ABL. Na forma normal, portanto, esses genes produzem a proteína BCR e a ABL de forma separada. Com a translocação, a sequência do gene BCR recebe a sequência do gene ABL, formando a sequência BCR-ABL, que leva a produção de uma proteína BCR-ABL. Essa proteína estimula as células da linhagem mieloide (leucócitos), o que leva a uma proliferação exagerada, com o desenvolvimento da leucemia mieloide. A compreensão desse exemplo é importante, porque a partir do entendimento do mecanismo que causa a leucemia mieloide crônica, os cientistas conseguiram desenvolver uma droga-alvo para tratamento da doença.

Você sabia?

O imatinibe (nome comercial Glivec®) é chamado de inibidor de tirosina-quinase, porque ele inibe uma reação química causada pela tirosina que está na proteína BCR-ABL. Com isso, ele interrompe a formação da proteína que estimula a proliferação das células leucêmicas.



A Figura 2 apresenta diversos tipos de alterações cromossômicas.

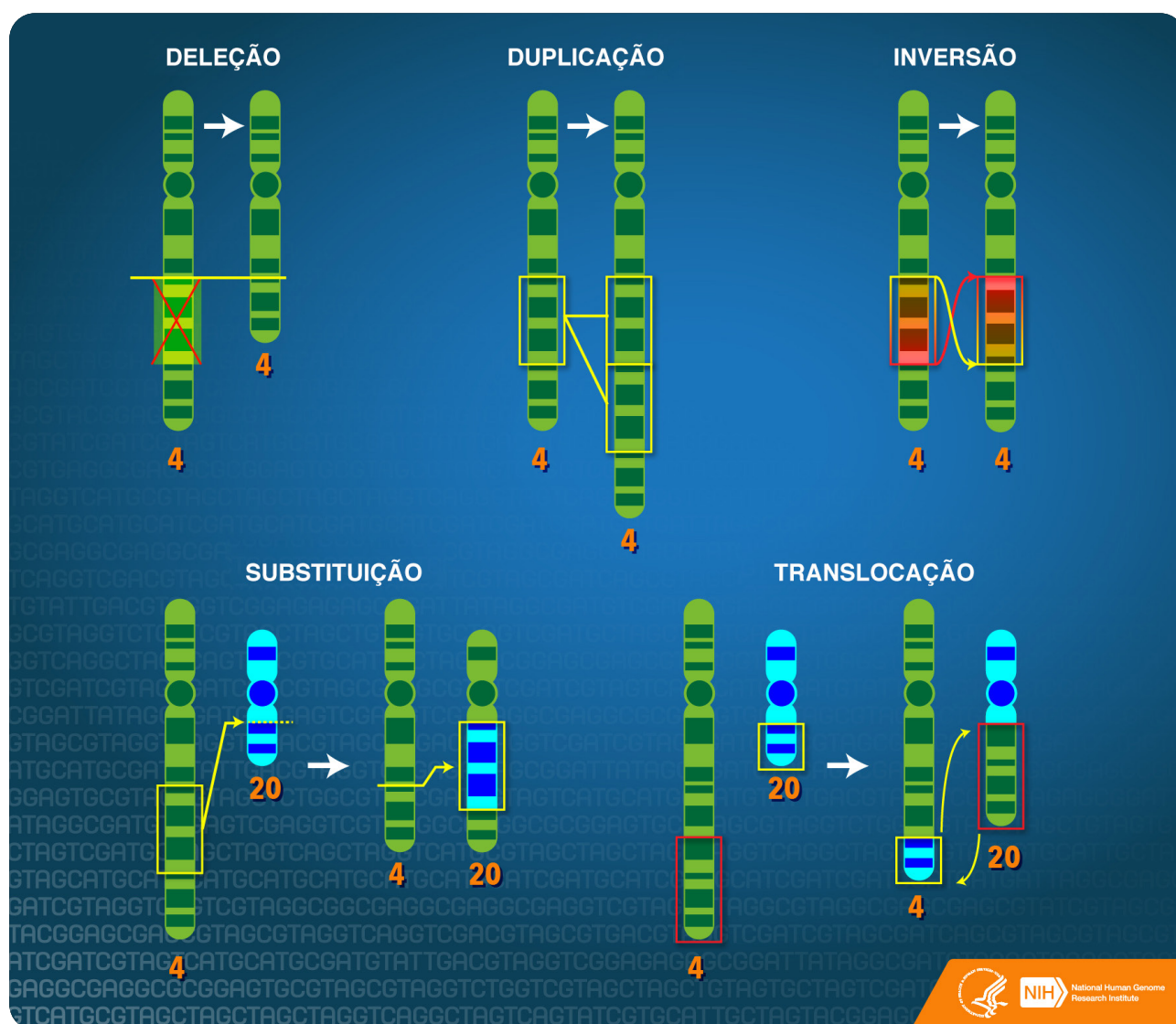


Figura 2 - Diferentes tipos de alterações cromossômicas. Crédito: National Human Genome Research Institute (NHGRI) from Bethesda, MD, USA, CC BY 2.0 <<https://creativecommons.org/licenses/by/2.0>>, via Wikimedia Commons

Variações gênicas

As variações gênicas (conhecidas como mutações), também são chamadas de variantes pontuais, ou variantes de ponto; alteram genes individuais e resultam em mudanças em uma única base de DNA até milhares de pares de base, mas em escala pequena para ser detectada através de análise citogenética (NUSSBAUM, MCINNES, WILLARD, 2016).

A mudança de uma única base pode ter um grande efeito, a depender de qual gene está sendo alterado, região do gene e também de como afetará a expressão da proteína codificadora desse gene.

As variantes gênicas podem alterar a estrutura das proteínas, seu nível de expressão nas células, como elas se ligam a outras moléculas. Essas alterações podem comprometer mecanismos celulares que acabam resultando no desenvolvimento de doenças (NUSSBAUM, MCINNES, WILLARD, 2016).

Os tipos de variantes incluem as seguintes:

1. Substituição

Este tipo de variante substitui um nucleotídeo do DNA por outro. As variantes de substituição podem ainda ser classificadas pelo efeito que têm na produção de proteína a partir do gene alterado (Figura 3).

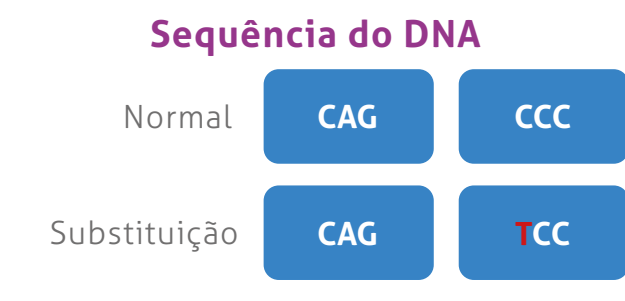


Figura 3 - Substituição de uma citosina (C) por uma timina (T).

2. Inserção

Uma inserção altera a sequência de DNA adicionando um ou mais nucleotídeos ao gene. Como resultado, a proteína produzida a partir do gene pode não funcionar corretamente. A Figura 4 apresenta um esquema sobre a inserção de uma timina na sequência do DNA.

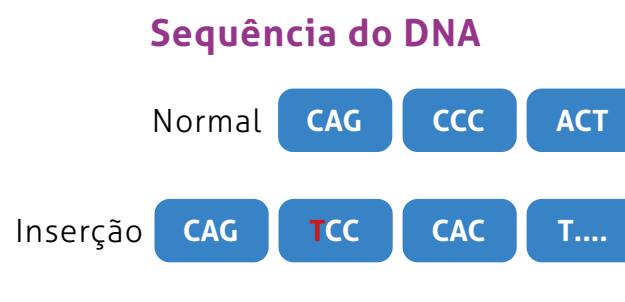


Figura 4 - Variação gênica com a inserção de um nucleotídeo (Adenina) e a alteração da sequência do DNA e nos aminoácidos que serão codificados.

3. Deleção

Uma deleção altera a sequência de DNA removendo pelo menos um nucleotídeo em um gene. Pequenas deleções removem um ou alguns nucleotídeos dentro de um gene, enquanto deleções maiores podem remover um gene inteiro ou vários genes vizinhos. O DNA deletado pode alterar a função da proteína. A Figura 5 apresenta a deleção de um único nucleotídeo e a alteração na sequência dos aminoácidos codificados.

Sequência do DNA

Normal	CAG	CCC	ACT
Deleção	CAG	CCA	CTC

Figura 5 - Deleção de uma citosina (C) que altera a sequência do DNA.

4. Inserção-Deleção

Esta variante ocorre quando uma deleção e inserção ocorrem ao mesmo tempo no mesmo local no gene. Pelo menos um nucleotídeo é removido e pelo menos um nucleotídeo é inserido. No entanto, a mudança deve ser complexa o suficiente para diferir de uma simples substituição. A proteína resultante pode não funcionar corretamente. Uma variante de inserção-deleção também pode ser conhecida como uma variante de inserção-deleção (indel)(Figura 6).

Sequência do DNA

Normal	CAG	CCC	ACT
Inserção-Deleção	CAG	TCA	CT...

Figura 6 - Inserção de uma timina (T) e deleção da citosina (C).

5. Duplicação

Uma duplicação ocorre quando um trecho de um ou mais nucleotídeos em um gene é copiado e repetido próximo à sequência de DNA original. Esse tipo de variante pode alterar a função da proteína feita a partir do gene. A Figura 7 apresenta a duplicação de um fragmento de DNA.

Sequência do DNA

Normal	CAG	CCC	ACT
Duplicação	CAG	CCC	ACT CAG CCC ACT

Figura 7 - Variação gênica duplicação de um fragmento de DNA

6. Inversão

Uma inversão altera mais de um nucleotídeo em um gene, substituindo a sequência original pela mesma sequência em ordem inversa.

Aplicação do conhecimento na prática clínica

Os genes BRCA1 e BRCA2 são genes de reparo do DNA cuja função é impedir o surgimento de tumores por meio da reparação de moléculas de DNA danificadas. Estes genes, portanto, são responsáveis pela nossa proteção ao aparecimento de tumores. Mas, quando uma das cópias do gene BRCA1 ou BRCA2 sofre uma alteração pontual germinativa, pode perder a capacidade protetora, o que torna seu portador mais suscetível ao desenvolvimento de tumores malignos, como câncer de mama, ovário, próstata e câncer de pâncreas.

Na Figura 8 apresentamos um exemplo de relatório de um teste genético germinativo que mostrou uma variante

pontual (deleção do nucleotídeo número 4638) no gene BRCA2. Isso causou uma alteração na proteína, e a variante foi considerada patogênica (veremos o significado disto no capítulo seguinte desta semana). O exame da paciente também demonstra uma alteração no gene PALB2 que foi classificada como de significado incerto (neste gene ocorreu uma substituição de timina por citosina).

Como sabemos desta mudança no teste genético? Pelo que chamamos de notação da variante. Ela é feita de acordo com os padrões da literatura. Assim, no gene BRCA2 está a notação c.4638del - o "c" representa que a alteração foi observada no DNA codificante, já o "del" representa deleção. Já no PALB2 está a notação c.2482T>C, o sinal ">" representa a substituição de um nucleotídeo.

Resultado do Teste Genético Germinativo

Dados de Identificação

Nome do paciente: MAS

Data de nascimento: 18/02/1976

Data de coleta: 10/03/2022

Sexo: Feminino

Registro: 4829529

Data do relatório: 12/04/2022

Dados do exame

Razão para realização do teste: teste diagnóstico para história pessoal ou familiar da doença

Teste genético realizado: análise do sequenciamento e deleção ou duplicação de 80 genes de predisposição ao desenvolvimento de câncer

Tipo de Amostra: Sangue periférico

RESULTADO DO TESTE GENÉTICO: POSITIVO

Uma variante patogênica identificada em BRCA2. O gene BRCA2 está associado à síndrome hereditária autossômica dominante de câncer de mama e ovário e a síndrome autossômica recessiva de anemia de Fanconi. Também foi identificada uma variante adicional de significado incerto em PALB2.

Gene	Variante	Ziaozidade	Classificação da Variante
BRCA2	c.4638del (p.Phe1546Leufs*22)	Heterozigose	Patogênica
PALB2	c.2482T>C (p.Cys828Arg)	Heterozigose	Significado incerto

Sobre este teste genético

Este teste avalia 80 genes para variantes (mudanças) que são associadas com doenças genéticas. O teste genético quando combinado à história familiar e outros exames pode fornecer informação para esclarecer o risco individual, suporte ao diagnóstico clínico, e auxiliar na definição de tratamento personalizado e estratégia de manejo.

Figura 8 - Relatório do resultado do teste genético de uma paciente submetida ao teste de predisposição ao câncer.

Qual a importância do teste genético para o paciente?

A partir deste teste genético é possível identificar que a paciente apresenta alto risco para desenvolvimento de tumores.

Indivíduos que nasceram com uma variante patogênica no gene BRCA2 apresentam um maior risco de desenvolverem câncer ao longo da vida, chegando ao risco de 69% para o câncer de mama, 17% para o câncer de ovário, 27% para o câncer de próstata e 2,5% para o câncer de pâncreas. Além disso, o risco para câncer de mama em homens portadores destas variantes é de 3,8% ao longo da vida.

Assim, a equipe de saúde consegue sugerir medidas que tenham como objetivo a redução de risco de desenvolvimento de câncer. Estudos apontam também para benefícios com a terapia-alvo em relação à resposta e sobrevida.

Aplicação do conhecimento da prática clínica da cardiologia

A Cardiomiopatia Hipertrófica (CMH) é caracterizada macroscopicamente por hipertrofia ventricular esquerda na ausência de outras causas, como anormalidades estruturais, hipertensão arterial sistêmica ou hipertrofia fisiológica devido ao treinamento esportivo rigoroso (coração de atleta), e microscopicamente por desarranjo dos cardiomiócitos e fibrose. Apresenta uma grande variedade de fenótipos, como morte súbita e prematura causada por

arritmia ventricular, até a presença da hipertrofia característica em pacientes mais velhos. A incidência de CMH na população geral é de aproximadamente 0,2% (1:500), sendo a forma hereditária mais prevalente.¹

A CMH é transmitida de forma autossômica dominante e possui penetrância incompleta. É causada principalmente por variantes patogênicas nos genes que codificam os componentes do sarcômero cardíaco, unidade de contração muscular. Porém já foram descritas mutações em proteínas do disco Z e moduladoras de cálcio que também podem causar a doença. Diversos estudos mostraram que mutações patogênicas que causam CMH são encontradas predominantemente em genes relacionados aos sarcômeros e o citoesqueleto celular, como as miosinas, troponinas, titinas e actininas.

Mutações em genes que codificam proteínas que participam do metabolismo também podem causar hipertrofia do ventrículo esquerdo, mimetizando o fenótipo da CMH e requerem terapias específicas. Essas doenças consideradas fenocópias apresentam similaridades na avaliação ecocardiográfica, porém na avaliação histopatológica não há presença de desarranjo do miocárdio. Temos como exemplo a doença de Fabry que é um distúrbio raro do metabolismo de glicoesfingolípídeos resultado da deficiência da enzima alfa-galactosidase causada por variantes patogênicas no gene GLA. Por ser localizado no cromossomo X, a doença de Fabry possui um padrão de herança ligado ao cromossomo X e afeta principalmente indivíduos do sexo masculino e o tratamento consiste na

reposição de enzima alfa-galactosidase. Nestes casos, o teste genético é uma importante ferramenta no esclarecimento da etiologia da doença e desfecho de tratamento, além do manejo de familiares potencialmente portadores da doença.²

Na figura 9 vemos um exemplo de um relatório de um teste genético de um paciente de 29 anos do sexo masculino com hipertrofia cardíaca. A intenção do médico ao solicitar o teste genético era esclarecer se a hipertrofia cardíaca de seu paciente possuía etiologia genética e poderia ser transmitida para seus filhos.

+ RESULT: POSITIVE			
One Pathogenic variant identified in GLA. GLA is associated with X-linked Fabry disease.			
Additional Variant(s) of Uncertain Significance identified.			
GENE	VARIANT	ZYGOSITY	VARIANT CLASSIFICATION
GLA	c.1066C>T (p.Arg356Trp)	hemizygous	PATHOGENIC
ALPK3	c.1502C>A (p.Ala501Asp)	heterozygous	Uncertain Significance
BAG3	c.1585G>T (p.Ala529Ser)	heterozygous	Uncertain Significance

Figura 9 - Exemplo de um relatório de um teste genético.

O resultado de teste foi uma surpresa para o médico desse paciente: a hipertrófica ventricular dele é causada por uma variante missense (substituição de um nucleotídeo que leva a troca de um aminoácido) no gene GLA que codificar a proteína alfa-galactosidase – a troca de uma Arginina na posição da proteína 356 para um Triptofano.

Este gene encontra-se no cromossomo X. Como o paciente é do sexo masculino e seus cromossomos sexuais são XY, a única cópia do gene GLA que ele possui tem uma variante patogênica que faz com que a proteína GLA não funcione direito, causando uma doença de depósito de glicogênio chamada doença de Fabry.

Felizmente, há medicações específicas para a doença, que consiste na reposição dessa enzima.

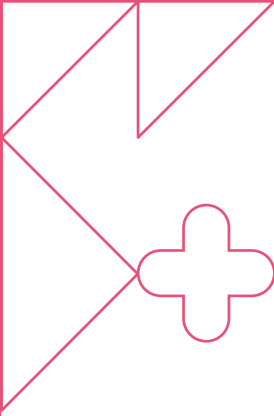
mesmo tratamento precoce.

Esclarecer se uma hipertrofia ventricular é causada por variantes nos genes sarcoméricos ou no gene da enzima alfa-galactosidase (GLA, que causa doença de Fabry), pode permitir terapias direcionadas, como a reposição da enzima alfa-galactosidase.

Qual a importância do teste genético nesse contexto?

Os benefícios do teste genético são muitos e abrangem diversos aspectos. Dependendo da doença em questão, ele pode afetar o diagnóstico, prognóstico e a tomada de decisão terapêutica, planejamento familiar além de poder identificar membros da família que estão sob risco através da abordagem de rastreamento familiar em cascata.

O resultado genético pode direcionar o clínico quanto ao melhor manejo do paciente através da estratificação de risco, recomendação de implantação de dispositivos ou cirurgia, ou até



2. Variantes Genéticas e o Desenvolvimento de Doenças

O estudo da variação genética e genômica é o pilar conceitual para a genética na medicina e para o campo mais amplo da genética humana.

Durante o curso da evolução, o fluxo constante de nova variação de nucleotídeos tem assegurado muita diversidade genética, e este tema se estende através de todos os campos da genética médica e humana.

A diversidade genética pode manifestar-se como diferenças na organização do genoma, como alterações de nucleotídeos na sequência do genoma, como variações no número de cópias de grandes segmentos de DNA genômico, como alterações na estrutura ou na quantidade de proteínas encontradas em vários tecidos, ou como qualquer um destes no contexto de doenças clínicas (NUSSBAUM, MCINNES, WILLARD, 2016).

Variantes genéticas quanto ao tipo de alteração na codificação da proteína

As variações genéticas são classificadas de duas formas: primeiro de acordo com o tipo de alteração na codificação da proteína, e depois se a variação está associada ao desenvolvimento de uma doença (NUSSBAUM, MCINNES, WILLARD, 2016).

Variante silenciosa

Neste tipo de variante, ocorre a mudança na sequência do DNA, mas não altera o aminoácido da proteína. Ou seja, a variante codifica o mesmo aminoácido. Por exemplo, temos um trio de bases (códon) CGC e ocorre uma mudança para CGA. Não há alteração no aminoácido, porque os dois codificam o aminoácido arginina. A Figura 9 apresenta uma variante silenciosa.

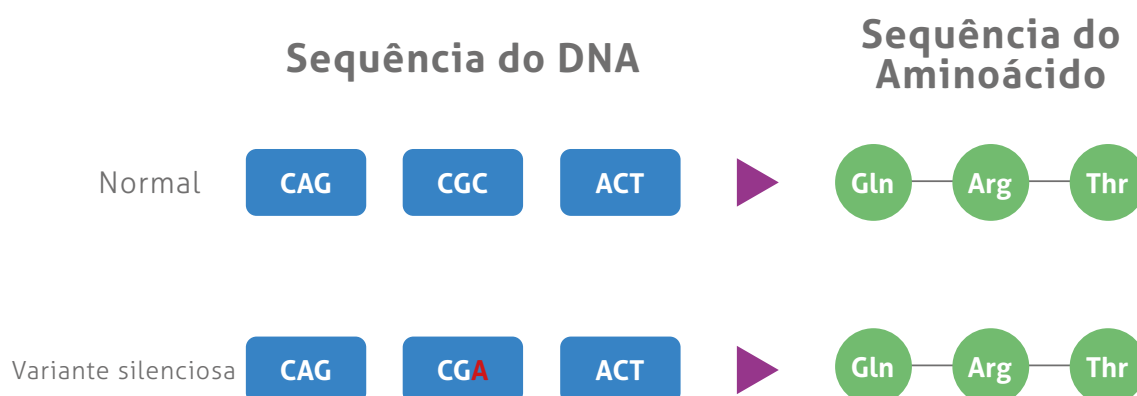


Figura 9 - Variante silenciosa: a substituição de uma citosina por uma adenina não altera o aminoácido. Isso porque o aminoácido arginina é inserido na tradução tanto pelo códon "CGC" tanto pelo códon "CGA".

Variante neutra

Na variante neutra observamos a alteração na sequência do DNA, com alteração de um códon, com a substituição por aminoácido quimicamente semelhante. Por exemplo, o códon AAA é responsável pela codificação do aminoácido arginina. Se ocorre uma alteração para AGA, o aminoácido a ser codificado é a lisina.

Os aminoácidos arginina e lisina são quimicamente semelhantes, e podem não alterar a função da proteína (Figura 10).

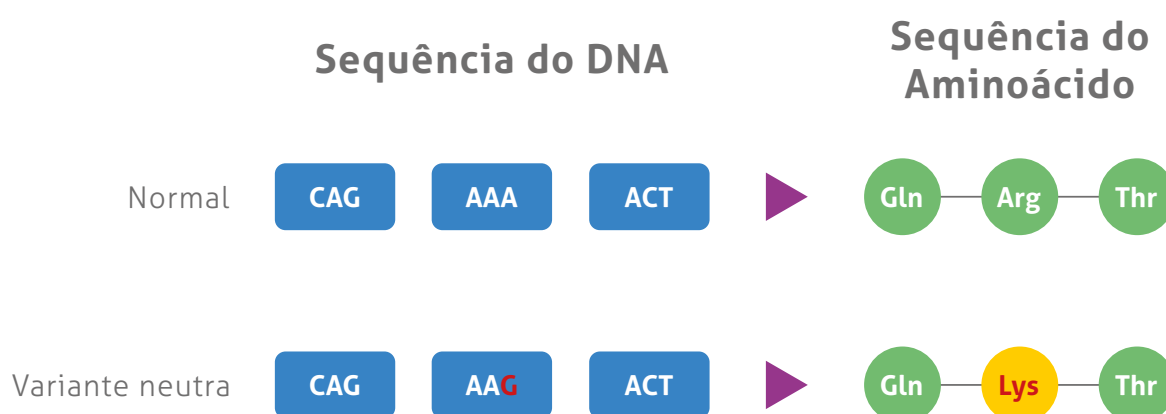
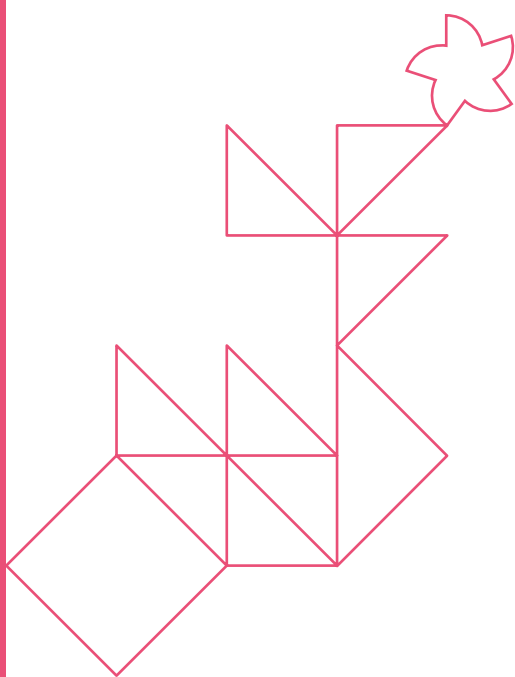


Figura 10 - Variante neutra: neste exemplo, verificamos a substituição de uma adenina (A) por uma guanina (G). O aminoácido a ser codificado muda de arginina para lisina. A variante é considerada neutra porque a arginina e lisina são semelhantes sem sua estrutura química.



Variante missense

Neste tipo de variante a alteração do DNA leva a alteração de um aminoácido na proteína. Essa alteração de um aminoácido pode não causar efeito na função da proteína. No entanto, temos variações que causam alteração da proteína, como exemplo, podemos citar a doença falciforme. Nessa doença, o indivíduo apresenta alteração nas duas cópias do gene da cadeia beta da hemoglobina. No sexto códon (os códons são trios de bases que fornecem o código para um aminoácido) ocorre uma alteração de GAG para GTG. Com isso, o aminoácido ácido glutâmico é substituído pela valina. Essa alteração é suficiente para alterar a proteína da hemoglobina, levando a formação de hemácias em forma de foice, que levam à doença falciforme (Figura 11).

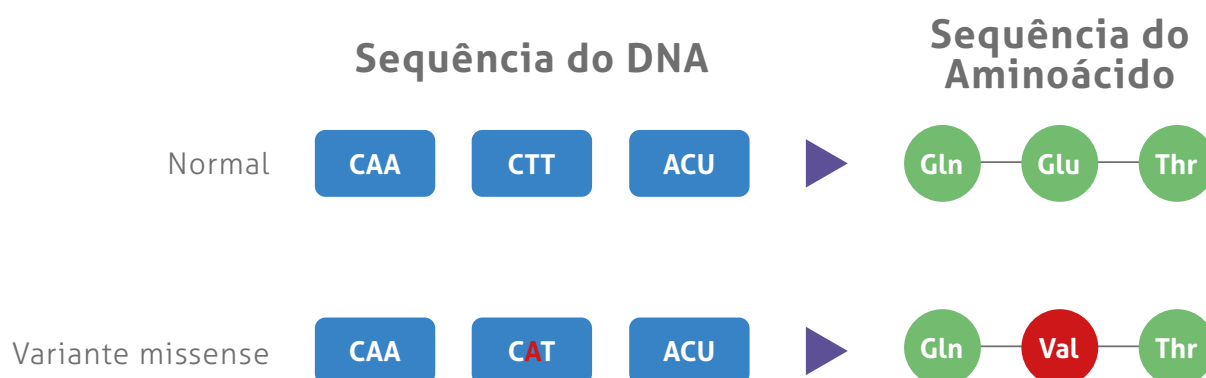


Figura 11 - Variante missense que pode levar ao desenvolvimento da anemia falciforme. A substituição de um nucleotídeo (timina substituída por adenina) leva a mudança no aminoácido codificado (ácido glutâmico é substituído pela valina). Com isso, o paciente apresenta uma hemoglobina que provoca a mudança na conformação das hemáticas. A anemia falciforme tem herança autossômica recessiva, dessa forma a manifestação da doença ocorre se o indivíduo apresenta as duas cópias do gene alterada.

Variante sem sentido (ou nonsense)

Nesta alteração, a mudança da base causa uma interrupção na produção da proteína. Isso ocorre porque temos alguns códon (UAA, TAG, TGA) que indicam que a proteína deve interromper a adição de aminoácidos. Por exemplo, a variante c.188T>A (p. Leu63Ter) no gene BRCA1, significa que na posição 188 do gene, ocorreu uma troca de uma base T (timina) por A (adenina). Com isso no códon 63, uma leucina é substituída por um códon de terminação. Assim, a proteína BRCA1 deixa de ser produzida após o códon 63, o que a torna sem função (Figura 12).

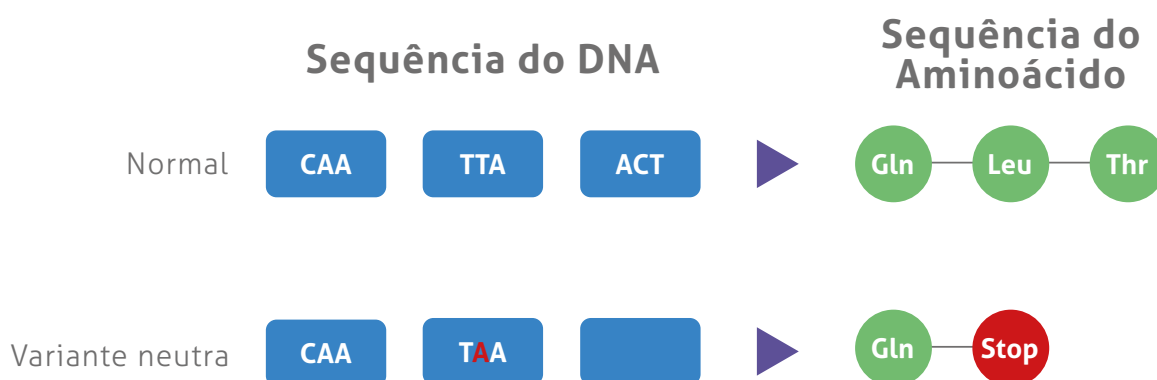


Figura 12 - Variante nonsense. Ocorreu a substituição de uma timina por uma adenina. Com isso, a codificação do aminoácido leucina é substituído por um códon de parada (stop códon), o que leva ao encurtamento da proteína.

Variante de mudança de leitura (ou frameshift)

Também é conhecida como variante frameshift. Nesta variante, pode ocorrer uma deleção, adição ou troca de base (ou bases) que mudam toda a leitura do DNA. Como exemplo, a variante c.5266dupC (p. Gln1756Profs) no gene BRCA1 é uma variante de mudança de leitura. Nesta variante, na posição do DNA 5266 ocorre uma duplicação de uma citosina (C). Essa base C a mais “empurra todo o DNA” e influencia a leitura para a fabricação dos aminoácidos. Assim, no códon 1756, onde originalmente estava uma glutamina (Gln), ocorre uma mudança para prolina e logo após, ocorre a parada da proteína. Assim, essa variante leva a interrupção da proteína após o códon 1756, que a torna sem função. A Figura 13 demonstra um exemplo da variante de mudança de leitura (frameshift).

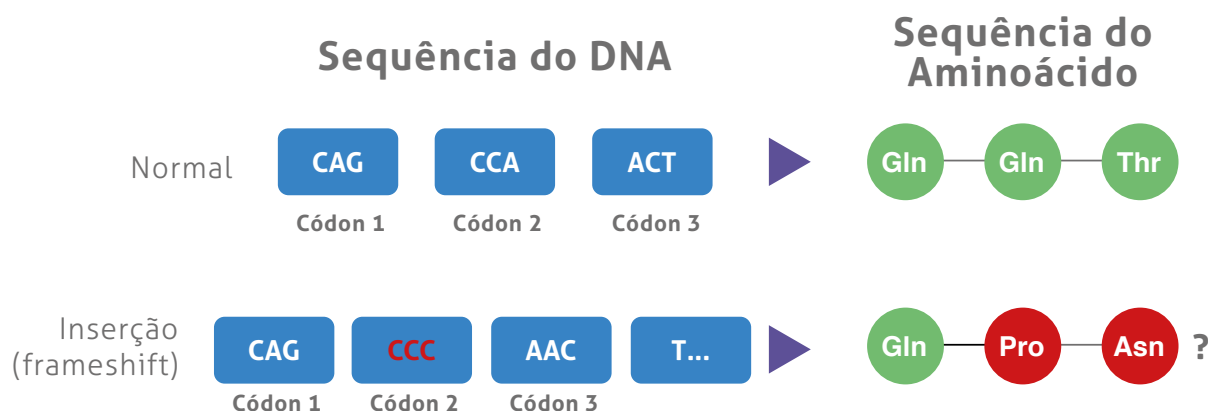


Figura 13 - Variante frameshift: uma citosina é adicionada à sequência do DNA e com isso, desloca toda a sequência. A glutamina é substituída pela prolina, e os demais aminoácidos da cadeia, e leva em algum momento, a interrupção da proteína.

Vamos retomar a aplicação do conhecimento na prática clínica?

A Figura 8 apresentou um exemplo de relatório de um teste genético germinativo. Neste relatório, verificamos que a paciente apresentou duas alterações genéticas: uma no gene BRCA2 c.4638del (p.Phe1546Leufs*22) e outra no gene PALB2 c.2482T>C (p.Cys828Arg).

Vimos antes a alteração na sequência do DNA. Agora conseguimos compreender a alteração na proteína.

Na variante em BRCA2, verificamos a notação “p.Phe1546Leufs*22”. O que isso significa: o “p” representa a alteração ao nível proteico.

Assim, verificamos que o aminoácido fenilalanina (Phe) na posição 1546 é substituída por uma leucina (Leu) e o deslocamento da leitura (fs) leva a um aminoácido de terminação 22 aminoácidos depois (a interrupção da proteína é representada pelo “*”).

Já na variante no gene PALB2 a substituição da timina pela citosina, leva a

substituição do aminoácido cisteína pelo aminoácido arginina na posição 828.

Essas alterações causam a doença?

Veremos a aplicação dos conceitos a seguir.

Classificação das variantes quanto à associação à doença

No relatório de um teste genético verificamos duas questões: qual a alteração genética que ocorreu (a alteração no DNA e a repercussão na codificação da proteína) e se a alteração pode ser relacionada ao desenvolvimento de uma doença.

Para classificar as variantes, os laboratórios utilizam as diretrizes do ACMG (Colégio Americano de Genética Médica e Genômica). Essas diretrizes, baseadas em um conjunto de características moleculares, clínicas e de literatura, classifica as variantes de acordo com o seu potencial para o desenvolvimento de uma doença (ou aumento no risco para desenvolver a doença de interesse).

As variantes são classificadas em cinco categorias (Figura 14).

Categorias de classificação de variantes genéticas da ACMG

Benigna	Provavelmente Benigna	Significado Incerto (VUS)	Provavelmente patogênica	Patogênica
Definitivamente não causa doenças	Pelo menos 90% de probabilidade de não causar doenças	O efeito no organismo ainda é desconhecido	Pelo menos 90% de probabilidade de causar doenças	Definitivamente causa doenças

Figura 14 - Classificação das variantes genéticas de acordo com a ACMG.

Variante Benigna

A alteração identificada não causa doença ou risco de desenvolvimento de doenças. Faz parte da variação genética, e não é reportada no relatório do teste genético (RICHARDS et al 2015).

Variante Provavelmente Benigna

Nesta variante, as características apontam para uma probabilidade de 90% para que a variante não seja causadora de doença ou aumento no risco.

Essas variantes, geralmente, são classificadas para benignas na medida em que o conhecimento sobre a variante aumente e novas evidências científicas possam ser agregadas.

Elas não são incluídas nos relatórios do teste genético (RICHARDS et al 2015).

Variante de Significado Incerto (VUS)

Foi identificada uma alteração genética, mas o efeito no organismo é desconhecido. Ou seja, não se tem evidências suficientes para classificar essa variante como benigna ou patogênica (RICHARDS et al 2015).

Essa variante, geralmente, é reportada nos relatórios do teste genético.

Ela pode ser reclassificada para benigna ou patogênica de acordo com o maior conhecimento sobre seus efeitos no organismo (maiores evidências científicas) (RICHARDS et al 2015).

Variante Provavelmente Patogênica

Nesta variante, as características apontam para uma probabilidade de 90% para que a variante seja causadora de doença ou aumento no risco. Essas variantes, geralmente,

são classificadas para patogênicas na medida em que o conhecimento sobre a variante aumente e novas evidências científicas possam ser agregadas.

Elas são incluídas no relatório do teste genético (RICHARDS et al 2015).

Variedade Patogênica

A alteração identificada é associada com doença ou risco de desenvolvimento de doenças. Ela é incluída no relatório do teste genético (RICHARDS et al 2015).

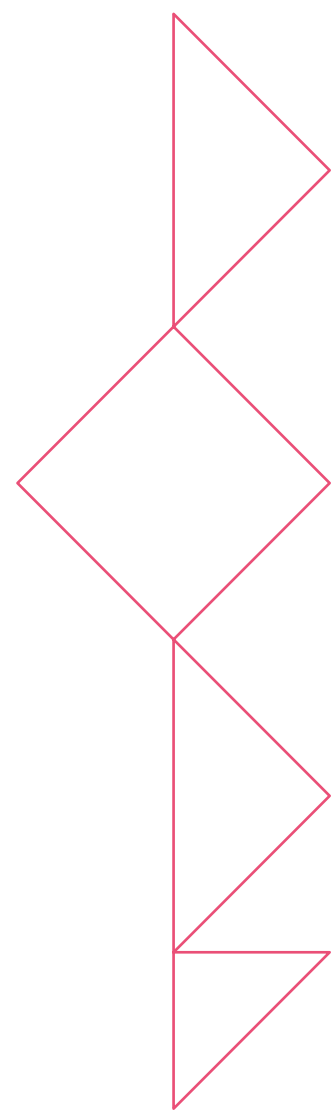
Classificação das Variantes em Somática ou Germinativa

Esta classificação é utilizada nas amostras de pacientes com câncer. As neoplasias são por definição uma doença genética, uma vez que são o resultado de alterações nos genes. Entretanto, é possível observar alterações genéticas apenas no tecido tumoral. Quando a variante é observada no DNA germinativo (ou constitutivo), ela é classificada como germinativa (NUSSBAUM, MCINNES, WILLARD, 2016).

A variedade somática tem esse nome porque ela ocorre no tecido (prefixo "soma") tumoral. Por exemplo, é possível observar uma variedade no BRCA1 apenas no tumor de uma paciente com câncer de mama. Se essa variedade ocorre apenas no tumor de mama, a paciente não pode passar a alteração para seus descendentes (portanto, ela não é uma variedade hereditária). Portanto, seus filhos não estão sob risco de herdar a variedade.

A variedade germinativa está presente no óvulo e no espermatozoide da paciente, portanto pode ser passada para os filhos. Ela pode ser originada de duas formas – ou a pessoa recebe a alteração do pai ou da mãe; ou ela ocorre ainda nas primeiras fases da formação do embrião. Como todas as nossas células são originadas da junção do óvulo e espermatozoide, todas as células da pessoa têm a variedade. Por exemplo, se você observa que uma mulher apresenta uma variedade germinativa no BRCA1, isso quer dizer, que ela recebeu a alteração do pai ou da mãe, e que todos as suas células apresentam a alteração genética, incluindo o óvulo.

Portanto, temos uma doença hereditária e a paciente pode passar essa alteração para seus filhos (veremos isso em detalhe na parte da oncogenética).



Dica do Professor

A maioria dos tumores (90%) é formada pelo acúmulo de variantes somáticas. Esses tumores são chamados de esporádicos, e as variantes observadas são consequência do envelhecimento e de agressões causadas pelos agentes externos (os carcinógenos). Cerca de 10% dos tumores são chamados de tumores hereditários. Isso porque são consequência de variantes transmitidas que estão no óvulo ou espermatozoide. Se a paciente apresenta a variante germinativa no gene BRCA1, por exemplo, ela pode transmitir essa variante para seus filhos. A identificação dessas variantes é fundamental para o processo de orientação às famílias com alto risco para desenvolvimento de câncer.



Finalizando a aplicação do conhecimento na prática clínica

O teste genético indica o tipo de variante que foi investigada (teste germinativo). A variante BRCA2 c.4638del (p.Phe1546Leufs*22) foi considerada patogênica, ou seja, a paciente possui uma alteração genética que está associada com o risco aumentado para câncer.

A variante PALB2 c.2482T>C (p.Cys828Arg) foi classificada como de variante de significado incerto (VUS), ou seja, não é possível estabelecer se esta variante é causa de aumento no risco de câncer. Assim, podemos concluir que a paciente é portadora de uma variante no gene BRCA2, e portanto, tem síndrome mama-ovário hereditários. A equipe de saúde

deve avaliar a história familiar e discutir com a paciente medidas de redução de risco, além de orientar da chance de seus familiares portarem a variante patogênica.

Para o paciente da cardiologia, o teste genético foi de extrema importância para definir a etiologia de sua doença e consequentemente seu tratamento médico. As outras duas variantes encontradas no teste genético não possuíam correlação com seu quadro clínico de acordo com a literatura médica. Portanto podemos concluir que o paciente possui Doença de Fabry e não cardiomiopatia hipertrófica causada por variantes patogênicas em genes sarcoméricos.

Este paciente deve passar por processo de aconselhamento genético para avaliar histórico familiar e ser orientando quanto a chance de transmissão dessa variante patogênica para seus filhos.

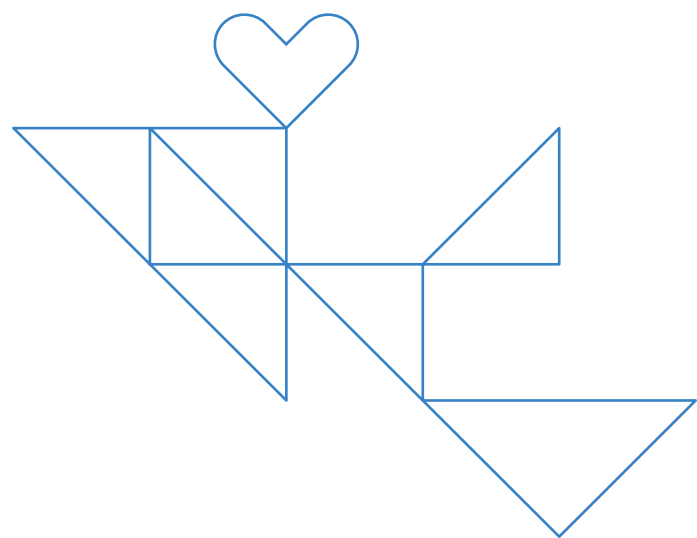
Referências

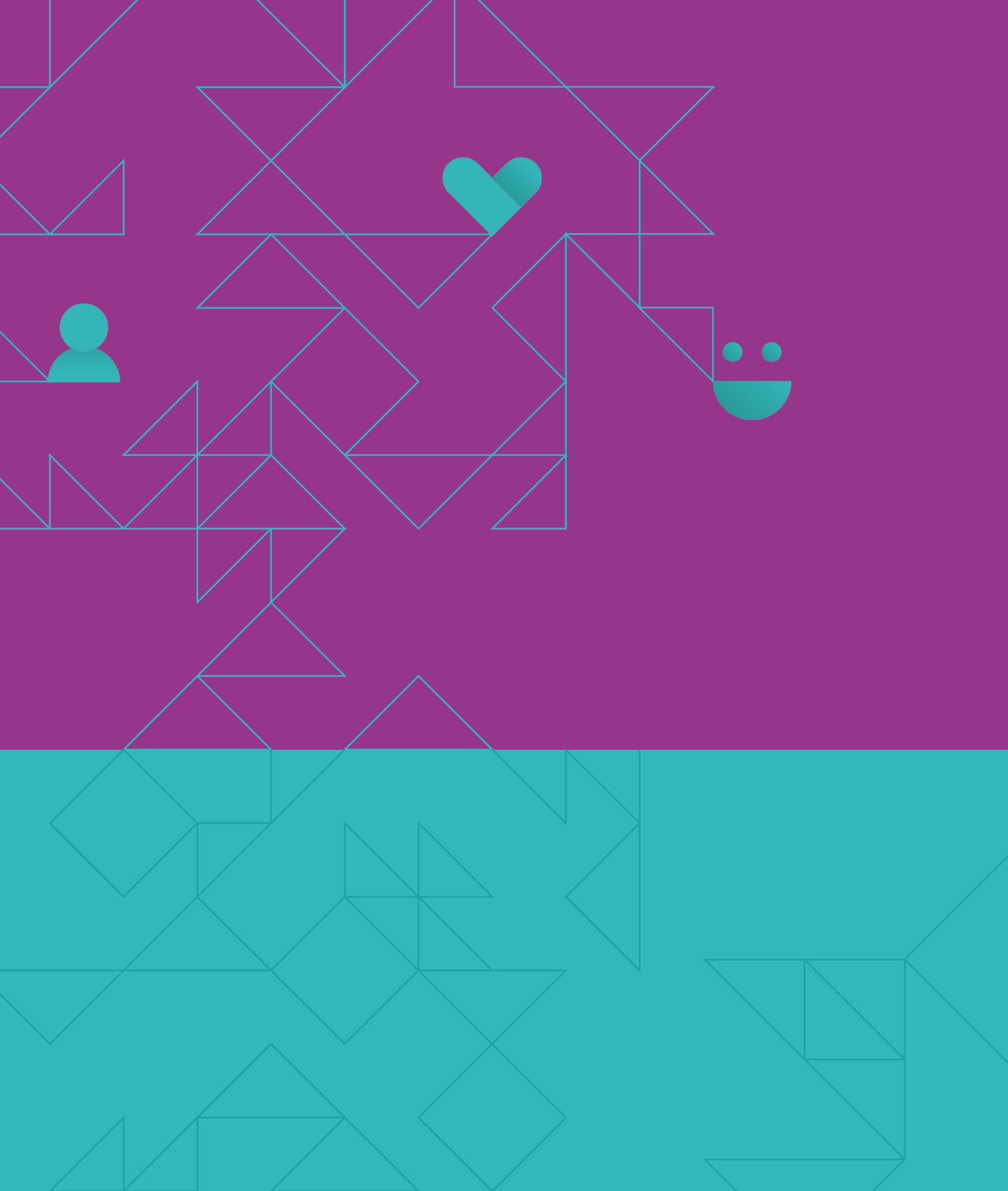
NUSSBAUM RL, MCINNESS RR, WILLARD FH. Thompson & Thompson genetics in medicine. 8 th ed. Filadelfia: Saunders Elsevier, 2016.

RICHARDS S, AZIZ N, BALE S, BICK D, DAS S, GASTIER-FOSTER J et al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med 2015;17(5):405-24

Maron BJ, Maron MS. Hypertrophic cardiomyopathy. Lancet. 2013;381(9862):242-255. doi:10.1016/S0140-6736(12)60397-3

Schiffmann R, Fuller M, Clarke LA, Aerts JMFG. Is it Fabry disease? Genet Med. 2016;18(12):1181-1185.doi:10.1038/gim.2016.55





Rua Maestro Cardim, 769
01323-900 Bela Vista São Paulo
Tel. 11 3505 1000

 [/bporgbr](https://bp.org.br)
bp.org.br