

GENÉTICA CLÍNICO-LABORATORIAL

Aula 10

Licenciatura em Ciências Biomédicas Laboratoriais

2016/17
1º Semestre

Sumário

1. Princípios Éticos em Genética
2. Terapia genética
3. Farmacogenética

Princípios Éticos em Genética

Princípios Éticos em Genética

Ética biomédica

Autonomia

Garantia do respeito pelo ser individual e pela sua capacidade de tomar decisões tendo em conta o seu estado de saúde.

O dever do profissional de saúde é manter a confidencialidade dos resultados

Beneficência

Promove o bem estar do paciente e dos que o rodeiam. O profissional de saúde deve aconselhar o paciente a revelar os resultados de testes genéticos (ex. Mutação BRCA1 – cancro da mama) aos membros da família que possam estar em risco

Princípios Éticos em Genética

Ética biomédica

Não Maleficência

Os resultados de testes genéticos não devem ser usados para prejuízo próprio ou de outrem

Justiça

Os resultados de testes genéticos podem ser utilizados no âmbito da justiça e direitos civis.

Princípios Éticos em Genética

Diagnóstico pré-natal e aborto

Os testes genéticos pré-natais podem identificar várias condições patológicas e problemas no desenvolvimento do feto

O geneticista deve revelar os resultados de uma forma não-direcionada, mas informativa tendo em conta o diagnóstico e prognóstico, respeitando a liberdade e autonomia do casal

Princípios Éticos em Genética

Testes genéticos antes da implantação de embriões

Os testes genéticos de diagnóstico são sempre realizados aos embriões antes da sua implantação no útero feminino durante a Fertilização *in vitro* (FIV).

Estes testes são efectuados em embriões em estado de mórula.

Os embriões com defeitos, mesmo que insignificantes do ponto de vista vital (ex. Surdez) são descartados

Diário da República, 1.ª série — N.º 143 — 26 de Julho de 2006

ASSEMBLEIA DA REPÚBLICA

Lei n.º 32/2006

de 26 de Julho

Procriação medicamente assistida

Artigo 2.º

Âmbito

A presente lei aplica-se às seguintes técnicas de PMA:

- a)* Inseminação artificial;
- b)* Fertilização *in vitro*;
- c)* Injecção intracitoplasmática de espermatozóides;
- d)* Transferência de embriões, gâmetas ou zigotos;
- e)* Diagnóstico genético pré-implantação;
- f)* Outras técnicas laboratoriais de manipulação gamética ou embrionária equivalentes ou subsidiárias.

Princípios Éticos em Genética

Diário da República, 1.ª série — N.º 143 — 26 de Julho de 2006

ASSEMBLEIA DA REPÚBLICA

Lei n.º 32/2006

de 26 de Julho

Procriação medicamente assistida

CAPÍTULO V

Diagnóstico genético pré-implantação

Artigo 28.º

Rastreio de aneuploidias e diagnóstico genético pré-implantação

1 — O diagnóstico genético pré-implantação (DGPI) tem como objectivo a identificação de embriões não portadores de anomalia grave, antes da sua transferência para o útero da mulher, através do recurso a técnicas

de PMA, ou para os efeitos previstos no n.º 3 do artigo 7.º

2 — É permitida a aplicação, sob orientação de médico especialista responsável, do rastreio genético de aneuploidias nos embriões a transferir com vista a diminuir o risco de alterações cromossómicas e assim aumentar as possibilidades de sucesso das técnicas de PMA.

3 — É permitida a aplicação, sob orientação de médico especialista responsável, das técnicas de DGPI que tenham reconhecido valor científico para diagnóstico, tratamento ou prevenção de doenças genéticas graves, como tal considerado pelo Conselho Nacional de Procriação medicamente Assistida.

4 — Os centros de PMA que desejem aplicar técnicas de DGPI devem possuir ou articular-se com equipa multidisciplinar que inclua especialistas em medicina da reprodução, embriologistas, médicos geneticistas, citogeneticistas e geneticistas moleculares.

Artigo 29.º

Aplicações

1 — O DGPI destina-se a pessoas provenientes de famílias com alterações que causam morte precoce ou doença grave, quando exista risco elevado de transmissão à sua descendência.

2 — As indicações médicas específicas para possível DGPI são determinadas pelas boas práticas correntes e constam das recomendações das organizações profissionais nacionais e internacionais da área, sendo revistas periodicamente.

Princípios Éticos em Genética

Morula stage IVF embryos



High quality day 4 embryo from [in vitro fertilization](#)

Princípios Éticos em Genética

O dever de informar

O Profissional de saúde, bem como qualquer especialista de saúde envolvido no cuidado do paciente com uma condição patológica **hereditária e tratável** tem a obrigação de discutir a patologia como um risco para o paciente e para os membros da família

O Profissional deve encorajar o paciente a revelar os resultados genéticos (relativo a doenças hereditárias que apresentem risco para a família) à família.

Princípios Éticos em Genética

Testes genéticos diretos ao consumidor

Devido ao avanço das técnicas e métodos de análise genética, hoje em dia é possível analisar centenas de *loci* diferentes num indivíduo, relativamente rápido e com preços acessíveis à população.

Pode-se dizer que hoje em dia os testes genéticos incluem-se na categoria dos serviços de saúde diretos ao consumidor.

No entanto, embora os avanços da ciência tecnológica, a **interpretação dos resultados** obtidos é bastante peculiar e específica de indivíduo para indivíduo.

Princípios Éticos em Genética

Testes genéticos diretos ao consumidor

A **significância** dos resultados de testes genéticos para a saúde de um indivíduo nem sempre é clara.

Os resultados devem ser avaliados individualmente tendo em conta o estado de saúde, etnia, factores ambientais, factores de risco, etc.

Princípios Éticos em Genética

Testes genéticos diretos ao consumidor

Protocolo de testes genéticos (*American College of Medical Genetics*), pressupostos :

1. Um profissional da área deve estar envolvido no processo de requisição e interpretação dos testes genéticos.
2. O consumidor deve ser informado sobre o que cada teste pode significar para o diagnóstico/prognóstico do seu estado de saúde.
3. O teste deve ser detentor de evidência científica e acreditado.

Princípios Éticos em Genética



Lei n.º 12/2005 de 26 de Janeiro Informação Genética Pessoal e Informação de Saúde

Artigo 2.º : Informação de saúde

Artigo 3.º : Propriedade da informação de saúde

Artigo 4.º : Tratamento da informação de saúde

Artigo 5.º : Informação médica

Artigo 6.º : Informação genética

Artigo 7.º : Bases de dados genéticos

Artigo 8.º : Terapia génica

Artigo 9.º : Testes genéticos

Artigo 10.º : Testes de heterozigotia, pré-sintomáticos, preditivos e pré-natais

Artigo 11.º : Princípio da não discriminação

Artigo 12.º : Testes genéticos e seguros

Artigo 13.º : Testes genéticos no emprego

Artigo 14.º : Testes genéticos e adopção

Artigo 15.º : Laboratórios que procedem ou que oferecem testes genéticos

Artigo 16.º : Investigação sobre o genoma humano

Artigo 17.º : Dever de proteção

Artigo 18.º : Obtenção e conservação de material biológico

Artigo 19.º : Bancos de DNA e de outros produtos biológicos

Artigo 20.º : Património genético humano

Princípios Éticos em Genética

Lei n.º 12/2005 de 26 de Janeiro

Informação Genética Pessoal e Informação de Saúde

Artigo 3.º : **Propriedade da informação de saúde** - As informações sobre os resultados pertencem unicamente ao indivíduo, sendo este o único que pode tomar decisões sobre estas.

Artigo 4.º : **Tratamento da informação de saúde** - A informação é sempre confidencial, só pode ser dado o acesso a esta caso a identidade do paciente não seja comprometida.

Artigo 6.º : **Informação genética** - A informação é sempre utilizada para efeitos de saúde, excepto em casos de determinação de paternidade, ou investigação criminal.

Artigo 8.º : **Terapia génica** - As terapias só podem ser utilizadas se forem corretivas para uma patologia.

Artigo 11.º : **Princípio da não discriminação** - Os pacientes não podem ser discriminados julgados em função da sua informação genética.

Artigo 15.º : **Laboratórios que procedem ou que oferecem testes genéticos** - Cabe ao Estado Português que estas empresas mantenham os direitos dos cidadãos

Terapia Genética

Terapia Genética

É uma terapia que envolve a inserção de genes em pacientes que sofrem de doenças causadas pela expressão aberrante de um gene:

- ✓ O gene não se encontra (deleção)
- ✓ O gene contém uma mutação e o seu produto proteico não é expresso
- ✓ O produto proteico de um gene é expresso mas é menos funcional que o normal
- ✓ O produto proteico é sub-expressado (*overexpressed* mais proteína que o normal) ou expressado no sítio errado

Terapia Genética

A ***European Medicine Agency*** (EMA) define a terapia genética como:

Um produto médico biológico que:

- Contem como substância ativa ou é constituído por ácidos nucleicos recombinantes, usados ou administrados em humanos com a finalidade de regular, reparar, substituir, adicionar ou *delecionar* uma sequencia genética.
- Os efeitos terapêuticos estão diretamente relacionados com a administração de ácidos nucleicos ou com o produto de expressão dos mesmos.

Terapia Genética

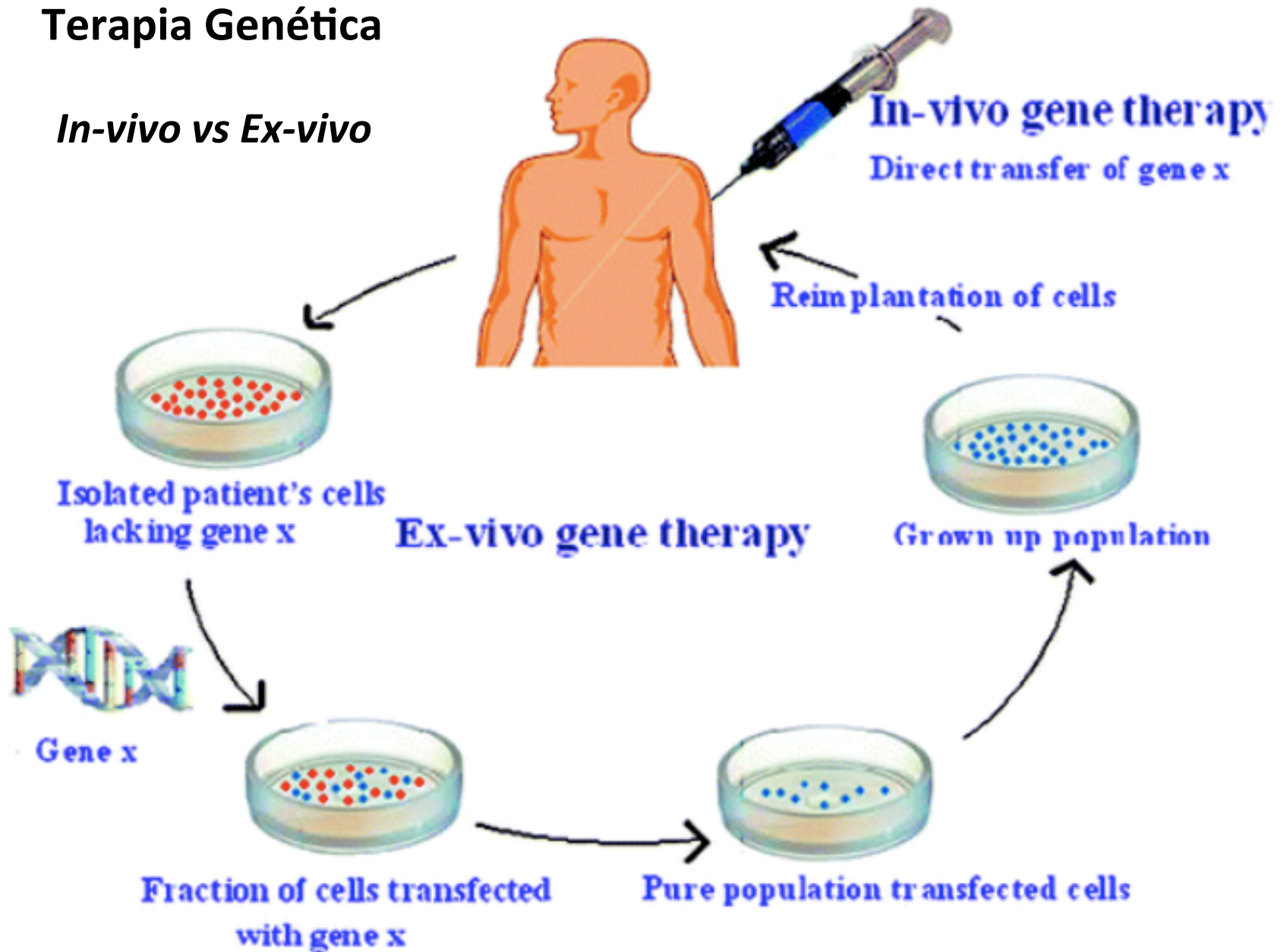
A ***US Food and Drugs Administration*** (FDA) define a terapia genética como:

Um produto que:

- É administrado como um elemento genético
- O seu efeito é mediado através de transcrição ou tradução
- Pode ser integrado no genoma do hospedeiro (paciente)
- Pode ser transmitido como ácidos nucleicos ou vírus
- Pode ser transmitido *in vivo* ou *ex vivo*

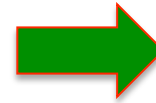
Terapia Genética

In-vivo vs Ex-vivo



Terapia Genética

Terapia Genética em
células somáticas



OK

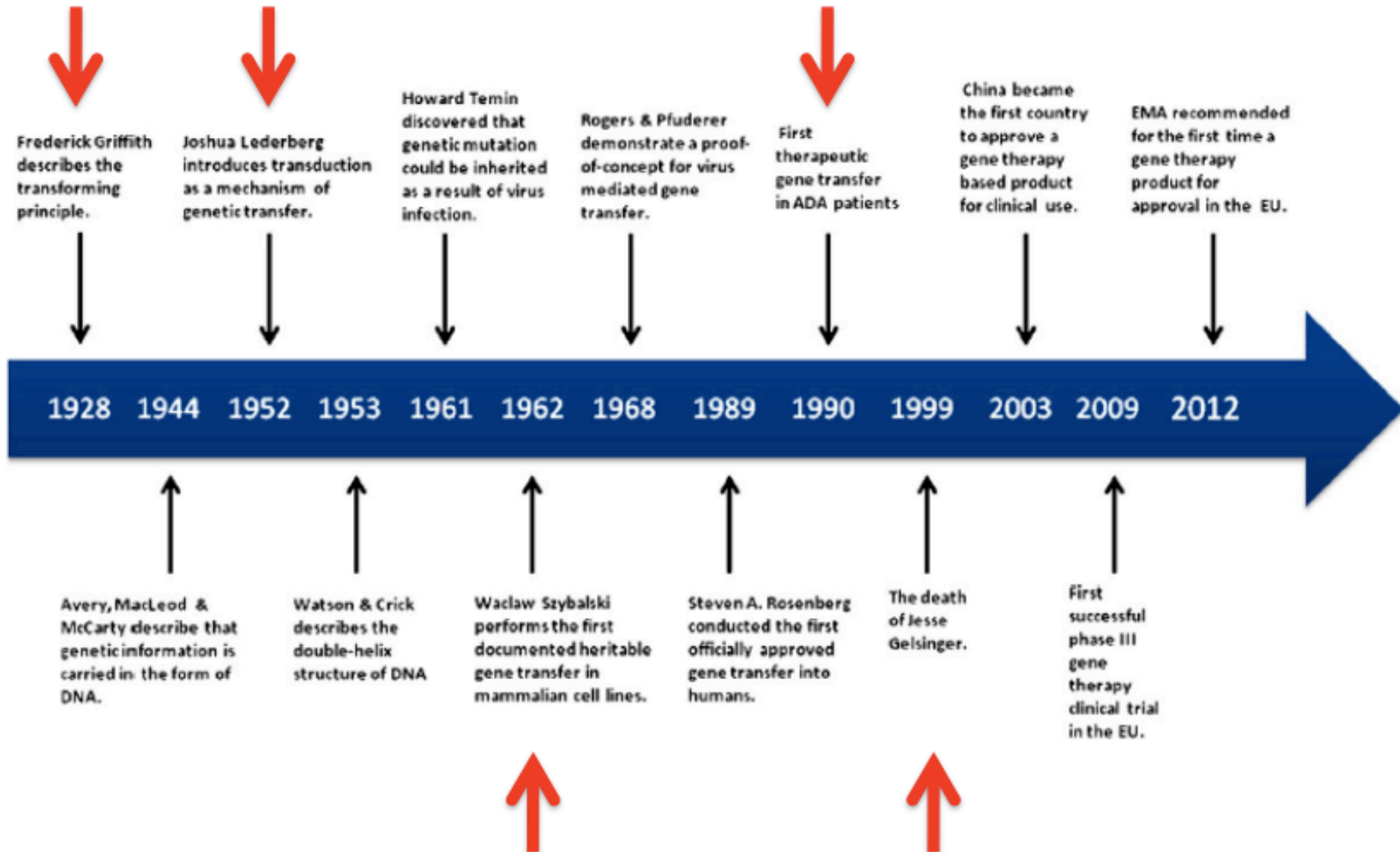
Terapia genética em
células germinais



NOT OK

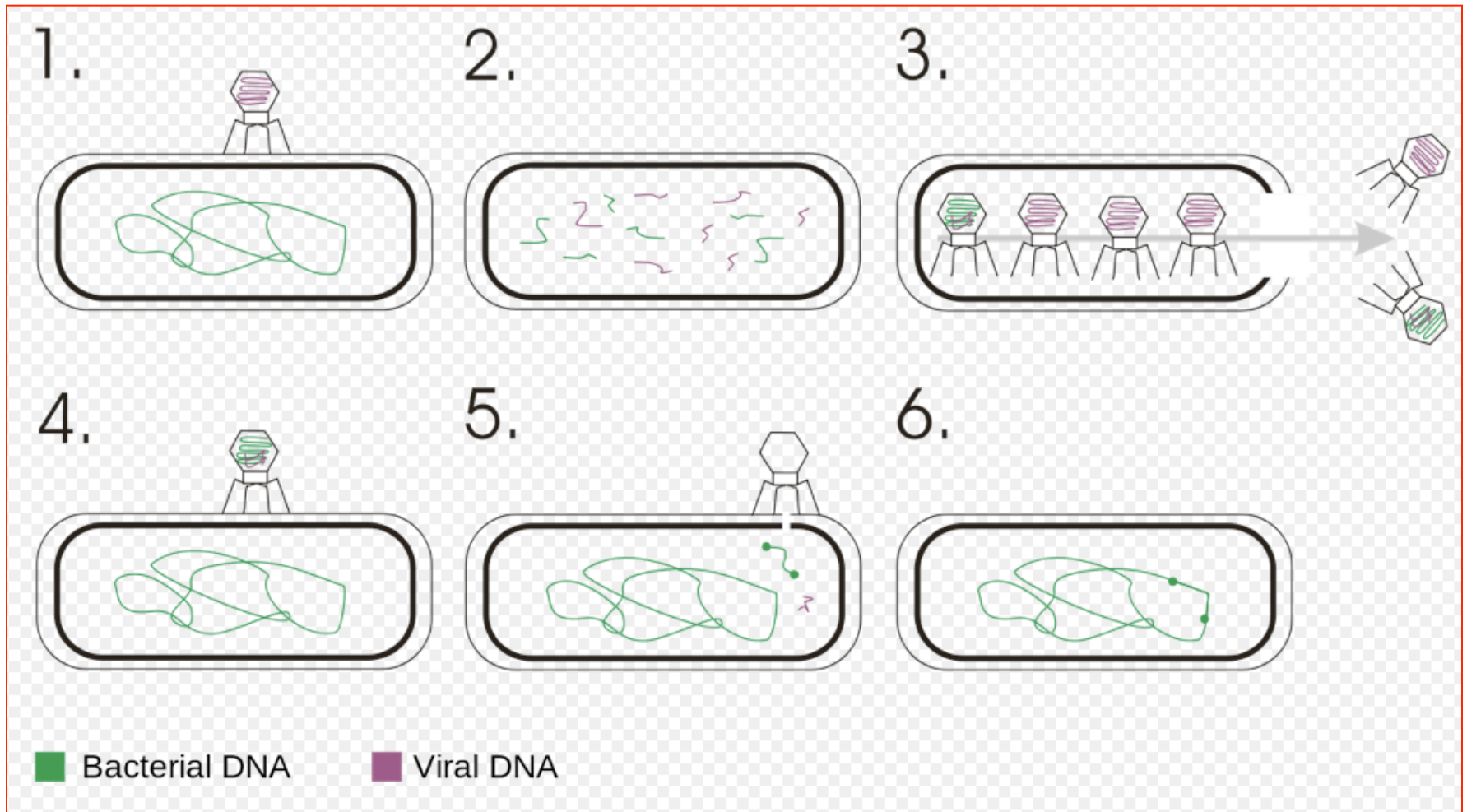
Terapia Genética –

Cronograma de acontecimentos marcantes para o desenvolvimento da terapia genética



Terapia Genética – Transdução

É o processo de reprodução no qual o DNA bacteriano é transferido de uma bactéria para outra por um vírus, os chamados bacteriófagos.



Terapia Genética – Transdução

Foi descoberto em 1947 por Joshua Lederberg

Permite a transferência de informação genética de uma célula para outra, usando vírus como veículo de transferência

Experiência realizada:

Estirpe bacteriana 1 : resistente ao antibiótico 1

Estirpe bacteriana 2 : resistente ao antibiótico 2

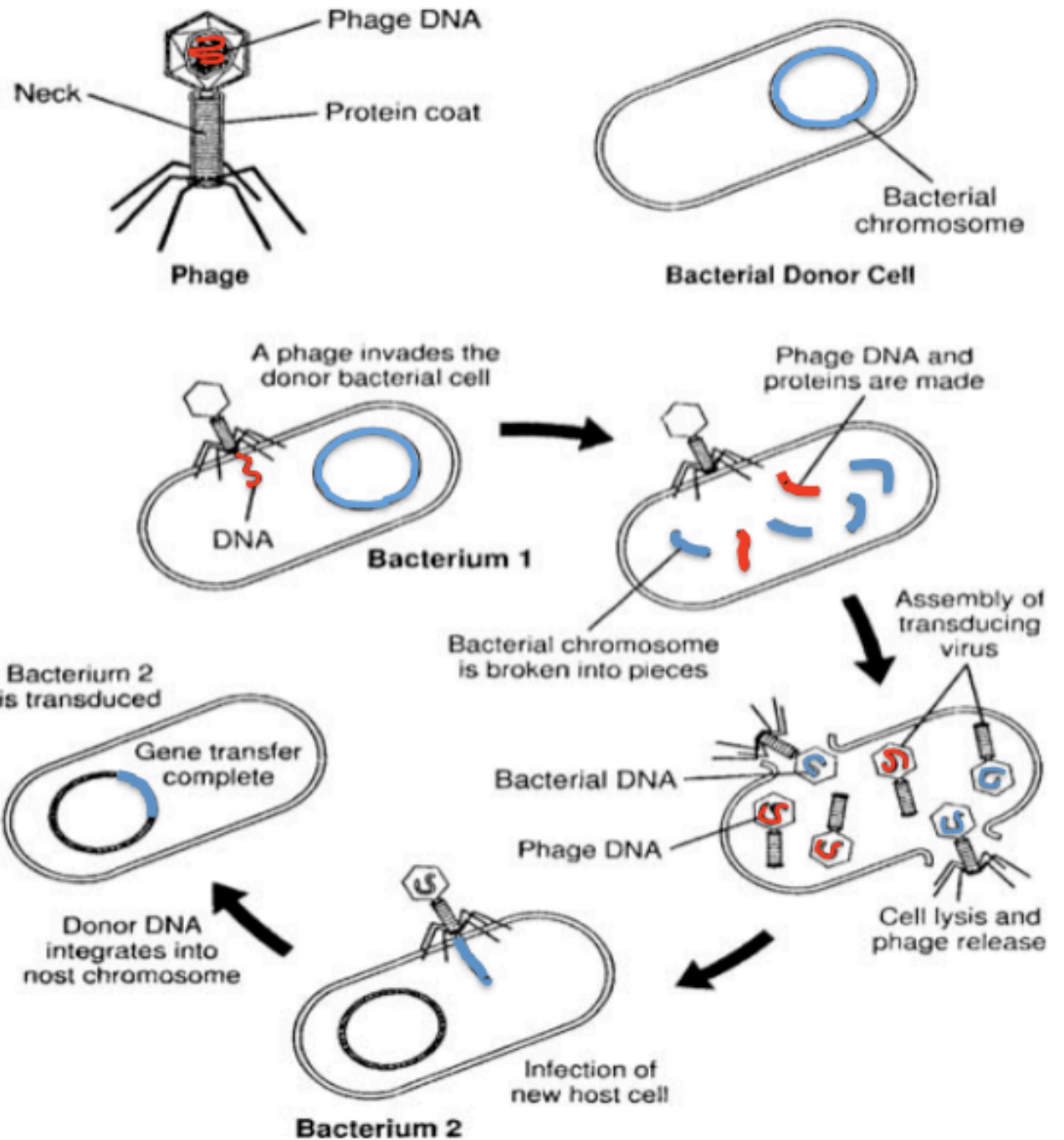
Separadas por um filtro pequeno que permite contacto bacteriano

Observação:

A estirpe bacteriana 1 adquire resistência ao antibiótico 2

Terapia Genética

Transdução



Terapia Genética – Blaese and Anderson 1990

Adenosine Deaminase Deficiency (ADA)

Esta doença resulta da mutação do gene que codifica para ADA, e as manifestações clínicas consistem na deficiência ao nível dos precursores dos linfócitos, resultando numa imunodeficiência severa.

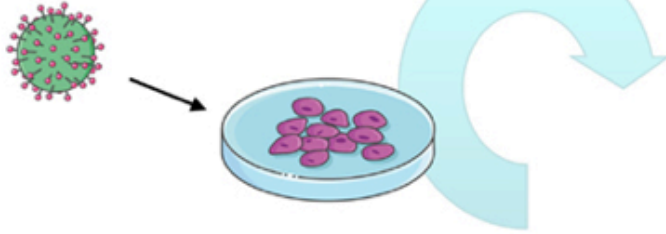
Terapia Genética *ex-vivo*

1. Os progenitores dos linfócitos foram isolados do paciente
2. As células progenitoras foram transduzidas com um vector retroviral expressando ADA
3. As células progenitoras transformadas foram inseridas no paciente

Observação: foi notificado um melhoramento temporário da doença

Terapia Genética – Adenosine Deaminase Deficiency (ADA)

3. Retroviral hematopoietic stem cell gene therapy (with reduced conditioning)



2. Enzyme replacement therapy
Weekly injections with PEG-ADA

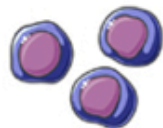


1. HLA-identical BMT
(treatment of choice)

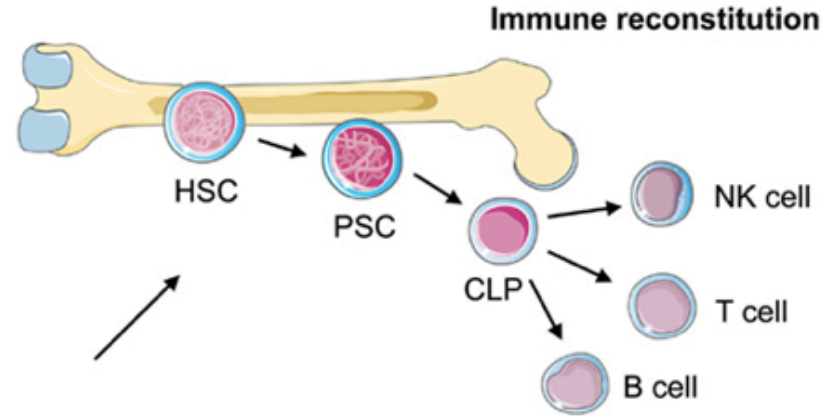


Alternatively:

MUD or haploidentical BMT



ADA-SCID patient



Hypothyroidism



Diabetes mellitus



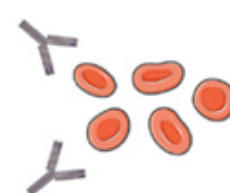
anti-ADA antibodies



Thrombocytopenia



Hemolytic anemia



Terapia Genética

1999: Primeira morte por terapia genética

Jesse Gelsinger morre após tratamento genético para *ornithine transcarbamylase deficiency*

Neste paciente foi utilizada uma terapia *in-vivo* usando um vector adenoviral

- Paciente morreu 4 dias após o tratamento, devido a uma reação imune severa.
- Primeira morte atribuída ao uso de vectores vírais

Terapia Genética

1999: Primeira morte por terapia genética

The New York Times

F.D.A. Officials Fault Penn Team in Gene Therapy Death

December 9, 1999

By SHERYL GAY STOLBERG

BETHESDA, Md. -- Officials of the Food and Drug Administration said Wednesday that Jesse Gelsinger, the 18-year-old Arizona man who lost his life in a gene therapy experiment in September, was ineligible for the clinical trial and should not have been treated because his liver was not functioning well enough before doctors infused him with a dose of corrective genes.

Terapia Genética

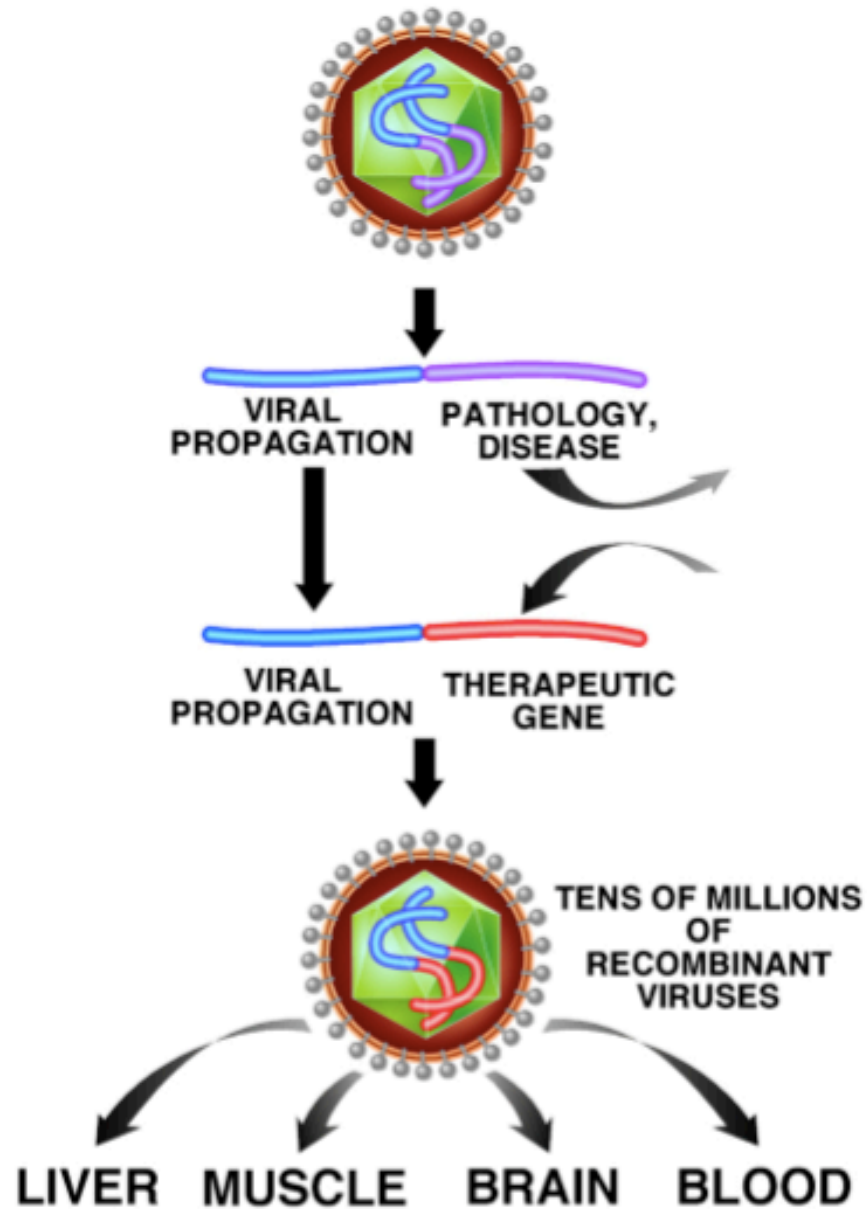
1999: Primeira morte por terapia genética

Investigações posteriores concluíram que foram violadas algumas regras:

- Paciente era um substituto (a terapia estava desenhada para outro paciente com a mesma doença)
- Não foram revelados os efeitos adversos observados nos 2 pacientes anteriores
- Não foi revelado que morreram macacos onde foi aplicada a mesma terapia
- Os investigadores responsáveis tinham interesses económicos na aplicação da terapia.

Terapia Genética

VIRUSES AS VEHICLES FOR GENE TRANSFER



Terapia Genética

Vectores & Vírus

- Os vectores são vírus deficientes com a capacidade de replicação
- Transportam um transgene
- Realizam um única ronda de infeção
- Transduzem células alvo com os genes que transportam

Vectores virais utilizados em vertebrados:

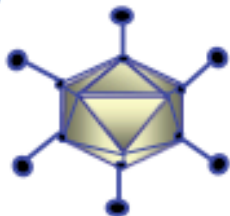
- Vectores retrovirais
- Vectores lentivirus
- Vectores adenovirus
- Vectores adenoassociados
- Vectors vaccinia
- Vectores HSV1

Terapia Genética

Vectores & Vírus

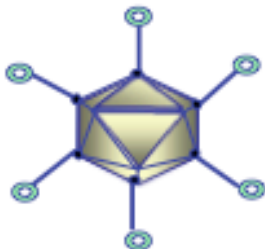
Adenovirus: capacidad de mudar o tropismo

Adenovirus clásicos



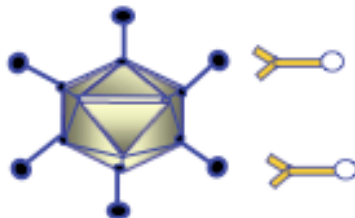
CAR

Modificación de la cápside



CAR +
receptor del
ligando

Moléculas biespecíficas

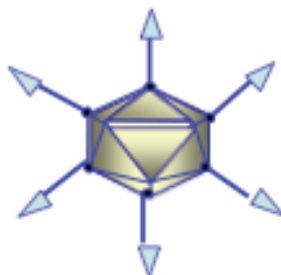


Receptor
del ligando

Nuevo tropismo



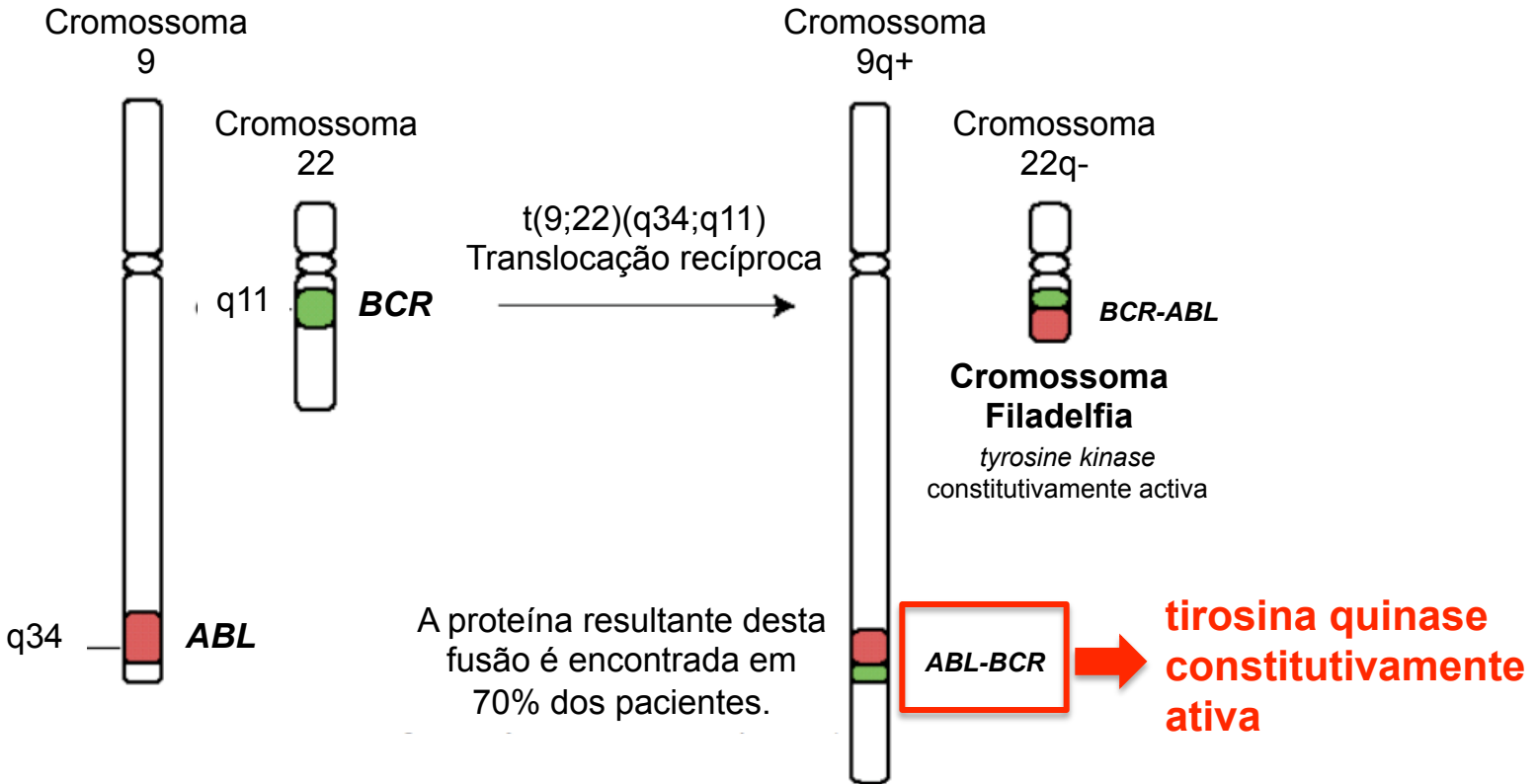
293 modificada



Receptor
del ligando

Exemplo: Terapia Genética contra o cancro- Virús Oncolíticos+GENES SUCIDAS

Exemplo: Leucemia Mieloide Crónica



Chronic myeloid leukaemia (CML) is characterised by the t(9;22)(q34;q11) reciprocal translocation

Desenvolvimento de Fármacos:

inibidores de tirosina quinase constitutivamente ativa → Timida quinase

Exemplo: Terapia Genética contra o cancro

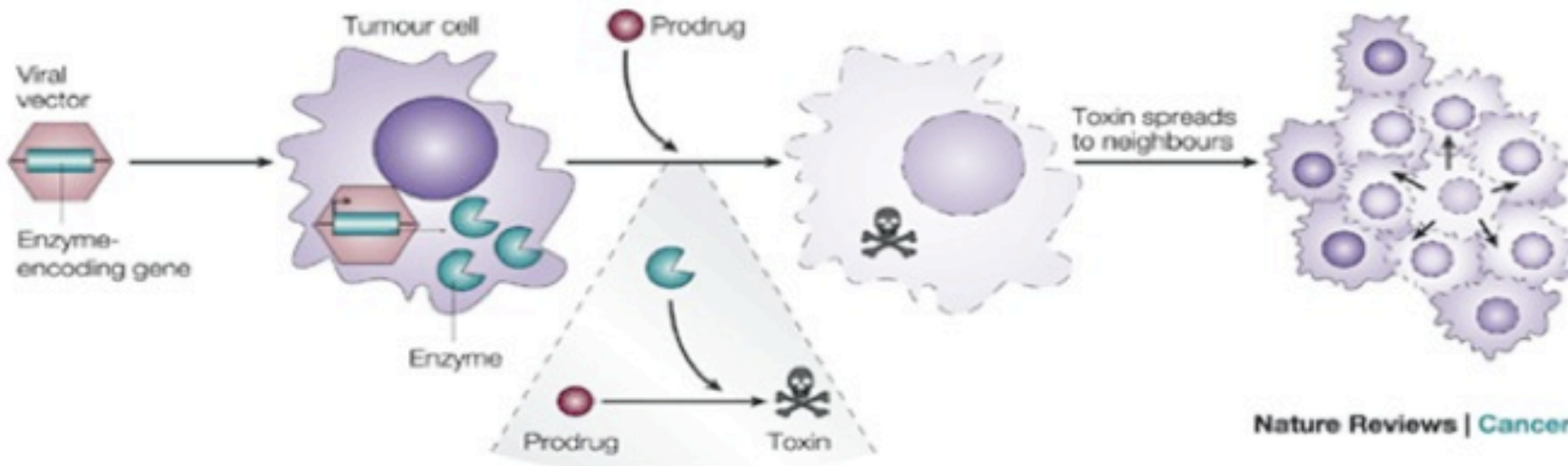
Virús Oncolíticos + GENES SUCIDAS

- Vírus Oncolítico: transporta um gene suicida e o seu tropismo foi alterado para células cancerígenas específicas (adenovirus).
- Genes suicidas: codificam para uma enzima que transforma um composto inofensivo num composto tóxico para a célula.

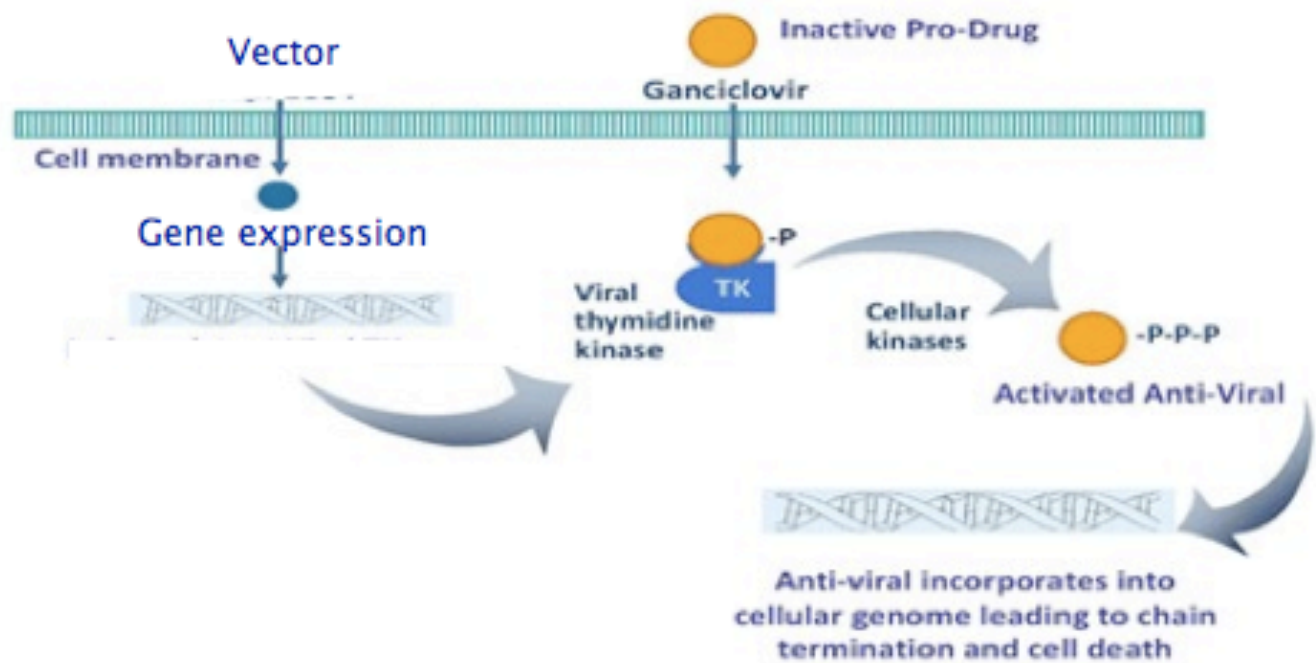
Exemplo: Timida-quinase –Mecanismo:

- É inserido na célula cancerígena um vírus oncolítico recombinante para a enzima
- O substrato (*prodrug*) da enzima é administrado ao paciente
- Nas células tumorais infectadas com o vírus recombinante o substrato é transformado em tóxico pela enzima e a célula morre

Exemplo: Terapia Genética contra o cancro



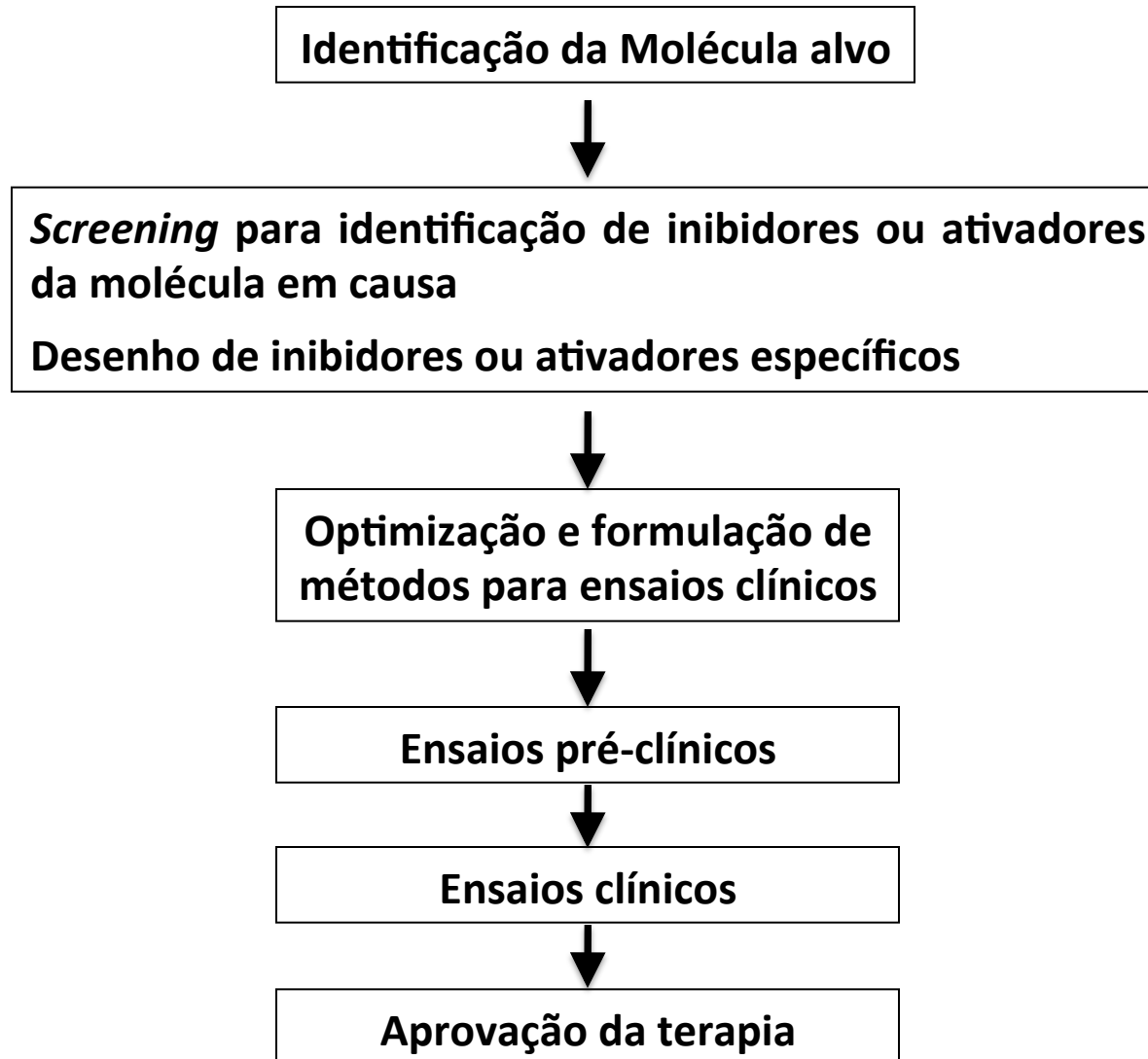
Timidina quinasa



Exemplo: Terapia Genética contra o cancro

Desenvolvimento de Fármacos:

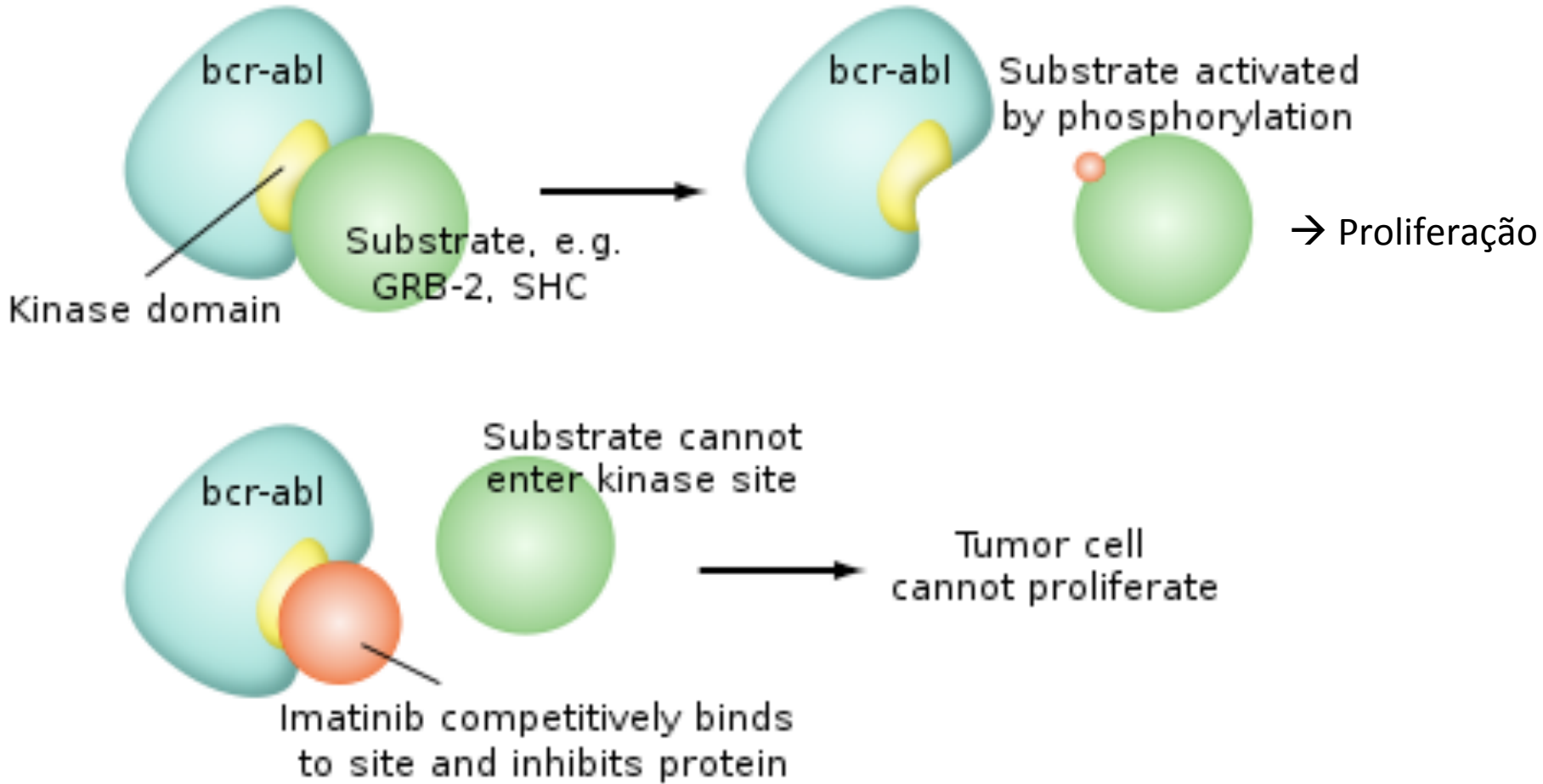
Inibidores de tirosina quinase constitutivamente ativa → Timida quinase



Exemplo: Terapia Genética contra o cancro

Desenvolvimento de Fármacos:

Mecanismo de inibição de *bcr-abl*:



Exemplo: Terapia Genética contra o cancro

Desenvolvimento de Fármacos:

Ensaio pré-clínicos

Validação biológica: avaliação da capacidade de atuação da proteína no sítio correcto depois de administrada:

- ✓ Inibição da actividade de tirosina-quinase em células de cultivo
- ✓ Indução da apoptose em células de pacientes
- ✓ Inibição do crescimento do tumor em rato (*mus musculus*), através da incorporação de células cancerígenas humanas (*xenografts*)

Exemplo: Terapia Genética contra o cancro

Desenvolvimento de Fármacos:

Ensaio Clínicos

- Validação do fármaco através de ensaios em pacientes com leucemia mieloide crónica em diferente fases.

Aprovação da terapia

- Aprovação do fármaco pela *U.S. Food and Drugs* (2001)
- Aprovação na Europa e no Japão

Nome comercial: *Glivec*[®]



Farmacogenética

Farmacogenética

- ✓ É a ciência que estuda a variabilidade genética dos indivíduos em relação a drogas específicas
- ✓ Determinados indivíduos podem reagir de maneira diferente ao mesmo tipo de medicamento, dependendo da sua etnia ou outras variações genéticas
- ✓ Este ramo da ciência foi criada em 1959 por F. Vogel

Farmacogenética

Porquê diferentes respostas ao mesmo tratamento?

Idade

Peso

Sexo

Outras doenças anteriores

Interações com outros medicamentos

Factores Genéticos

Farmacogenética - conceitos

Farmacocinética: representação da ação corporal sobre uma droga.

Farmacodinâmica: efeito de uma droga no corpo, mais especificamente no tecido alvo.

Farmacogenética: estudo do impacto de variações genéticas singulares no metabolismo de uma droga.

Farmacogenômica: estudo das relações entre o metabolismo de uma droga e todo o genoma de um indivíduo.

Farmacogenética

- Examina o modo como a variação genética influencia a resposta a determinados medicamentos.
- Explora o modo como estas variações podem ser usadas para prever a resposta do paciente ao medicamento em causa
- Permite entender o efeito que o genoma de um indivíduo tem na eficácia de um medicamento, bem como quais os efeitos colaterais que podem ocorrer

Farmacogenética

Atualmente a farmacogenética é usada para:

- Determinar respostas a diferentes drogas/medicamentos no tratamento de doenças cardíacas, respiratórias, oncológicas e psiquiátricas.
- Entender como algumas pessoas metabolizam os medicamentos no fígado mais rápido que outras.
- Desenvolver drogas/medicamentos específicas/dirigidas (*targeted drugs*) em várias áreas da saúde, como a psiquiatria, demência, doenças cardíacas e no tratamento de múltiplos cânceros.

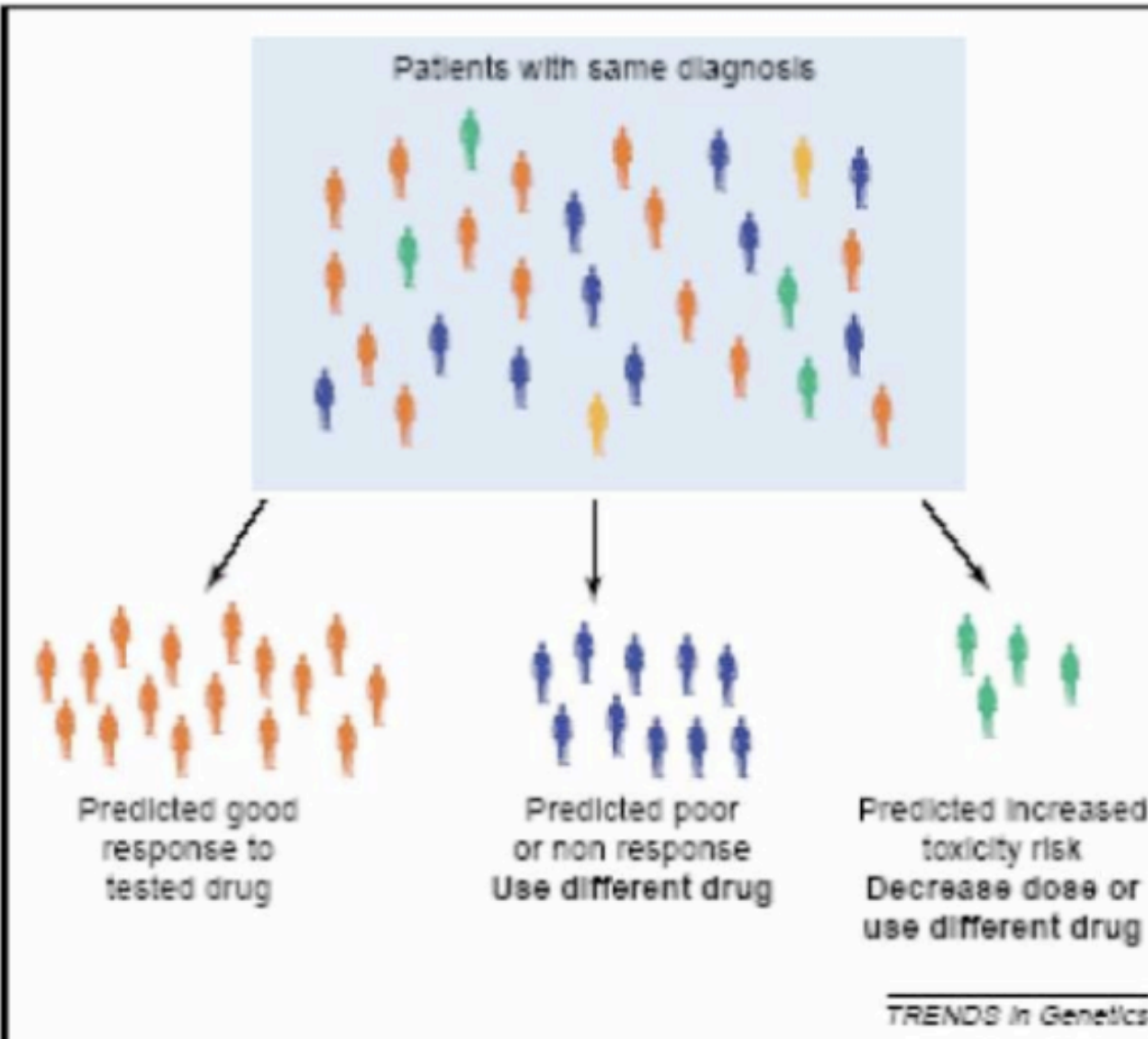
Farmacogenética

Objectivo clinico da farmacogenética

Com base na informação genética de cada indivíduo:

- Seleccionar o melhor medicamento
- Determinar a dose óptima
- Maximizar a eficácia do medicamento
- Minimizar o risco de toxicidade

Farmacogenética



Testes genéticos
permitem distinguir
os pacientes



Tratamento
individualizado

A **Farmacogenética** começa com uma resposta inesperada a um medicamento e procura a causa genética para tal.

A **Farmacogenómica** começa com a procura de diferenças genéticas dentro de uma população que explicam respostas a uma tratamento ou susceptibilidade a uma condição patológica, observadas previamente.

Limitações:

- Análise de muitos genes
- Interações com outros medicamentos e factores ambientais
- Identificação das variações genéticas demora muito tempo