

GENÉTICA CLÍNICO-LABORATORIAL

Aula 8

Licenciatura em Ciências Biomédicas Laboratoriais

2016/17
1º Semestre

Sumário

Estudos Epigenéticos

Aconselhamento genético

Testes Genéticos

Epigenética

Epi- (Grego: επί- sobre, acima, exterior) - Genetics

Alterações na expressão dos genes sem haver alteração da sequência de nucleótidos:

Alterações introduzidas devido à dieta, estilo de vida e factores ambientais provocam:

- Modificações estruturais no DNA
- Modificações funcionais na expressão de genes

Epigenética

- A palavra epigenética foi usada pela primeira vez por C.H. Waddington em 1942*, numa junção entre as palavras *genetics* e *epigenesis*

Genomic Landscape → Epigenetic landscape

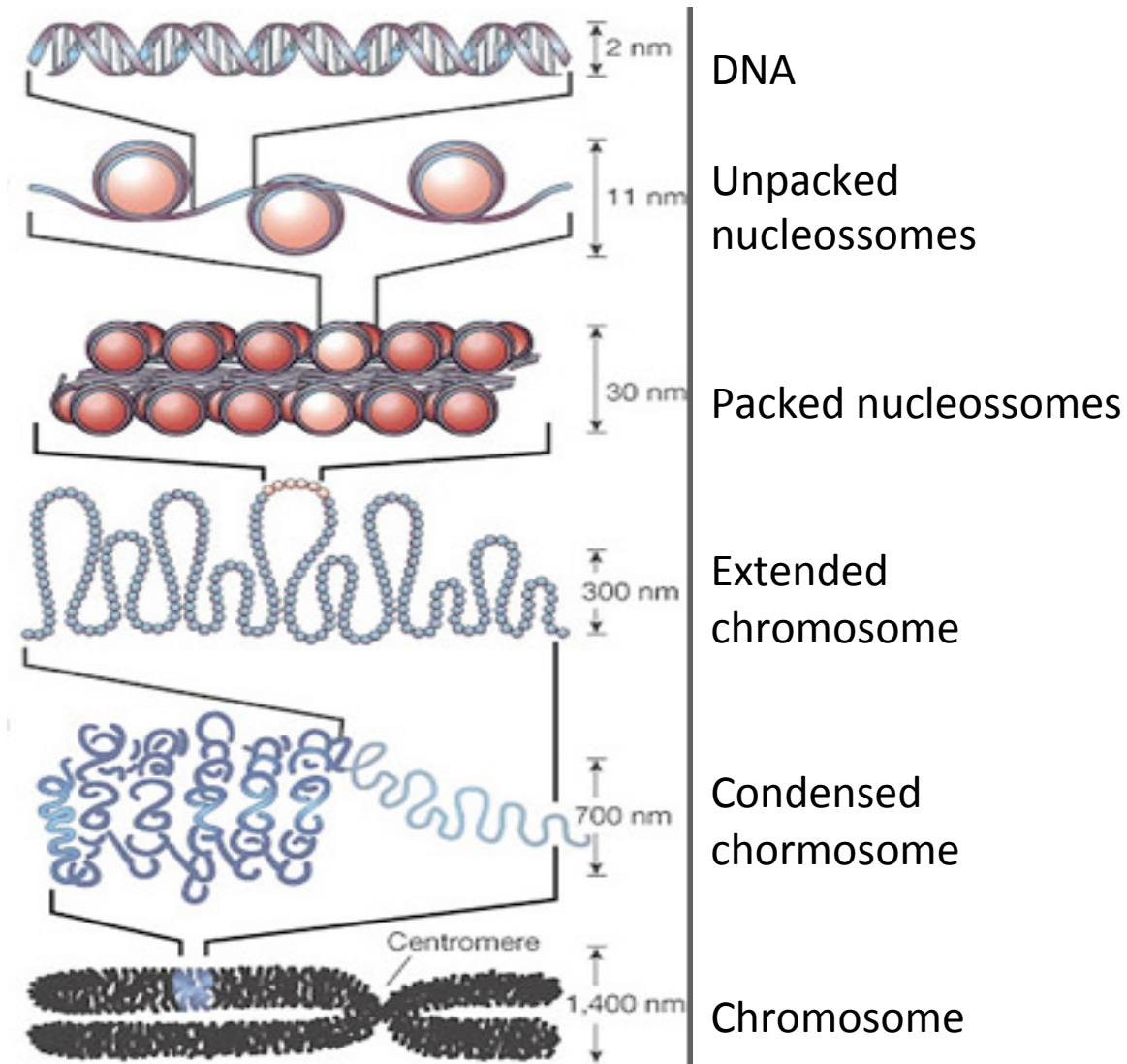


Conrad Hal Waddington
(1905-1975)

A epigenética pode ser utilizada para descrever qualquer coisa que influencie o desenvolvimento de um organismo, sem alterar a sequência de ADN deste.

* Waddington CH: The Epigenotype. *Endeavour* 1942

Epigenética



Adapted from: Felsenfeld and Groudine. *Nature*, 2003

Epigenética

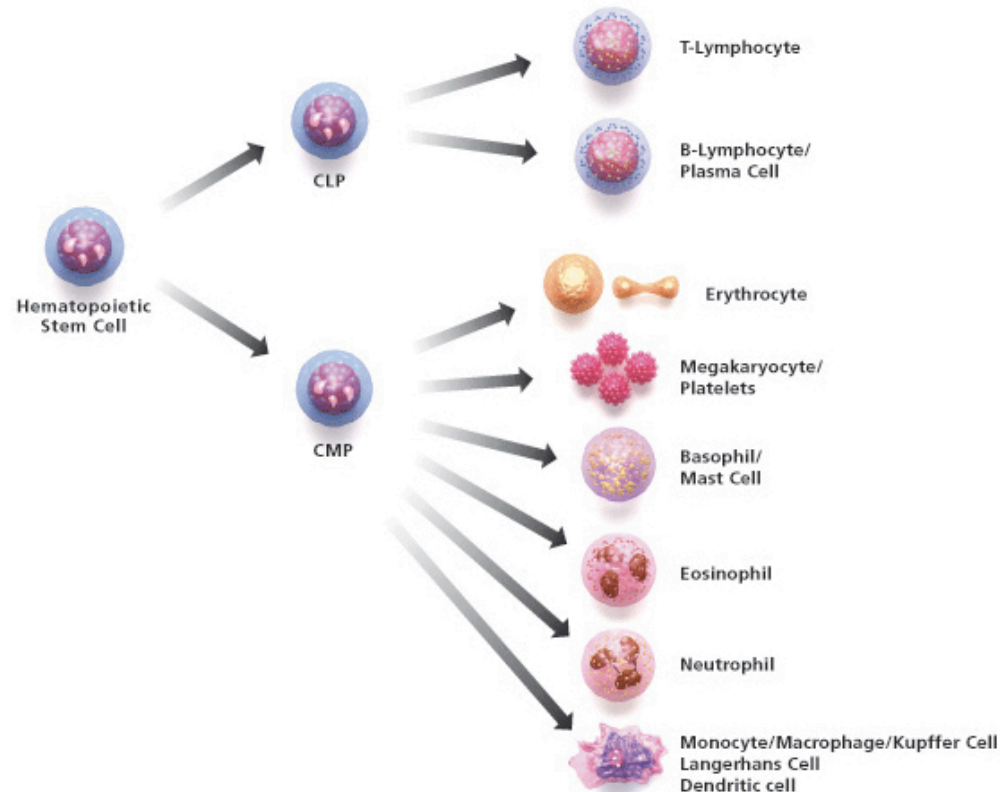
Exemplo: Regulação epigenética

✓ Um padrão epigenético específico, determina a identidade de uma célula.

✓ Erros no padrão epigenético de uma célula contribuem para vários tipos de doenças humanas.

✓ O cancro e as doenças hematológicas são as melhor estudadas.

Diferenciação celular:



Epigenética

Mecanismos de controlo epigenético:

• Posicionamento dos Nucleossomas

• Metilação de ADN

• Modificações nas Histonas

• Marcas epigenéticas melhor estudadas ao nível do cancro ;

• Possíveis diagnósticos e prognósticos;

• Possíveis terapias epigenéticas para doentes de cancro no futuro!

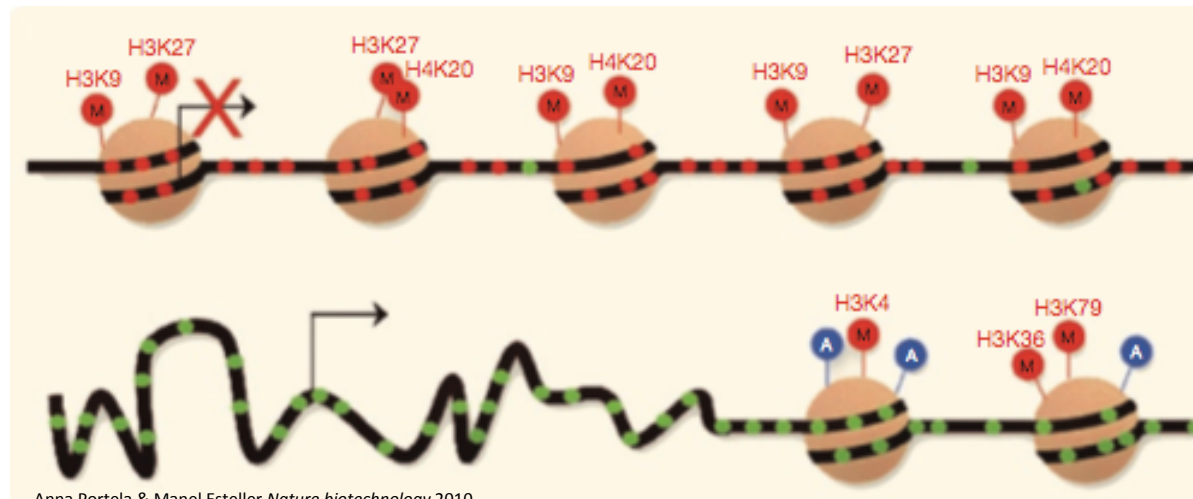
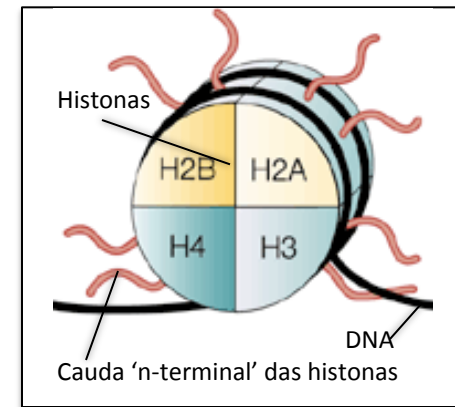
Epigenética

Mecanismos de controlo epigenético:

• Posicionamento dos Nucleossomas

Para que a '*transcription machinery*' possa transcrever um gene, é necessário que este gene tenha os seus extremos 5' e 3' livres de nucleossomas

Nucleossoma



- **ADN Metilado**
- **Heterocromatina (fechada)**
- **Não há transcrição**

- **ADN não metilado**
- **Eucromatina (aberta)**
- **Expressão genica**

Epigenética

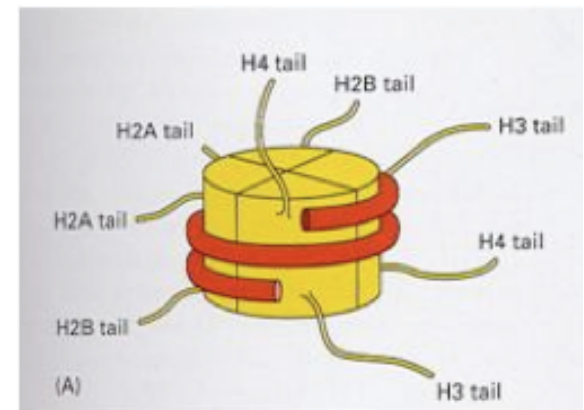
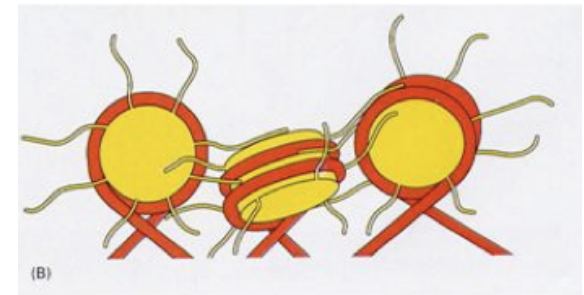
Mecanismos de controlo epigenético:

- Modificações químicas nas Histonas

Modificações químicas na cauda N-terminal das histonas regulam a expressão dos genes

Estas modificações são essenciais para:

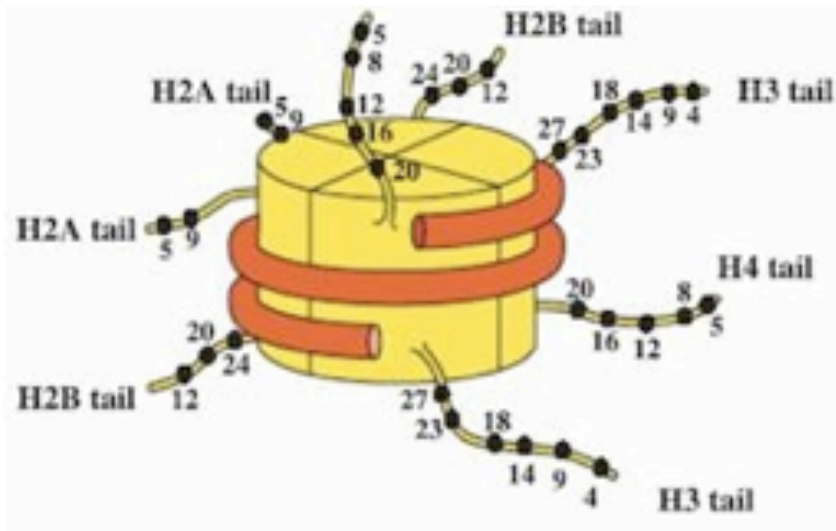
- Regulação da transcrição;
- Reparação de ADN;
- Replicação de ADN;
- Splicing alternativo;
- Condensação cromossómica;



Epigenética

Mecanismos de controlo epigenético:

- Modificações químicas nas Histonas



<http://www.integratedhealthcare.eu>

Regulação da expressão genética

- Eucromatina (estado activo → Expressão genética):

Acetilação e tri-metilação em H3K4, H3K36 e H3K79

- Heterocromatina (estado inactivo → repressão da expressão genética):

Perda de grupos acetil e metilação em H3K9, H3K27 e H3K20



Complexos
proteicos
específicos

Epigenética

Mecanismos de controlo epigenético:

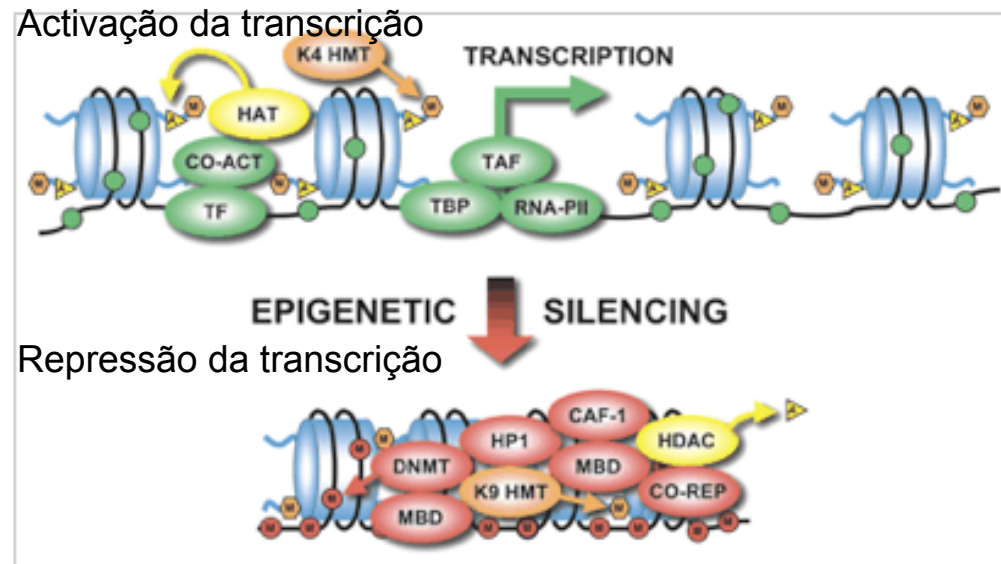
- Modificações químicas nas Histonas

Problemas no comportamento do complexo proteico que modifica a parte N-terminal das histonas, levam à alteração da expressão genética.

A acetilação e metilação das lisinas depende de um grupo específico de enzimas: HDAC; HAT; HMT



Estas proteínas estão reduzidas em quantidade ou mutadas em vários tipos de cancro.



Histone Deacetylase (HDAC)
Histone acetyltransferase (HAT)
Histone Methyltransferase (HMT)

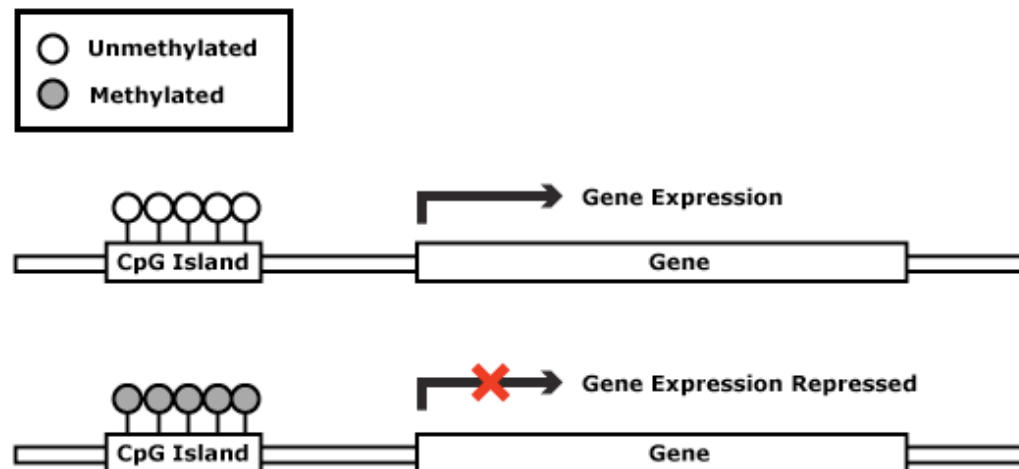
Epigenética

Mecanismos de controlo epigenético:

- Metilação de ADN nas ilhas CpG

ilhas CpG

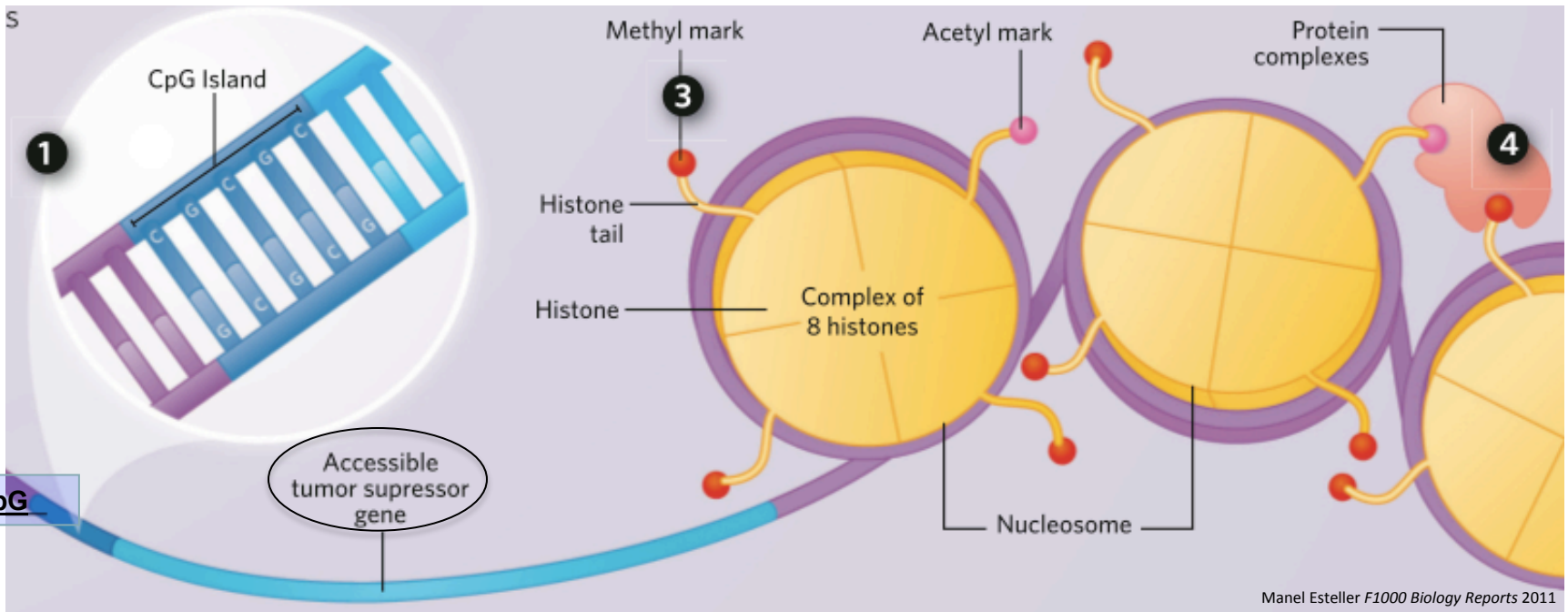
- Localizadas na zona promotora de cerca de 70% dos genes humanos
- Entre 300-3000bp
- Ricas em citosina e guanina unidas por uma ligação fosfodiéster (esta ligação covalente difere da ligação normal entre as bases do ADN de 3 hidrogénios, bastante mais fraca).
- São zonas bastante favoráveis à união de grupo metilo (CH_3)



Epigenética e o Cancro

Controlo epigenético:

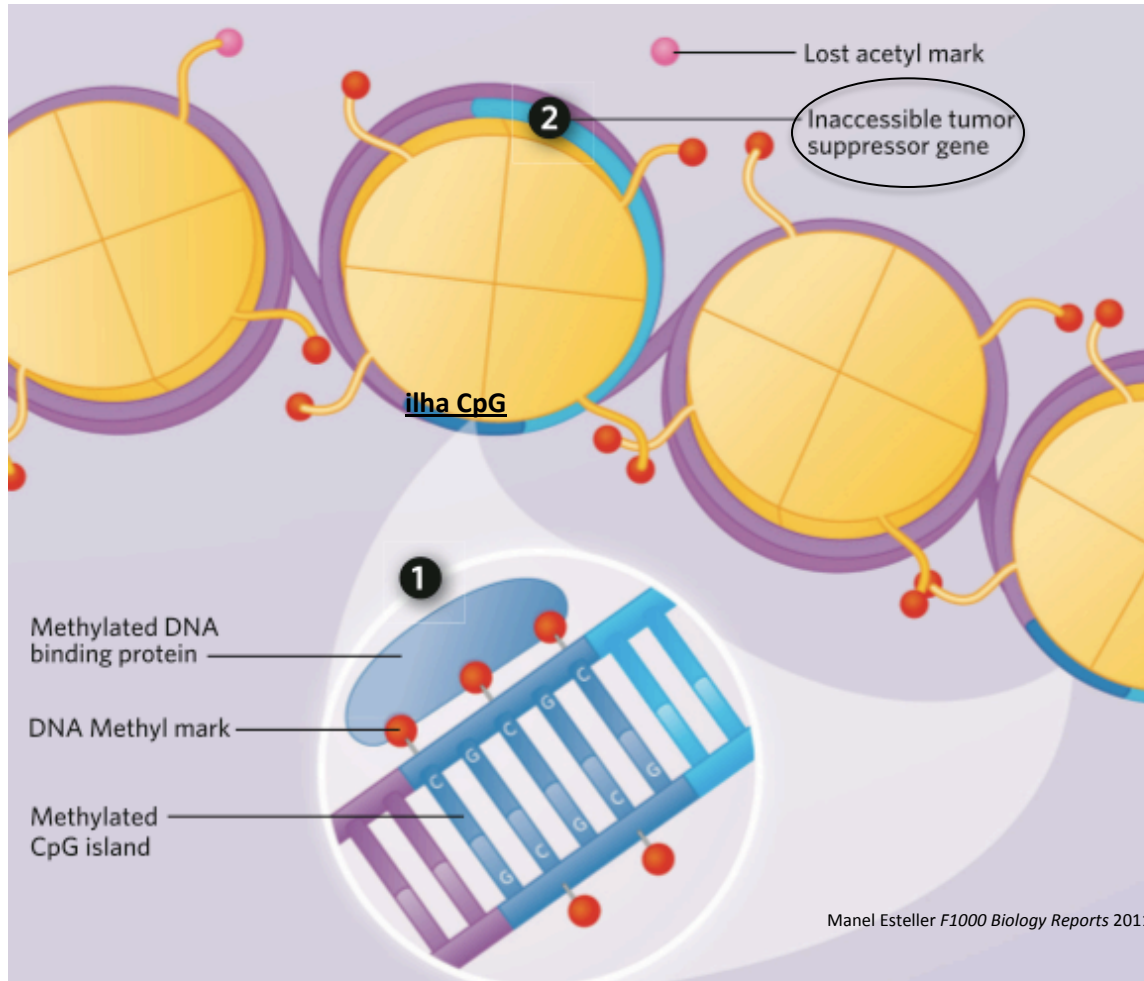
•Células normais:



Epigenética e o Cancro

Controlo epigenético:

•Células cancerígenas:



Hipermetilação
Inativação de *tumor suppressor genes*



Cancro

Hipometilação
Instabilidade genómica
Activação de transposões
Activação de oncogenes



Cancro

Epigenética e o Cancro

Modificações epigenéticas específicas resultam em determinados tipos de cancro:

Modificações patológicas de marcas epigenéticas			
Alteração epigenética		Consequências na regulação genética	Exemplos de genes afectados e cancro associado
Metilação de ADN	Hipermetilação de ilhas CpG	Repressão da transcrição	<i>MLH1</i> (colón; estômago); <i>BRACA1</i> (mama; ovário); <i>MGMT</i> (vários); <i>p16</i> (cólón)
	Hipometilação de ilhas CpG	Activação da transcrição	<i>MASPIN</i> (pâncreas); <i>S100P</i> (pâncreas); <i>SNCG</i> (mama e ovário); <i>MAGE</i> (melanomas)
	Hipometilação de ilhas CpG shore	Repressão da transcrição	<i>HOXA2</i> (cólón); <i>GATA2</i> (cólón)
	Hipometilação de microsatélites	activação de transposões e instabilidade genómica	<i>L1</i> e <i>Sat2</i>
Modificações nas Histonas	Perda de acetilação em H3 e H4	Repressão da transcrição	<i>P21</i> (<i>CDKN1A</i>)
	Perda de tri-metilação em H3K4	Repressão da transcrição	<i>Grupo HOX</i>
	Perda de tri-metilação em H4K20	Heterocromatina perde a sua estrutura	<i>Sat2</i> ; <i>D4Z4</i>
	Ganho de metilação em H3K9 e H3K27	Repressão da transcrição	<i>CDKN2A</i> ; <i>RASSF1</i>

Estudos Epigenéticos

Epigenética: Todas as alterações que se conseguem produzir num fenótipo sem alteração do genótipo

Alteração da expressão genética sem alteração da sequência dos genes

- Resulta da ação do meio ambiente, sociedade, posição geográfica, hábitos alimentares, entre outros factores ambientais e de conduta.
- Estabelecimento de ligações covalentes entre o DNA e grupos funcionais
- Modificações das ligações covalentes entre o DNA e grupos funcionais (*i.e.* : CH_3 , COCH_3)

Estudos Epigenéticos

Epigenética: Todas as alterações que se conseguem produzir num fenótipo sem alteração do genótipo

-Alteração das propriedades químicas e físicas do DNA num determinado tempo e espaço

→ Alteração da regulação da expressão genética

→ Alteração da expressão genética

→ Alteração do fenótipo

Estas alterações são transmitidas à geração seguinte, sendo o código epigenético herdado da mesma forma que o código genético.

Estudos Epigenéticos

- Em genética humana são muitas vezes efectuados estudos comparativos entre gémeos, monozigóticos e dizigóticos.
- Estes estudos são usados para estimar a importância de factores genéticos e ambientais na produção de diferenças na expressão de uma determinada característica genética (fenótipo).
- **Concordância** é a percentagem de pares de gémeos que se encontram em concordância para uma determinada característica genética.

Estudos Epigenéticos

Como gémeos idênticos tem 100% dos genes em comum e gémeos dizigóticos têm 50% dos genes em comum, uma determinada característica genética deve ter uma maior concordância em gémeos monozigóticos

Trait	Monozygotic Concordance (%)	Dizygotic Concordance (%)
Heart attack (males)	39	26
Heart attack (females)	44	14
Bronchial asthma	47	24
Cancer (all sites)	12	15
Epilepsy	59	19
Rheumatoid arthritis	32	6
Multiple sclerosis	28	5

Estudos Epigenéticos

- Uma maior concordância entre gémeos monozigóticos quando comparada com gémeos dizigóticos indica que os factores genéticos desempenham um papel importante na determinação de diferenças individuais de uma característica.
- Uma concordância baixa entre gémeos monozigóticos indica que os factores ambientais desempenham um papel importante na determinação de diferenças individuais de uma característica.
- Um dos temas bastante estudado é a obesidade.
- Através de estudos com gémeos monozigóticos e dizigóticos é possível avaliar o impacto de factores ambientais e de conduta no desenvolvimento da obesidade.

Estudos Epigenéticos

- Um dos temas bastante estudado é a obesidade.
- Através de estudos com gémeos monozigóticos e dizigóticos é possível avaliar o impacto de factores ambientais e de conduta no desenvolvimento da obesidade.

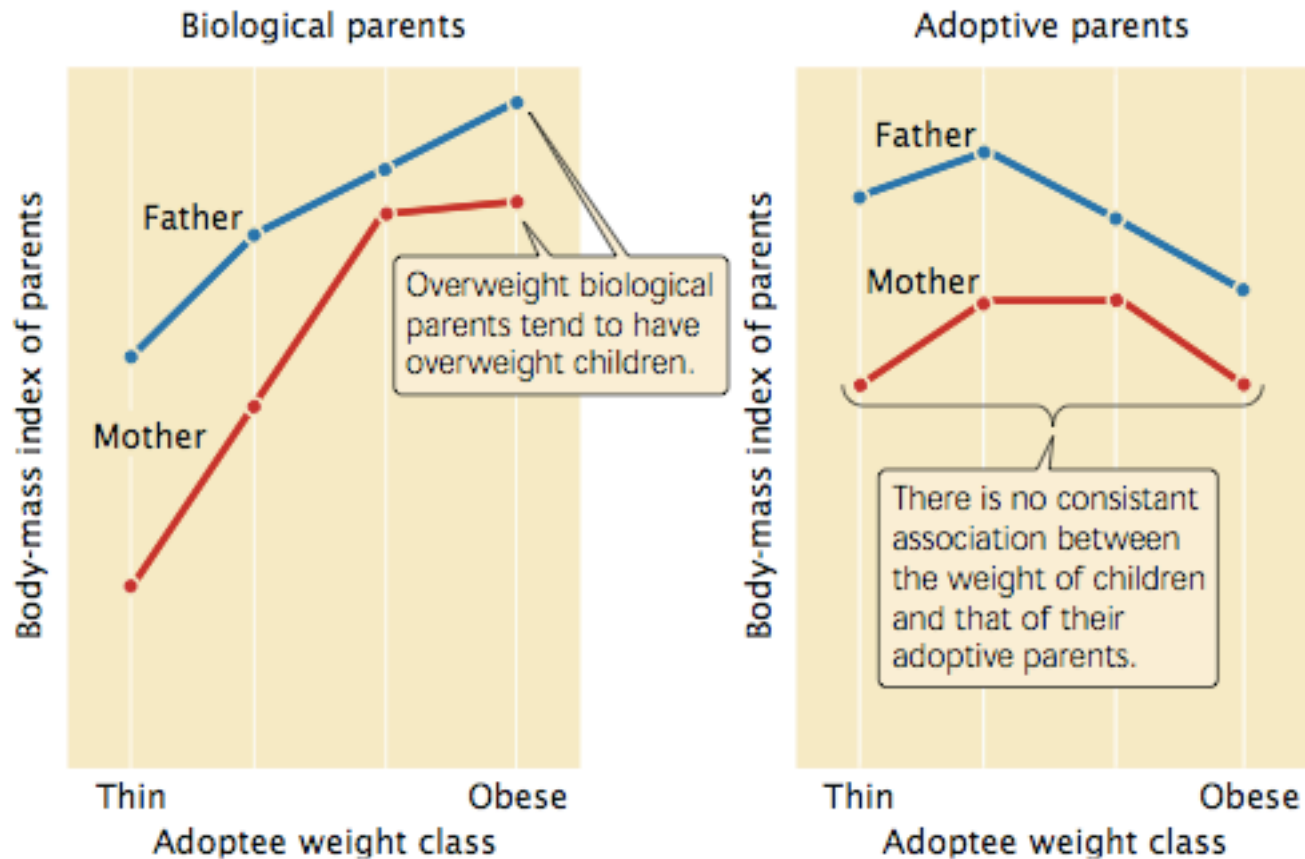


Estudos Epigenéticos

- Para além de gémeos também são usados como objeto de estudo pessoas adoptadas.
- Nestes casos são avaliadas as similitudes entre pessoas adoptadas e os seus pais adoptivos (sem relação genética com a pessoa), que indicam a influencia de factores ambientais em determinada característica.
- As similitudes entre pessoas adoptadas e os pais biológicos das mesmas indicam a influencia dos factores genéticos em determinada característica.

Estudos Epigenéticos

Exemplo de estudo genético em pessoas adotadas para avaliar a obesidade:



6.14 Adoption studies demonstrate that obesity has a genetic influence. (Redrawn with permission of the *New England Journal of Medicine* 314:195.)

Aconselhamento genético

- Processo educacional que providencia ao paciente e às suas famílias informação sobre a condição genética, implicações médicas, probabilidades que outro membro da família venha a manifestar a doença e opções reprodutivas.
- Este processo também compreende apoio psicológico que pode ser necessário em condições de stress físico associado com a condição genética em questão.

Aconselhamento genético

Este processo inclui:

- Interpretação do diagnóstico de determinada característica genética
- Informação sobre os sintomas, tratamento e prognósticos
- Ajudar o paciente e a família a compreender o modo de hereditariedade da característica
- Cálculo das probabilidades que os diferentes membros da família têm de transmitir a característica a gerações futuras

Aconselhamento genético

O Aconselhamento genético é feito por uma equipa multidisciplinar que inclui consultores, médicos de família, geneticistas, técnicos de laboratório, psicólogos, assistentes sociais entre outros profissionais de saúde e educação.



Aconselhamento genético

Razões comuns para procurar aconselhamento genético:

1. A person knows of a genetic disease in the family.
2. A couple has given birth to a child with a genetic disease, birth defect, or chromosomal abnormality.
3. A couple has a child who is mentally retarded or a close relative is mentally retarded.
4. An older woman becomes pregnant or wants to become pregnant. There is disagreement about the age at which a prospective mother who has no other risk factor should seek genetic counseling; many experts suggest that any prospective mother age 35 or older should seek genetic counseling.
5. Husband and wife are closely related (e.g., first cousins).
6. A couple experiences difficulties achieving a successful pregnancy.
7. A pregnant woman is concerned about exposure to an environmental substance (drug, chemical, or virus) that causes birth defects.
8. A couple needs assistance in interpreting the results of a prenatal or other test.
9. Both parents are known carriers for a regressive genetic disease.

Testes Genéticos

- **Triagem do recém nascido:** Os recém nascidos são testados para doenças metabólicas como a fenilcetonúria e a galactosémia
- **Triagem de heterozigóticos:** identifica os heterozigóticos portadores de alelos recessivos responsáveis por doença.
- **Teste pré-sintomático:** diagnostico precoce para doenças autossómicas dominantes que se manifestam mais tarde, como pro exemplo o cancro da mama, doença Huntington

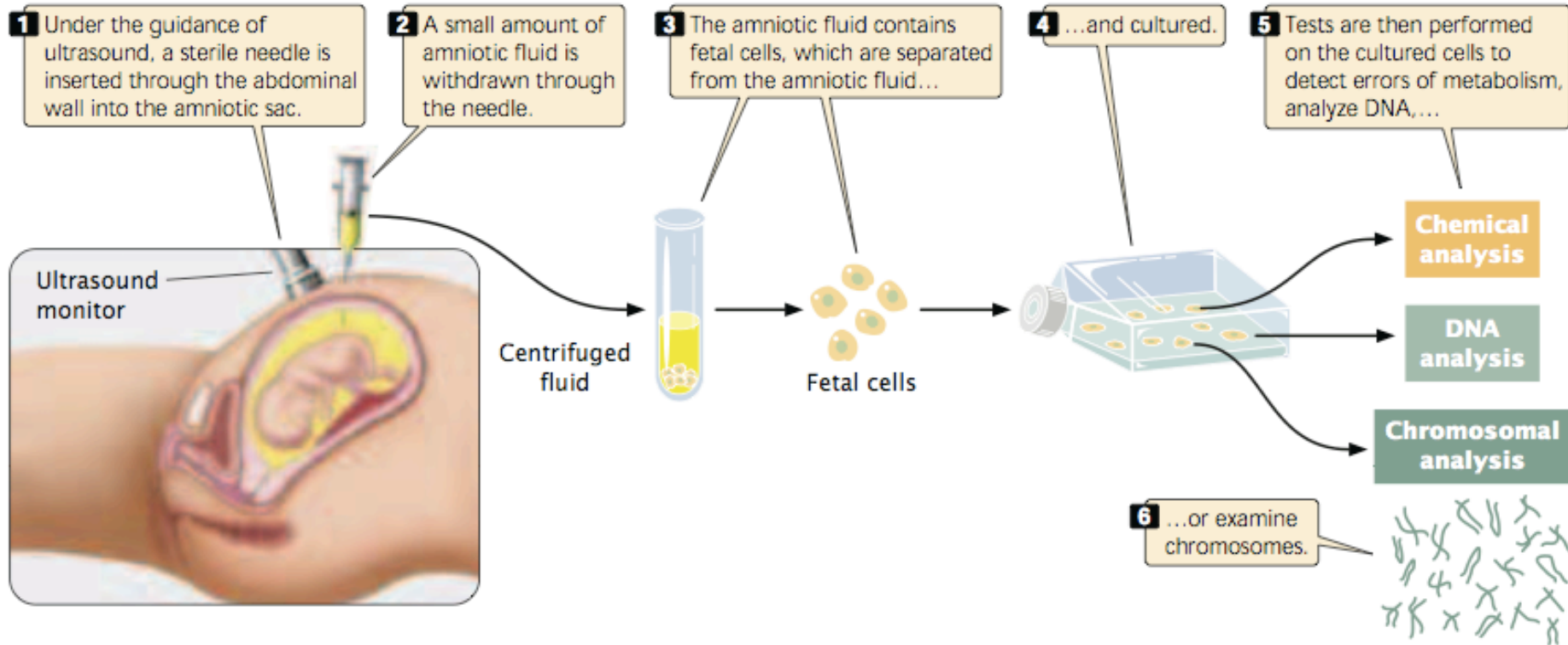
Testes Genéticos

Ultrassonografia: algumas doenças genéticas podem ser determinadas através da visualização do feto.

Amniocentese: recolha do liquido amniótico para isolamento e cultura de células fetais, que são usadas em testes genéticos (avaliação do cariótipo para estudo de alterações cromossómica e instabilidade gnómica). Este teste é feito numa fase tardia da gravidez assim que se for detetado algum problema, o aborto não é opção.

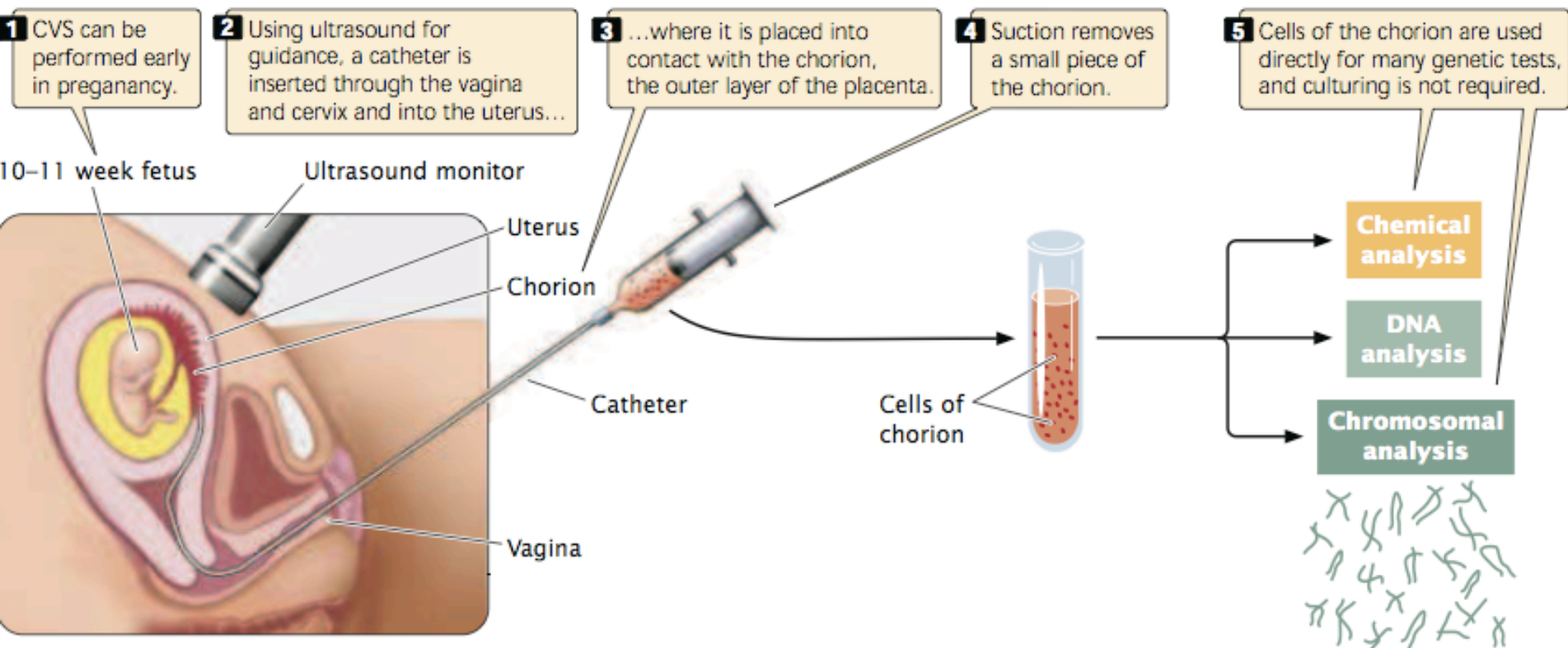
Testes Genéticos

Amniocentese



Testes Genéticos

Chorionic villus sampling (CVS): consiste na colheita de células fetais numa fase mais precoce da gravidez o permite o aborto no caso de existir algum problema grave com o feto.



6.17 Chorionic villus sampling is another procedure for obtaining fetal cells for genetic testing.

Testes Genéticos

Teste sanguíneos: algumas doenças genéticas podem ser detetadas através de testes bioquímicos no sangue materno, como por exemplo:

- Avaliação da alpha-fetoproteína que se encontra aumentada quando o feto apresenta problemas ao nível do desenvolvimento do tubo neural e diminuída na presença de alguns tipos de alterações cromossómicas.