



GOVERNO DE
PORTUGAL

MINISTÉRIO DA SAÚDE

Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge



Workshop 'O papel da Genética Humana na Saúde Pública' INSA, 8 de Outubro de 2012

Predisposição genética a doenças crónicas do envelhecimento

Peter Jordan

**Departamento de Genética Humana,
Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Lisboa**

Envelhecimento



Programação intrínseca da vida biológica:

fase de desenvolvimento - fase reproductiva - senescência - morte

Mecanismos fisiológicas do envelhecimento

**Substituição limitada de células somáticas
(telómeros !);**



Acumulação de danos moleculares (ROS):

- diminuição de mecanismos de reparação/regeneração
 - desgaste fisiológico do corpo na idade adulta
- **impacto dos factores ambientais**
(genes de longevidade operam em vias metabólicas)

→ **Redução da eficiência dos órgãos e doenças do envelhecimento:**

- a hipertensão arterial e doenças cardiovasculares
- o cancro
- a diabetes mellitus
- a osteoporose
- doenças neurodegenerativas

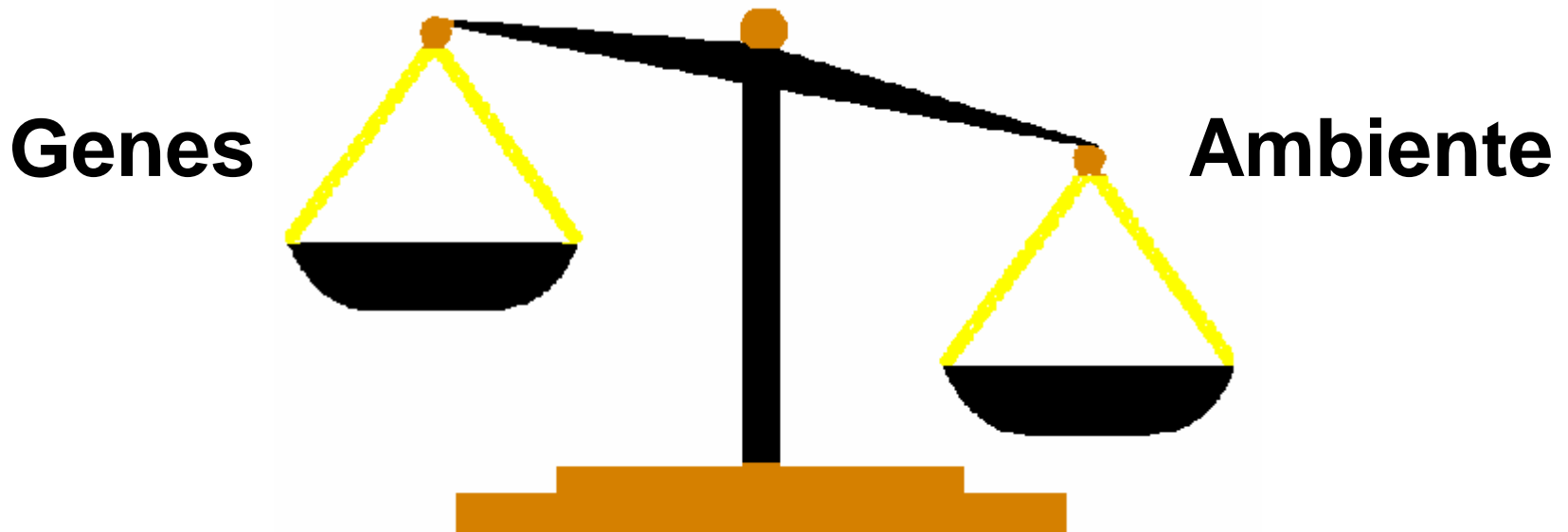
Genética do Envelhecimento =

programação biológica

+ factores de risco ambientais modificáveis

- estilo de vida (tabagismo, consumo de álcool, sedentarismo, hábitos alimentares, actividade física),
- exposição ambiental ou ocupacional

+ factores genéticos predisponentes



Sequênciação do genoma humano

= sequência padrão de 10 indivíduos

- Listagem dos genes codificantes
- Somos 99.9% iguais
- diferenças = polimorfismos



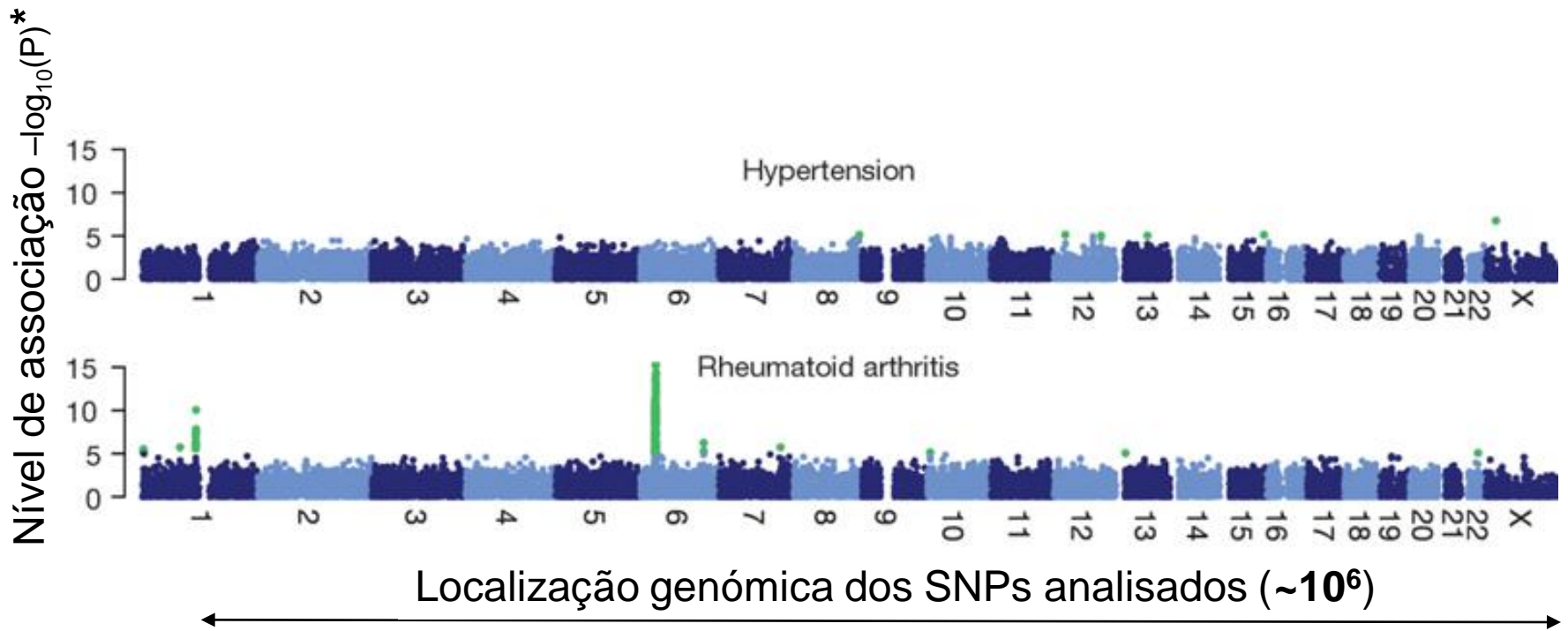
Varição genética individual:

- Identificação das variantes - projecto SNP/HapMap
- 90% são SNPs (+ CNV, del, ins)
- Previsão de 30 milhões SNPs na população humana
- ~1% estimado de afectar fenótipos

Genome-wide association studies (GWAS)

- Estudos caso-controle (grupo doentes vs saudáveis; n>10 000)
- utiliza amostra de DNA genómico e análise com SNP arrays
- Abordagem imparcial ('unbiased') sem selecção de genes candidatos
- testar o modelo 'doença comum – variante comum'

Genome-wide association studies (GWAS) 'Manhattan plot'



* Diferença na frequência de cada variante genética comparando os grupos de doentes e de indivíduos normais

Conclusão geral dos estudos GWAS

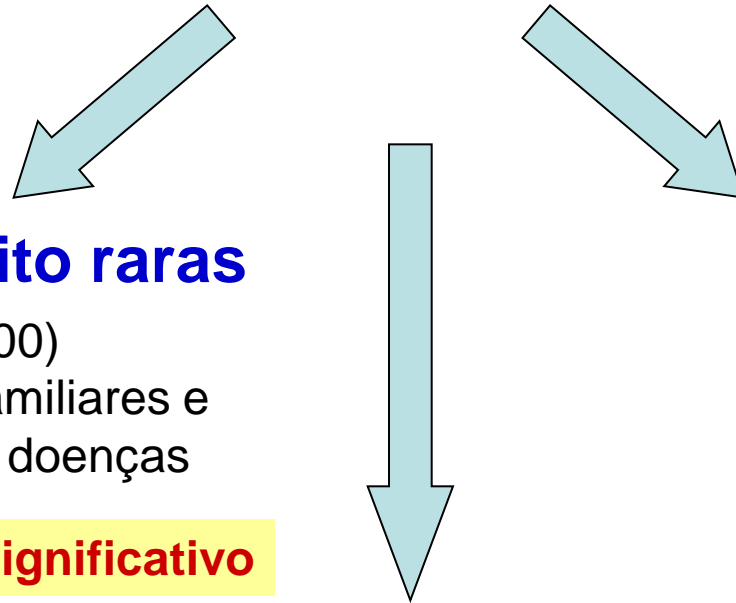
Genes e predisposição

Mutações muito raras

(< 1/100 000)

causam formas familiares e
monogénicas de doenças

Efeito fisiológica significativo



Doenças hereditárias raras da tensão arterial afectam a homeostase electrolítica renal

<i>Doença</i>	<i>Gene mutado</i>	<i>Fenótipos da doença</i>
Doença de Liddle	Canal epitelial de Na ⁺ ENaC	Hipertensão Absorção excessiva de Na ⁺ no nefrónio distal
Pseudohipoaldosteronism do tipo I (PHA-1)	Canal epitelial de Na ⁺ ENaC	Hipotensão desperdício renal de sais e ausência de resposta à aldosterona
Síndrome de Gitelman	co-transportador Na/Cl NCC	Hipotensão hipocalciúria, hipomagnesaemia, alcalose hipokalémica
Síndrome de Bartter tipo I	co-transportador NKCC2	
Pseudohipoaldosteronism do tipo II (PHA-2)	WNK4, WNK1 (regulam ROMK, NCC, fluxo para-celular de Cl ⁻)	Hipertensão, (Hiper calciúria) hiperkaliémia, acidose hiperclorémica
Doença de Dent	Canal de Cl ⁻ CLC-5	Formação de pedras renais, proteinúria
Síndrome de Bartter tipo III	Canal de Cl ⁻ CIC-Kb,	Hiper calciúria , Desperdício renal de sais, alcalose hipokalémica
Síndrome de Bartter tipo II	Canal de K ⁺ ROMK1	Hiper calciúria , Desperdício renal de sais, alcalose hipokalémica

Conclusão geral dos estudos GWAS

Genes e predisposição

Mutações muito raras

(< 1/100 000)
causam formas familiares e
monogénicas de doenças

Efeito fisiológica significativo

Escapam aos GWAS

Mutações raras

(1/1000 – 1/100)
conferem predisposição
à doenças

Efeito fisiológica mensurável

Escapam aos GWAS

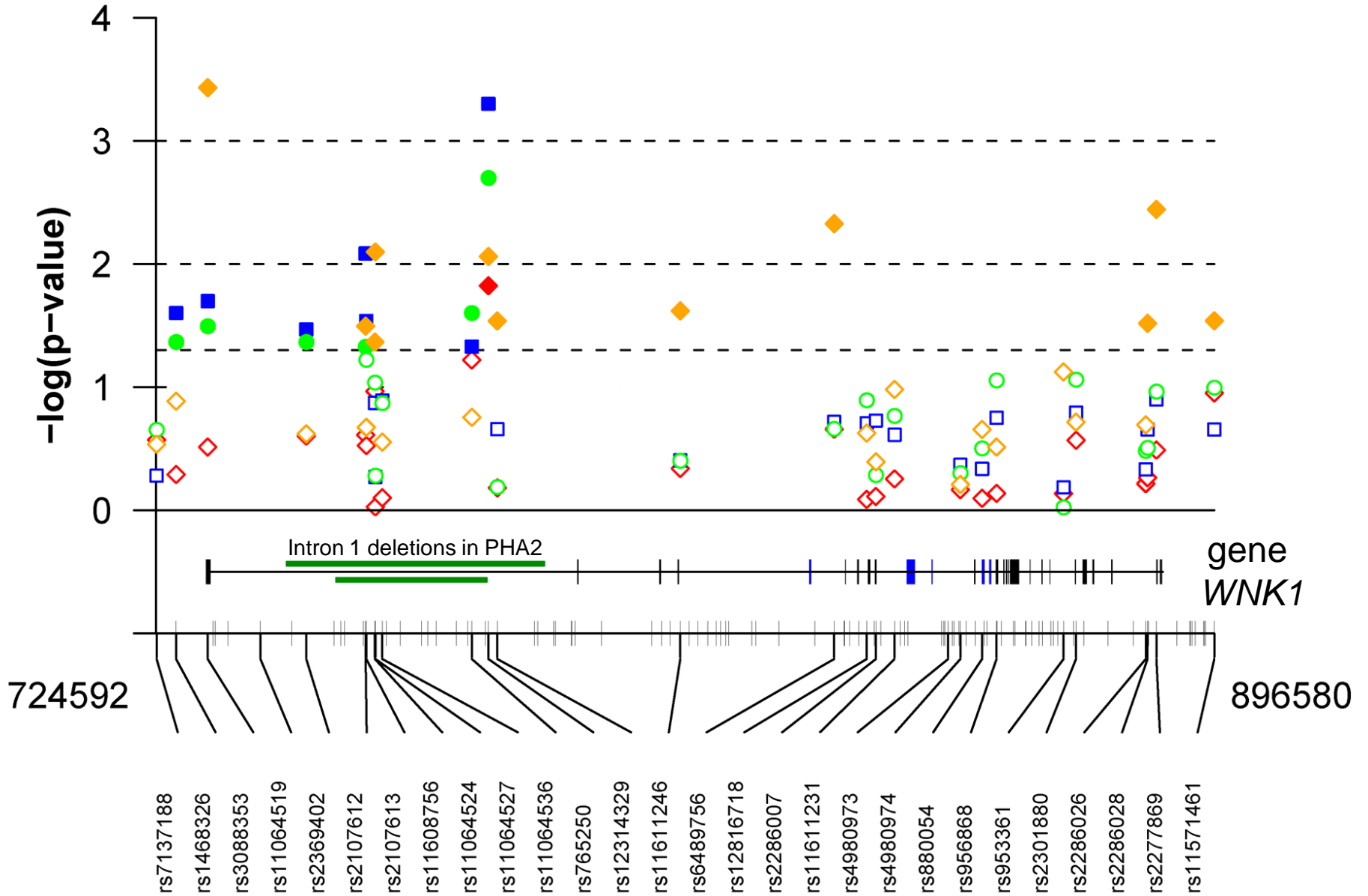
Variantes génicas comuns

(1/100 – 1/20)
conferem predisposição
à doenças

Efeito fisiológica fraco

Polimorfismos em *WNK1* e tensão arterial

WNK1



Conclusão do estudo sobre WNK1

(Newhouse et al (2009). PLoS ONE 4: e5003.)

“In the combined meta-analysis, we confirmed association between SNP rs765250 and Systolic Blood Pressure (SBP) and carriers of rs765250 allele [A] were associated with an overall increase in SBP equivalent to ~2.0 mm Hg.”

Um novo modelo para a predisposição genética:

é o efeito cumulativo de múltiplas variantes genéticas comuns, cada uma com reduzido efeito fenotípico, que tem de ser identificada (exige rastreios genéticos complexos)

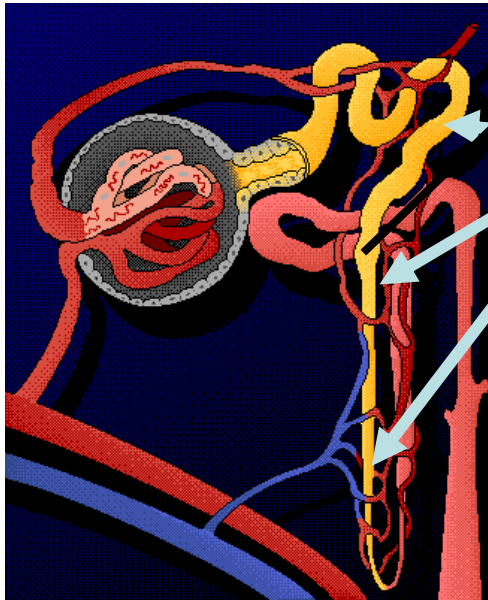
Efeito das variantes comuns está na ordem do impacto da adoção de um estilo de vida mais saudável (gene versus ambiente; medidas de promoção da saúde pública)

Hipótese

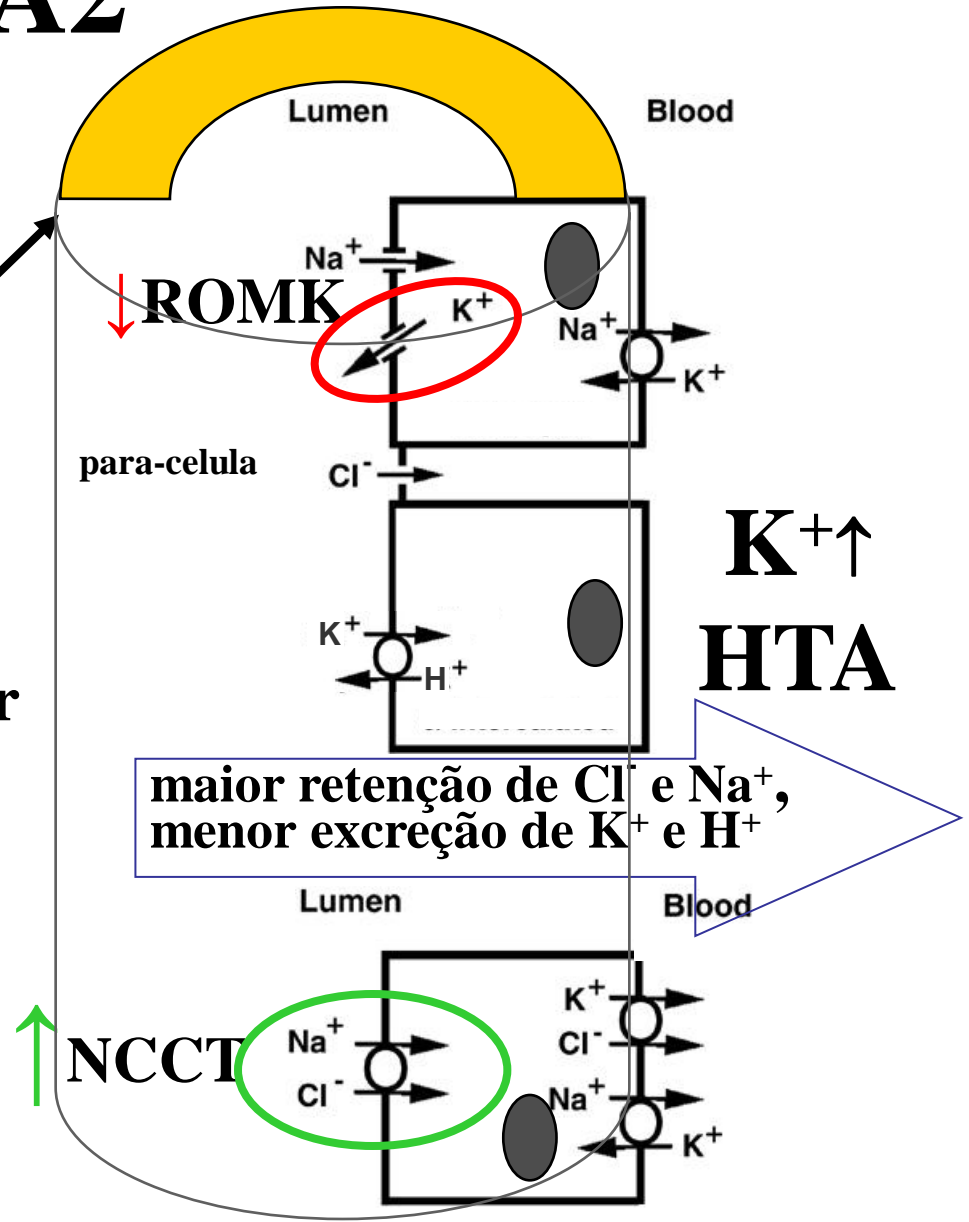
**Na população geral existem
variantes polimórficas
dos genes *WNK1* e *WNK4*
que conferem
uma predisposição genética para
a hipertensão essencial e/ou osteoporose**

Modelo da patofisiologia renal em doentes PHA2

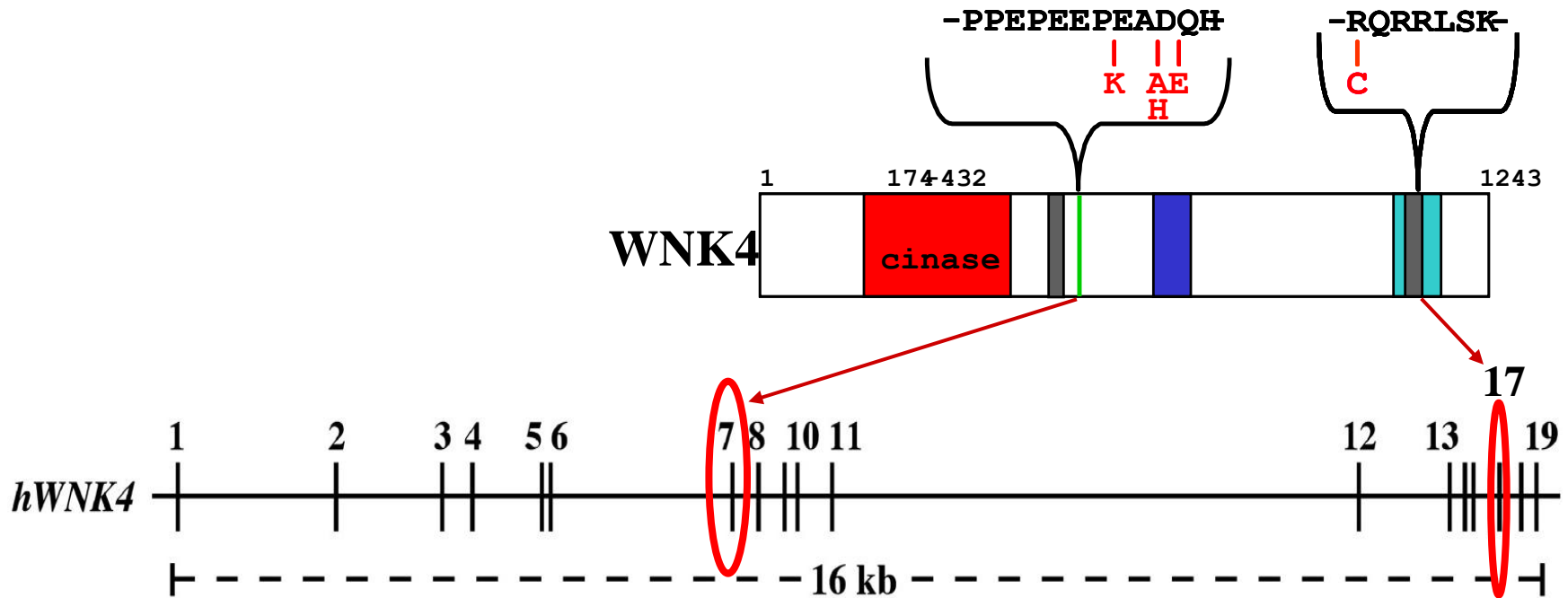
nefrónio



Ducto Colector
WNK1
WNK4



O exemplo das mutações de *WNK4* em doentes PHA2



→ **PCR + sequenciação**

WNK4 ex 7 e 17

Resultados

Dez variantes genéticas encontradas em 4,3 % das amostras

Exão/Intrão	Nucleótido	Proteína	SNP	Frequência	
IVS6	c.1477(-13)A>G	n. a.	rs61754357	6/601	1.0%
7	c.1523G>A	R508H	rs5599715	1/601	0.2%
7	c.1524 T>C	R508R	rs55879206	2/601	0.3%
7	c.1598T>C	L533P	não designada	1/601	0.2%
7	c.1641C>T	A547A	rs9916754	15/601	2.5%
7	c.1653C>T	P551P	rs55751736	8/601	1.3%
7	c.1664C>G	P555R	rs57737815	4/601	0.7%
7	c.1719 C>T	H573H	rs56243382	2/601	0.3%
IVS16	c.3448(-20)T>C	n. a.	rs61755630	4/960	0.4%
17	c.3610C>T	R1204C	rs56116165	9/960	0.9%

Amostra	Grupo de doentes	Exão/intrão	Nucleótido	Proteína	Frequência
201	Controlo normal	Ex 7	c.1641C>T	A547A	15/601
261	Controlo normal				
D4	Controlo normal				
D45	Controlo normal				
D109	Controlo normal				
1MF	Hipertensão essencial				
7MF	Hipertensão essencial				
47MF	Hipertensão essencial				
66MF	Hipertensão essencial				
273	Hipertensão essencial				
67G	Hipertensão na gravidez				
92G	Hipertensão na gravidez				
172	Hipertensão + baixa DMO				
182	Hipertensão + baixa DMO				
25	Osteoporose				
420	Controlo normal	Ex 17	c.3610C>T	R1204C	9/960
150	Osteoporose + Hipertensão				
317	Osteoporose + Hipertensão				
699	Osteoporose + Hipertensão				
70	Osteoporose + Hipertensão				
104	baixa DMO				
606	Osteoporose				
2	Osteoporose				
514	Osteoporose				

Grupos comparados	Fisher's exact test			Logistic regression model		
	logOR	IC	P-value	logOR	IC	P-value
Hipertensos <i>versus</i> Controlos	0.38	(-0.70; 2.10)	0,650	0.89	(-1.30; 3,08)	0.428
DMO baixo <i>versus</i> DMO normal	0.92	(0.04; 2.60)	0,020	2.1.2	(0.04; 4.20)	0.046

Resultados significativos estão assinalados em letra gorda.

Abreviaturas: DMO, densidade mineral óssea; IC, intervalo de confiança; logOR, logaritmo odds ratio.

Resumo dos resultados

- 1) Variantes genéticas do gene *WNK4* são raras na população Portuguesa estudada**
- 2) Não se verificou nenhuma associação entre variantes do gene *WNK4* e o fenótipo de hipertensão essencial na população estudada**
- 3) Foi identificada uma variante rara na população portuguesa que está associada à osteoporose**
→ Indica predisposição genética à osteoporose

Genes e predisposição

WNK4 R1204C

Mutações muito raras

(< 1/100 000)

causam formas familiares e monogénicas de hipertensão

Efeito fisiológica significativo

Escapam aos GWAS

Mutações raras

(1/1000 – 1/100)

conferem predisposição à hipertensão

Efeito fisiológica mensurável

Escapam aos GWAS





Variantes génicas comuns

(1/100 – 1/20)

conferem predisposição à hipertensão

Efeito fisiológica fraco

Contribuições da Investigação em Genética Humana para Ganhos em Saúde Pública

-  Identificar variantes genéticas na população que predispõe à doenças comuns do envelhecimento (hipertensão essencial, osteoporose, diabetes ou cancro) e desenvolver testes moleculares.
 - ➔ Determinar o factor de risco genético do indivíduo
-  Fornecer o fundamento científico para uma intervenção preventiva do médico face aos vários factores de risco de cada indivíduo.
-  Determinar a prevalência de variantes de risco na população Portuguesa em geral
(dimensão do problema e necessidade de medidas preventivas)
-  Colaborar no esclarecimento do papel fisiológico das variantes de risco para viabilizar futuras abordagens terapêuticas.

Agradecimentos

Instituto Nacional de Saúde

Ana Mendes, Sónia Matos, Inês Sousa

Faculdade de Medicina de Lisboa, Laboratório de Genética

Joana Ferreira, Prof. Dr. Manuel Bicho

Hospital de Santa Maria, Serviço de Endocrinologia

Dra Ana Paula Barbosa, Prof. Dr. Mário Rui Mascarenhas

FCT

Fundação para a Ciência e a Tecnologia

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E ENSINO SUPERIOR



FUNDAÇÃO
MERCK SHARP & DOHME