

Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, INSA I.P.

Laurentino Simão

As Doenças Genéticas: o papel do INSA

Escola Secundária de Anselmo de Andrade
8 de Abril de 2013



O que é a Genética?

- A **Genética** é o estudo dos genes
- A Genética é uma ciência multidisciplinar. Envolve o estudo da hereditariedade e da variação nos organismos vivos
- **Genética Humana** - estudo científico da diversidade biológica da espécie humana
- **Genética Médica** - aplicação dos conhecimentos da Genética Humana à clínica na perspectiva de ajudar os indivíduos com uma desvantagem genética a viver e reproduzir-se de uma forma o mais normal possível (OMS)

Como começou a aventura da genética moderna?

1953, James Watson e Francis Crick, – descreveram a estrutura molecular do DNA

1953 DNA double helix



Francis Crick
DNA

By the time
structure

- DNA is
parts: a p
turn linke
guanine
with pho
determin

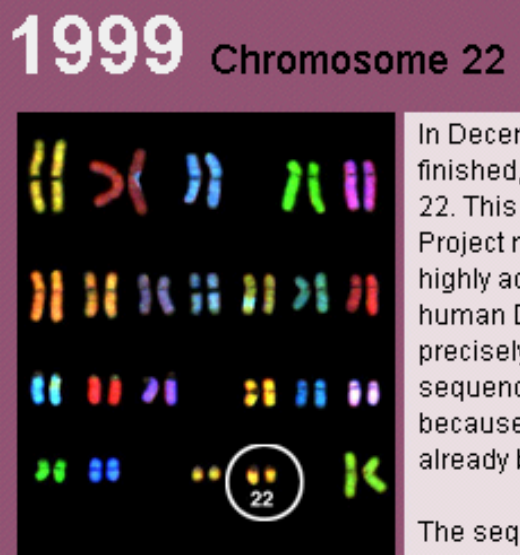


Avanços e perspectivas da Genética Humana

- ❑ **Gregor Mendel, 1865** – descoberta dos princípios da hereditariedade
- ❑ Hugo de Vries, Carl Correns e Erich von Tschermak, 1902 – redescobriram e enunciaram as leis de Mendel
- ❑ A. Garrod, 1902 – descreveu a alcaptonúria (erro inato de metabolismo) como o 1º exemplo humano da herança mendeliana – herdada com carácter recessivo de acordo com as leis de Mendel
- ❑ Beadle e Tatum, 1941 – “um gene-um enzima”
- ❑ **James Watson e Francis Crick, 1953** – descreveram a estrutura molecular do DNA (Prémio Nobel em 1962)

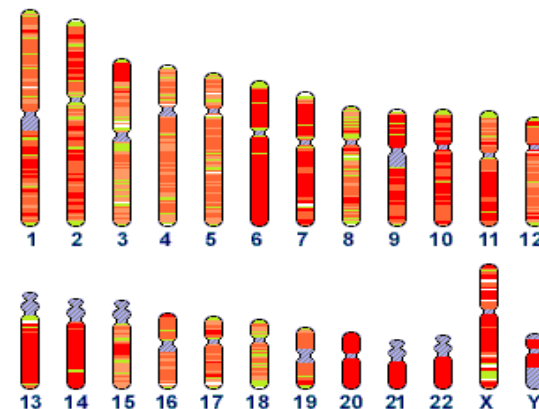
Avanços e perspectivas da Genética Humana

- ❑ 1950 - estudo dos cromossomas humanos e desenvolvimento da citogenética
- ❑ 1970 - desenvolvimento de novas tecnologias para manipulação e análise do DNA → genética molecular
- ❑ 1990 - Projecto do Genoma Humano...
- ❑ 2003 - sequenciação completa do genoma humano
- ❑ Novas metodologias e questões éticas



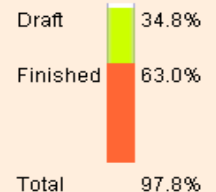
31 Dez 2001

Sequencing Progress



Genome Watch

31 Dec, 2001



Assumptions and additional statistics...

O Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA,IP)

- O INSA é composto por vários departamentos:
- Genética;
- Doenças infecciosas;
- Alimentação e Nutrição
- Epidemiologia
- Promoção da saúde e doenças crónicas
- Saúde ambiental
- Fundado em 1899
- Desenvolve actividade como laboratório do estado no sector da saúde
- Diagnóstico e prevenção da doença
- Formação
- Difusão da cultura científica
- Prestação de serviços

Departamento de Genética

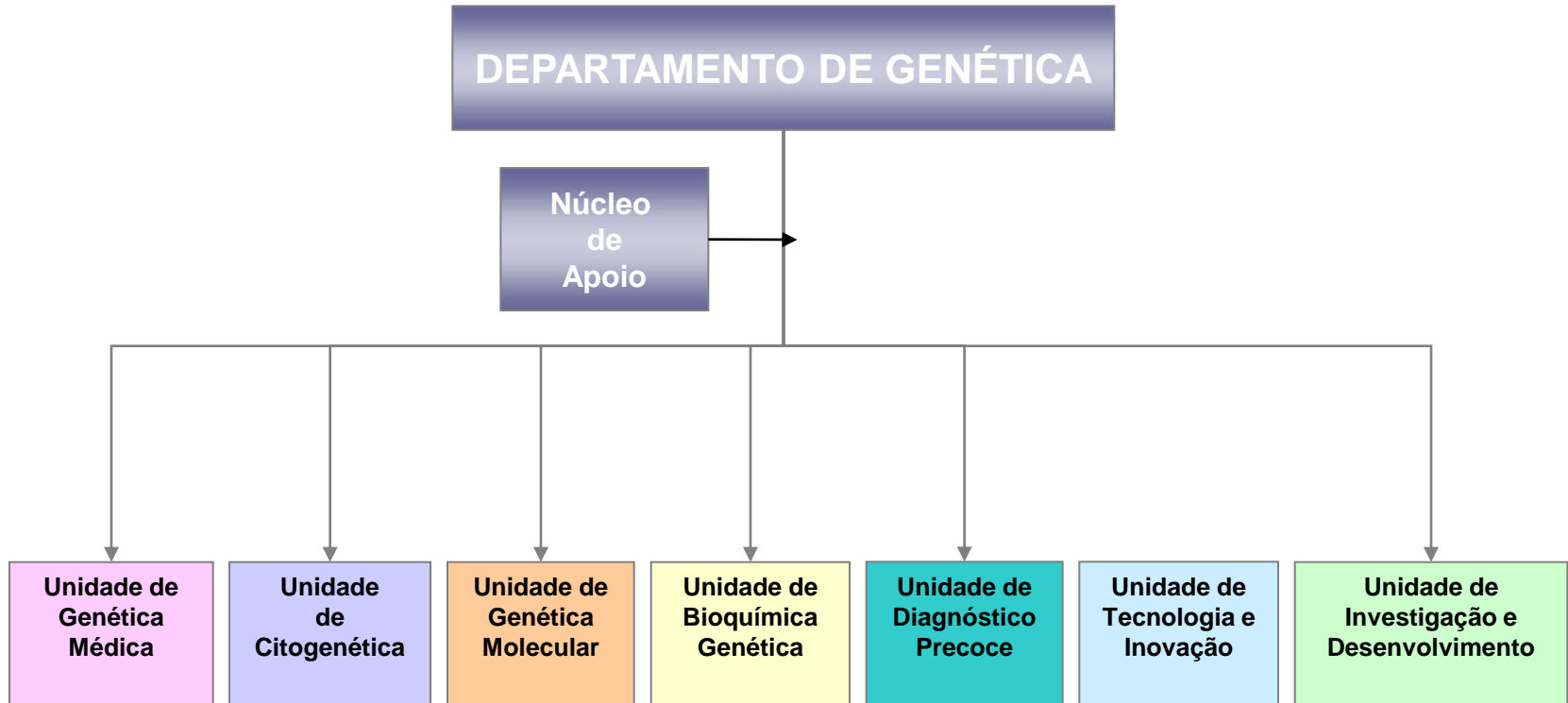


O Centro de Genética Humana (actual Departamento de Genética) foi fundado em 1975 como laboratório de citogenética, expandindo-se posteriormente para outras áreas da investigação e do diagnóstico de doenças genéticas.

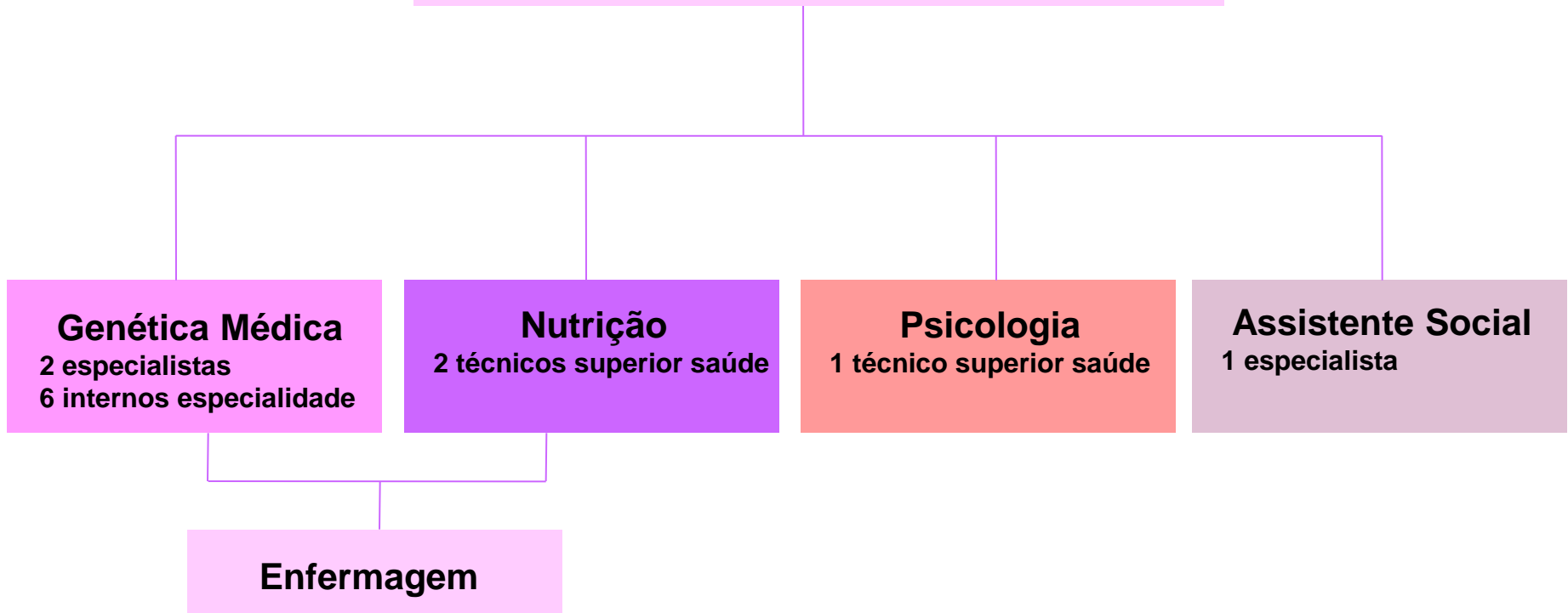
Departamento de Genética

Objectivos

- Desenvolvimento de projectos de Investigação e Desenvolvimento (I&D) em diversas áreas da Genética Humana;
- Prestação de serviços de diagnóstico de doenças genéticas;
- Formação profissional e formação pré e pós-graduada em colaboração com as universidades, nas áreas da biologia molecular humana, oncobiologia, toxicologia genética e citogenética.

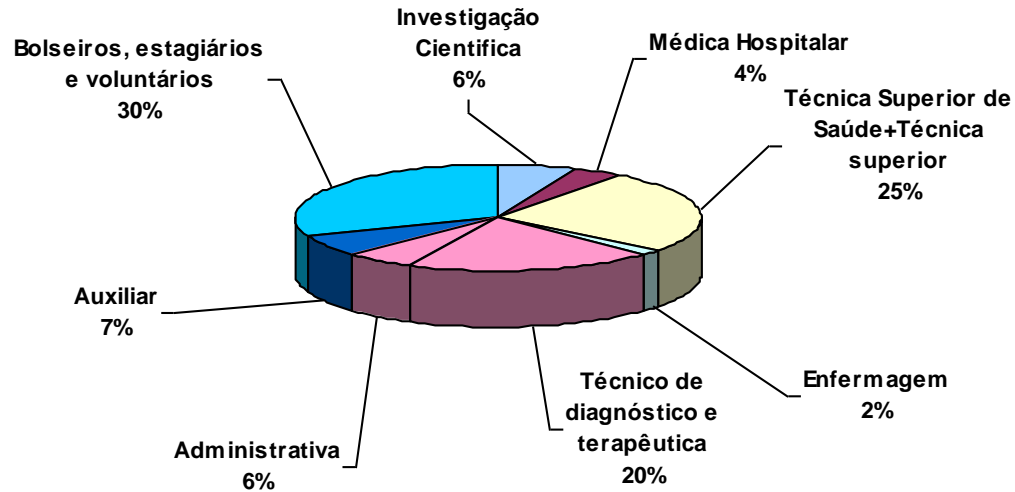


Unidade de Genética Médica

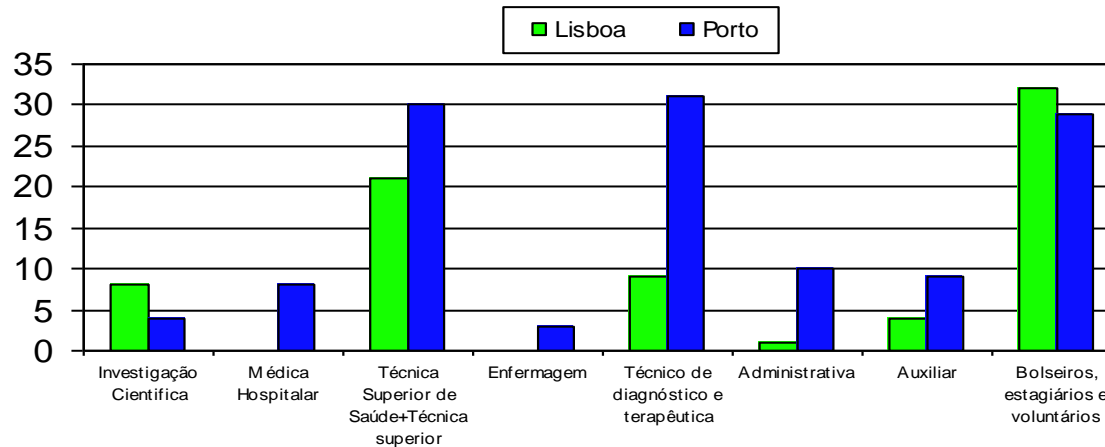


Recursos Humanos

Recursos humanos por carreira



Distribuição por carreira e área geográfica

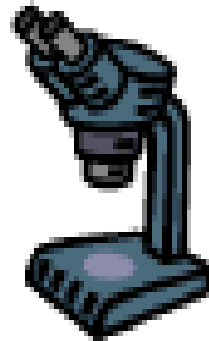


Prevalência das doenças genéticas

<i>Tipo de doença genética</i>	<i>Prevalência estimada por 1000 indivíduos</i>
D. Cromossómicas	6 - 7
D. Monogénicas	
Autossómicas dominantes	2 – 10
Autossómicas recessivas	2
Recessivas ligadas ao X	1 - 2
D. Multifactoriais com forte componente genética	7 - 10
Malformações congénitas	20
Total	38 - 51

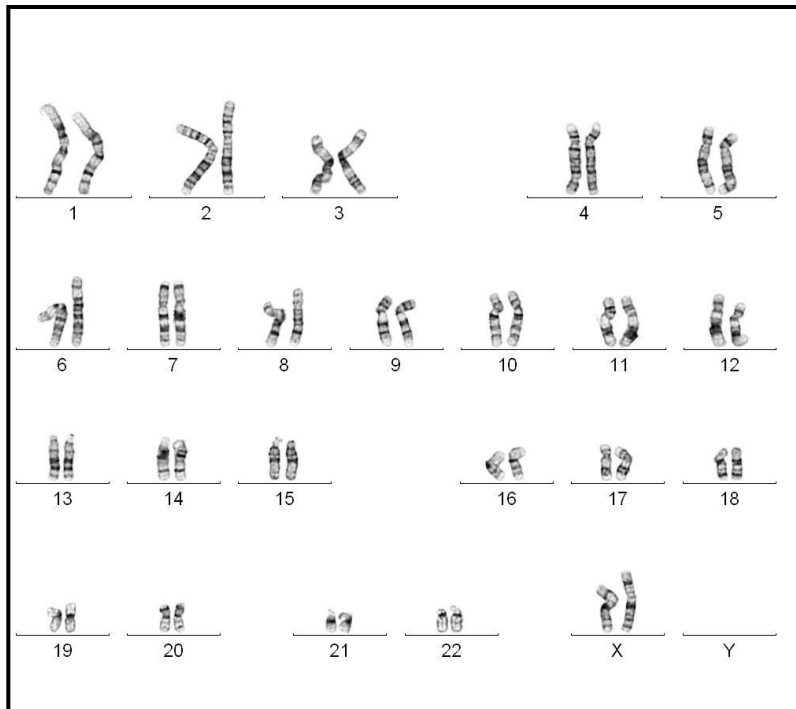
Unidade de Citogenética

- Estudos cromossómicos no feto e na população (Diagnóstico Pré-Natal de Anomalias Cromossómicas e Diagnóstico Pós-Natal);
- Estudos cromossómicos neoplasias (tumores sólidos e doenças hematológicas malignas);
- Análise molecular rápida de aneuploidias → permite uma tomada de decisão terapêutica mais precoce;
- Estudos por hibridação *in situ* (FISH) contribuem para uma caracterização mais precisa em muitos casos de anomalia citogenética constitucional e oncológica.

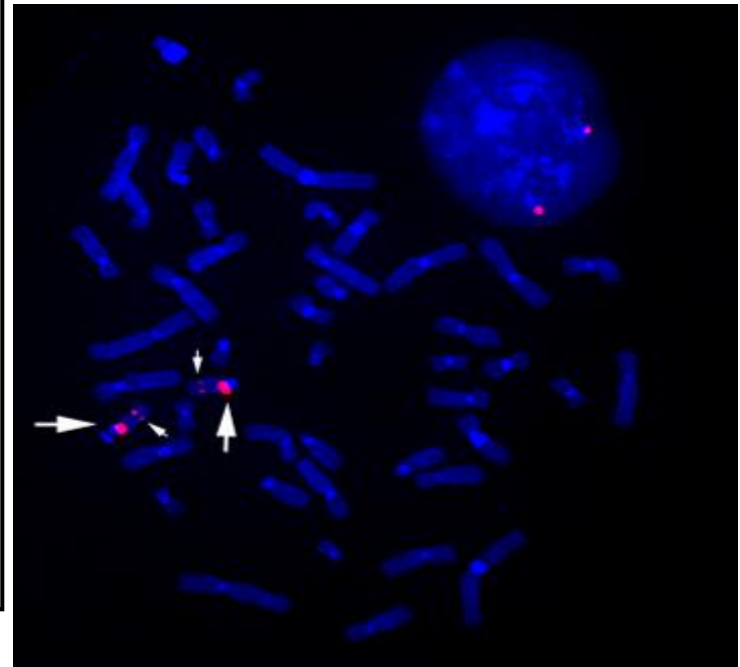


Alterações Cromossómicas: Da Citogenética convencional à Citogenética Molecular

Citogenética Clássica Cariotipo

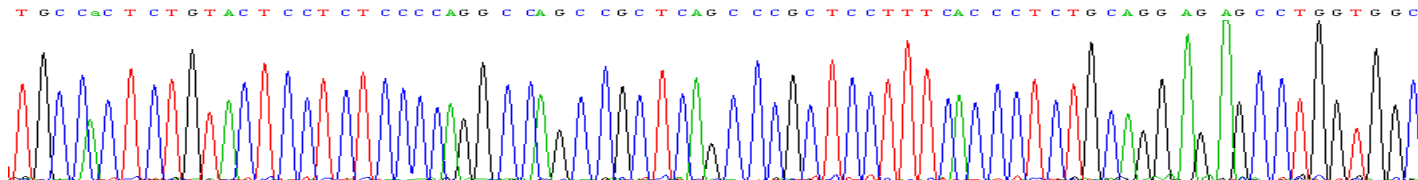


Hibridação *in situ* (FISH)



Unidade de Genética Molecular

Realizar testes genéticos de base molecular em diferentes
doenças genéticas,
Período: pré-natal, pós-natal;
Testes: de apoio ao diagnóstico, preditivos, de rastreio
populacional



Unidade de Genética Molecular



Lisboa

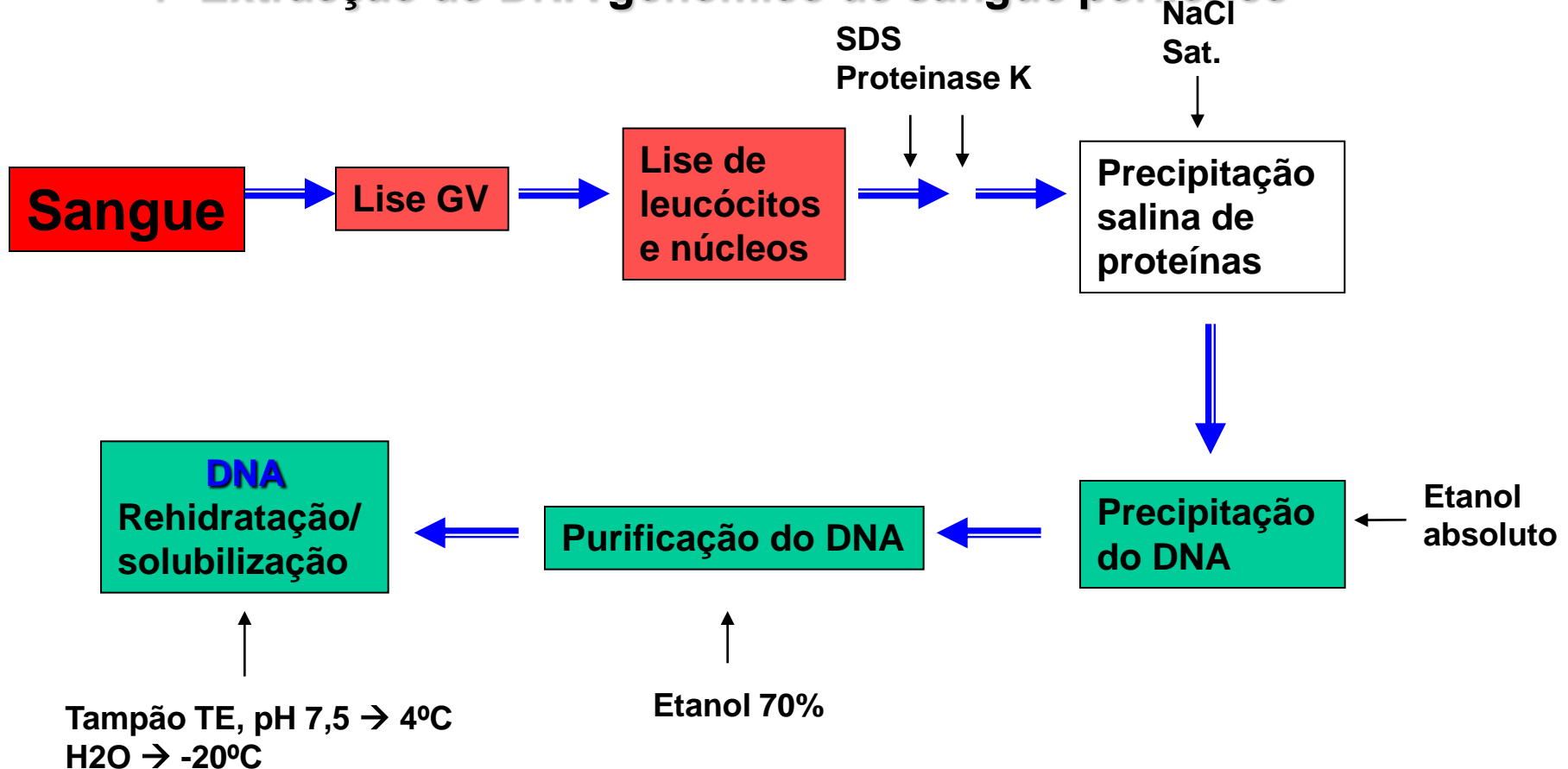
Cancro da mama
Cancro do cólon
Diferenciação sexual e Inf. masculina
Doenças hemorrágicas hereditárias
Doenças priónicas
Factores genéticos de risco trombótico
Fibrose quística
Hemocromatose
Hemoglobinopatias
Malignidade hematológica
Neuroblastoma
Síndrome de Lowe e doença de Norrie
Síndrome de imunodef. por hiper IgM
Trombofilias hereditárias

Porto

Atrofia muscular espinhal
Cardiomiopatias
Distrofias musculares
Determinação de zigotia
Hipertermia maligna
Hipotireoidismo congénito
Miopatias congénitas
Neuropatias
Atraso mental ligado ao cromossoma X
Rastreio rápido de aneuploidias
Sínd. Schwachman-Bodian-Diamond
Sínd. de Gilbert e de Crigler-Najjar
Sínd. de Cornélia de Lange

Como se estudam as doenças genéticas?

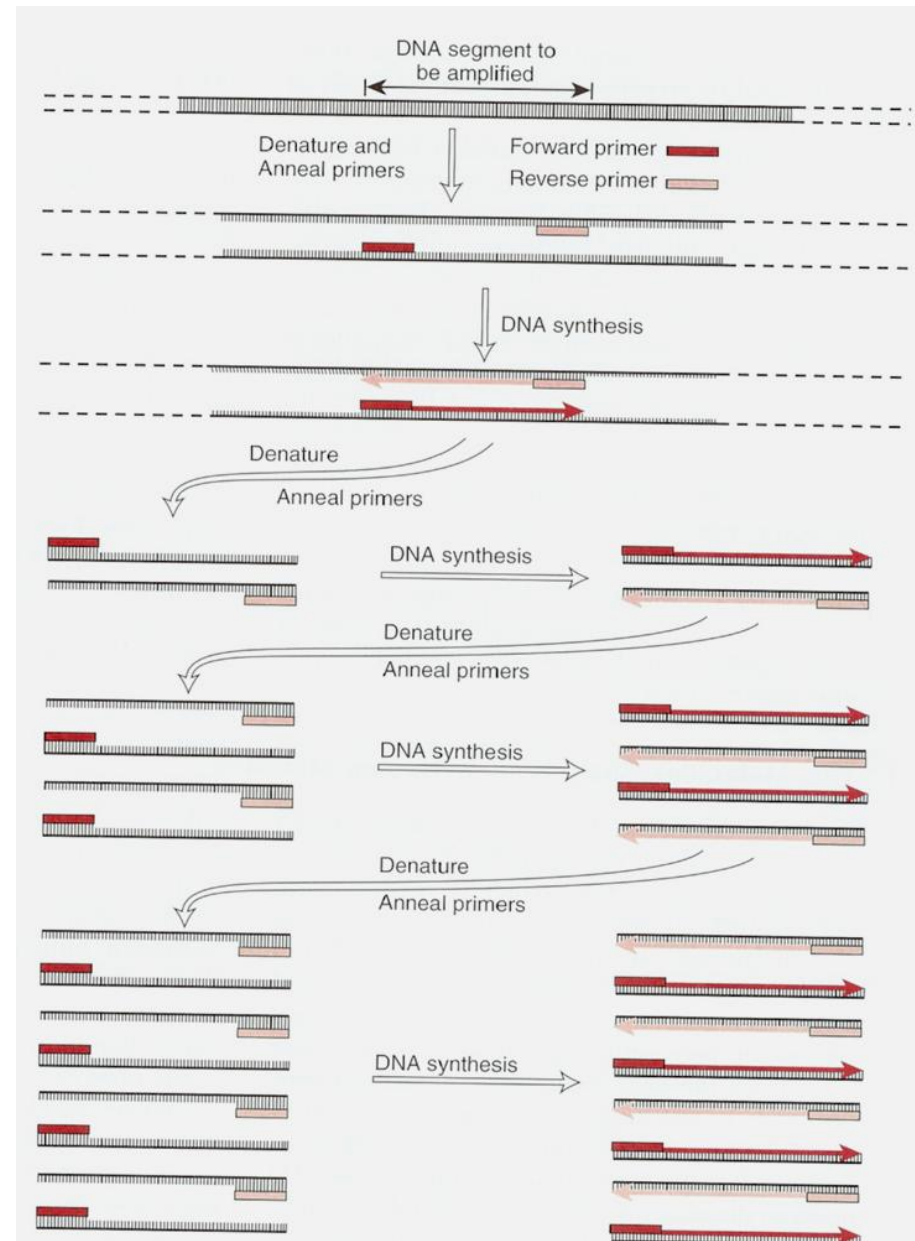
1- Extração de DNA genómico de sangue periférico



DNA - Extraído de qualquer tecido com células nucleadas

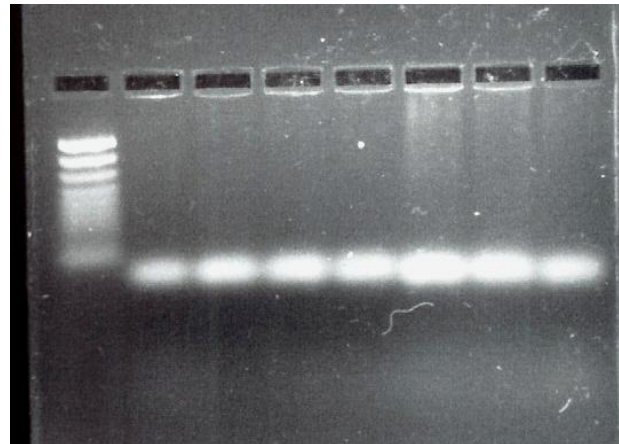
2- PCR- Reacção em cadeia da polimerase

- permite a amplificação enzimática *in vitro* de uma sequência específica de DNA (Saiki et al., 1985) utilizando oligonucleótidos específicos que servirão como iniciadores (*primers*) da acção da polimerase
- Através da síntese repetida da região do DNA situada entre os 2 primers, essa região é selectivamente amplificada de uma forma exponencial.
- Após 30 ciclos de amplificação → > 1 bilião de cópias da sequência



Algumas aplicações da PCR em Genética Humana

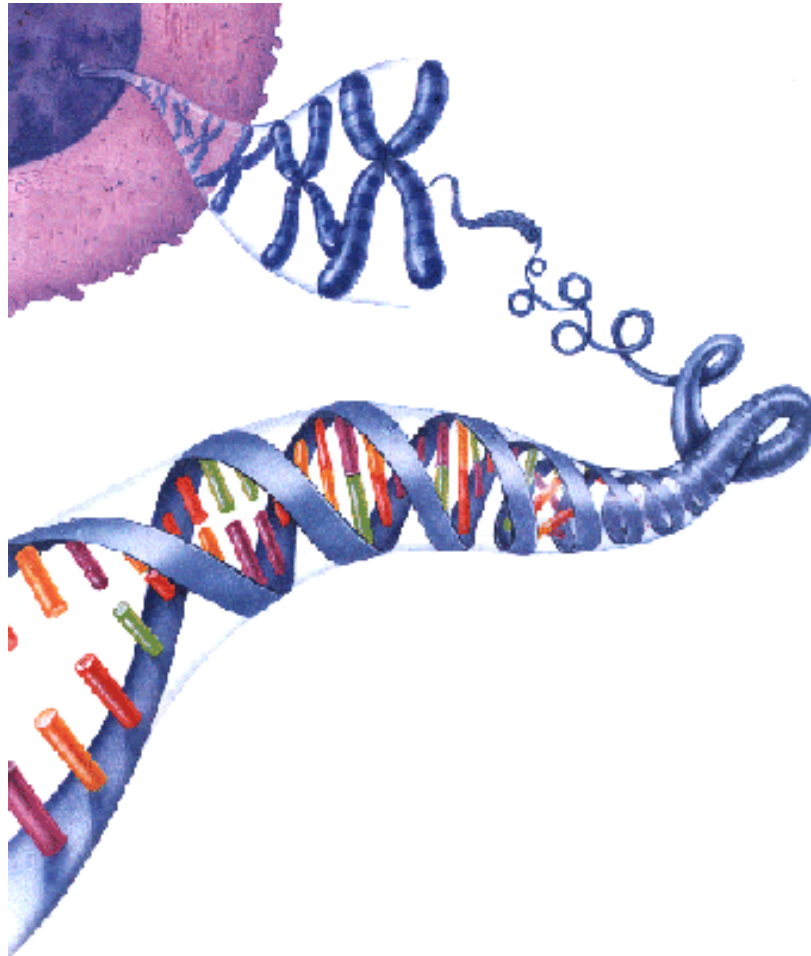
□ Amplificação de um fragmento de DNA para pesquisa e identificação de mutações pontuais



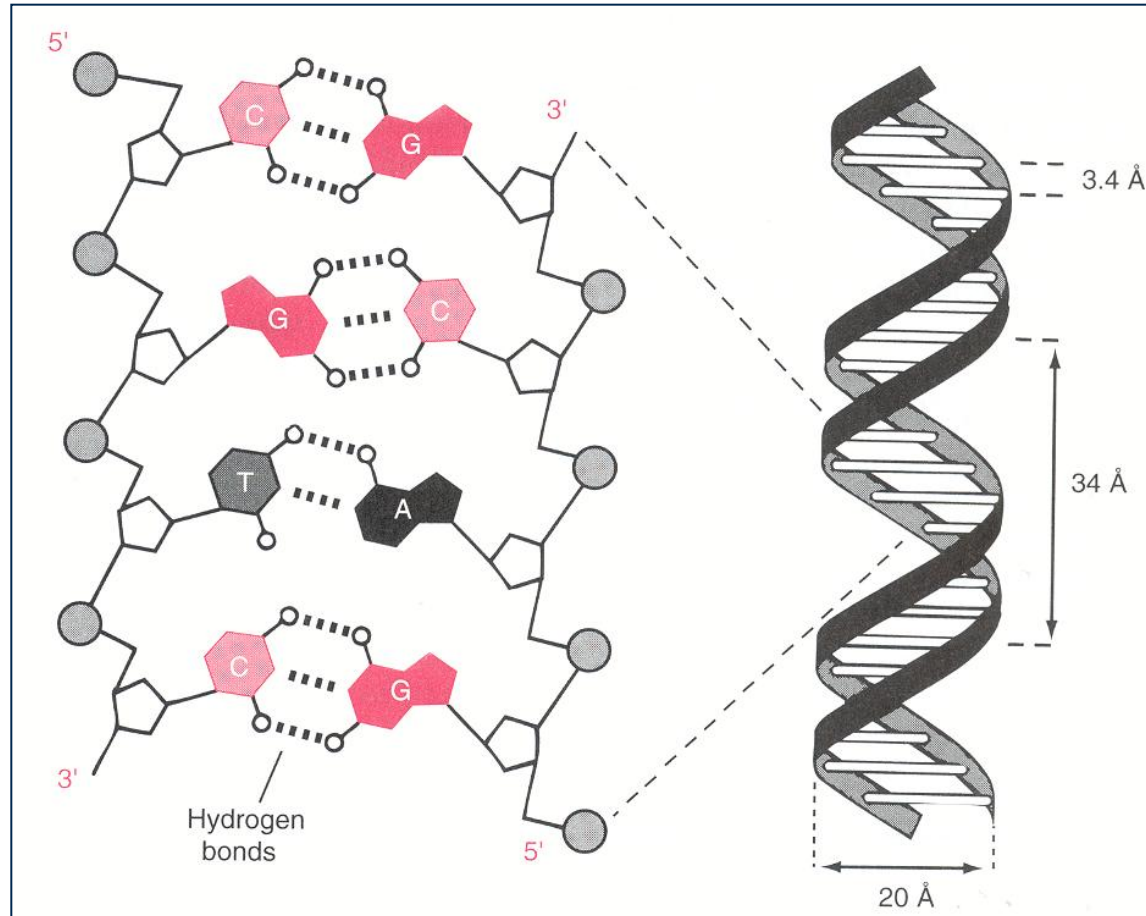
Amplificação de um fragmento de 390 pb do gene da beta-globina para pesquisa da mutação drepanocítica CD6 (A→T)

- Os produtos de PCR podem ser clonados num vector e depois sequenciados ou podem ser sequenciados directamente após purificação.

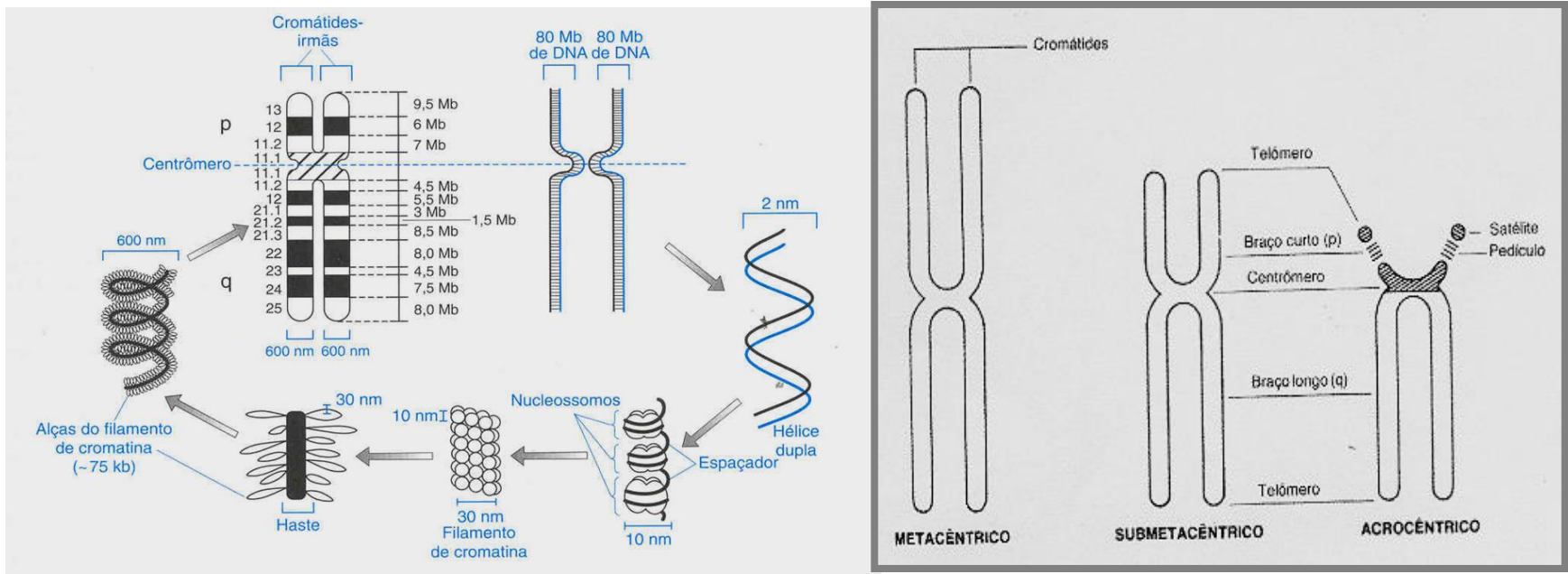
Organização estrutural do genoma – do DNA aos cromossomas



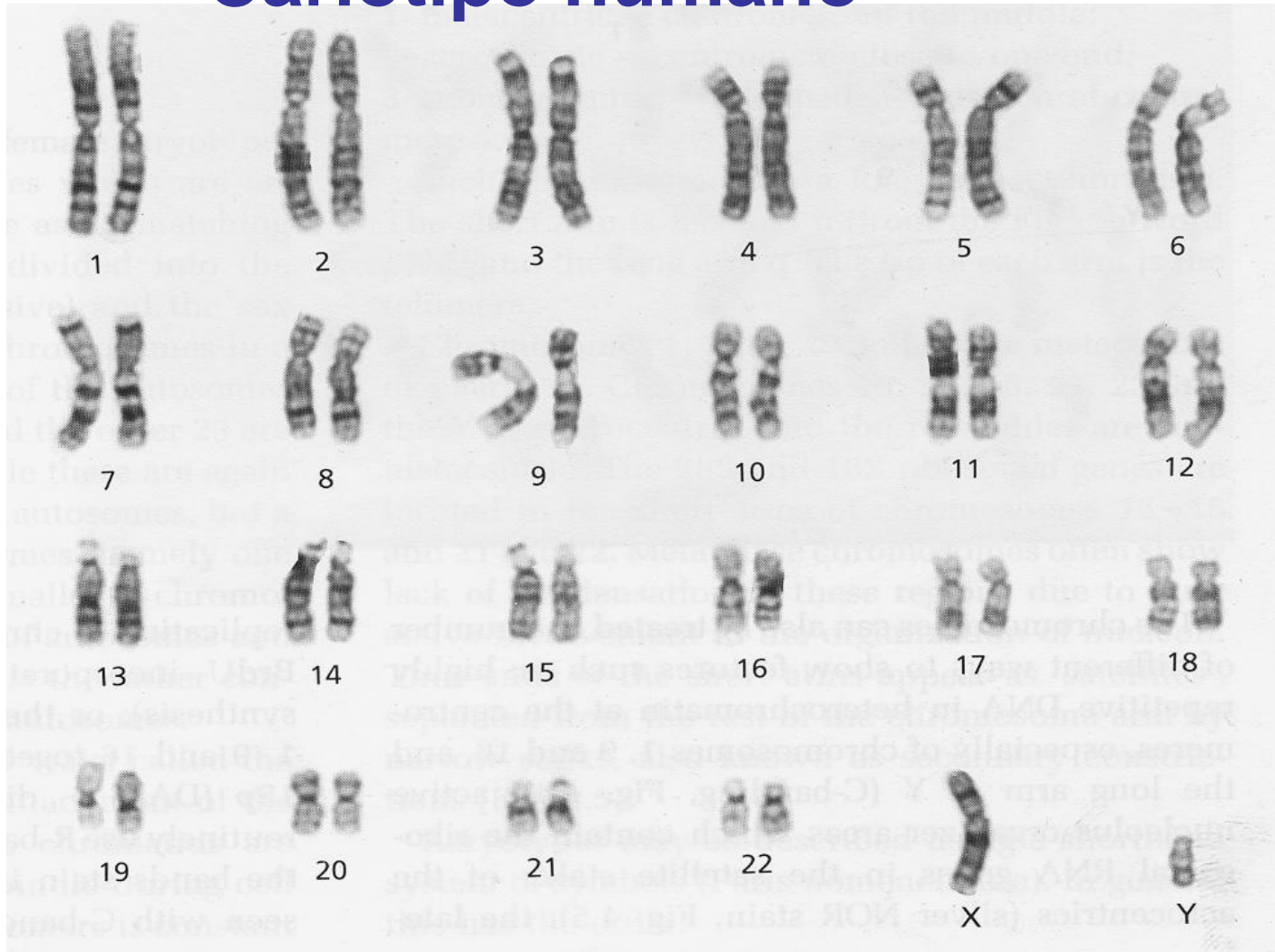
Estrutura do DNA



Do DNA aos cromossomas; Os cromossomas humanos



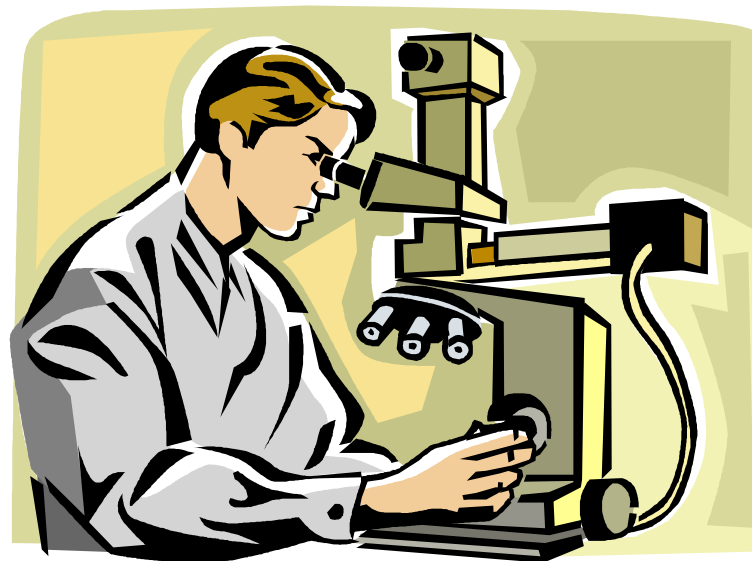
Cariotipo humano



Cariotipo normal do sexo masculino: 46,XY

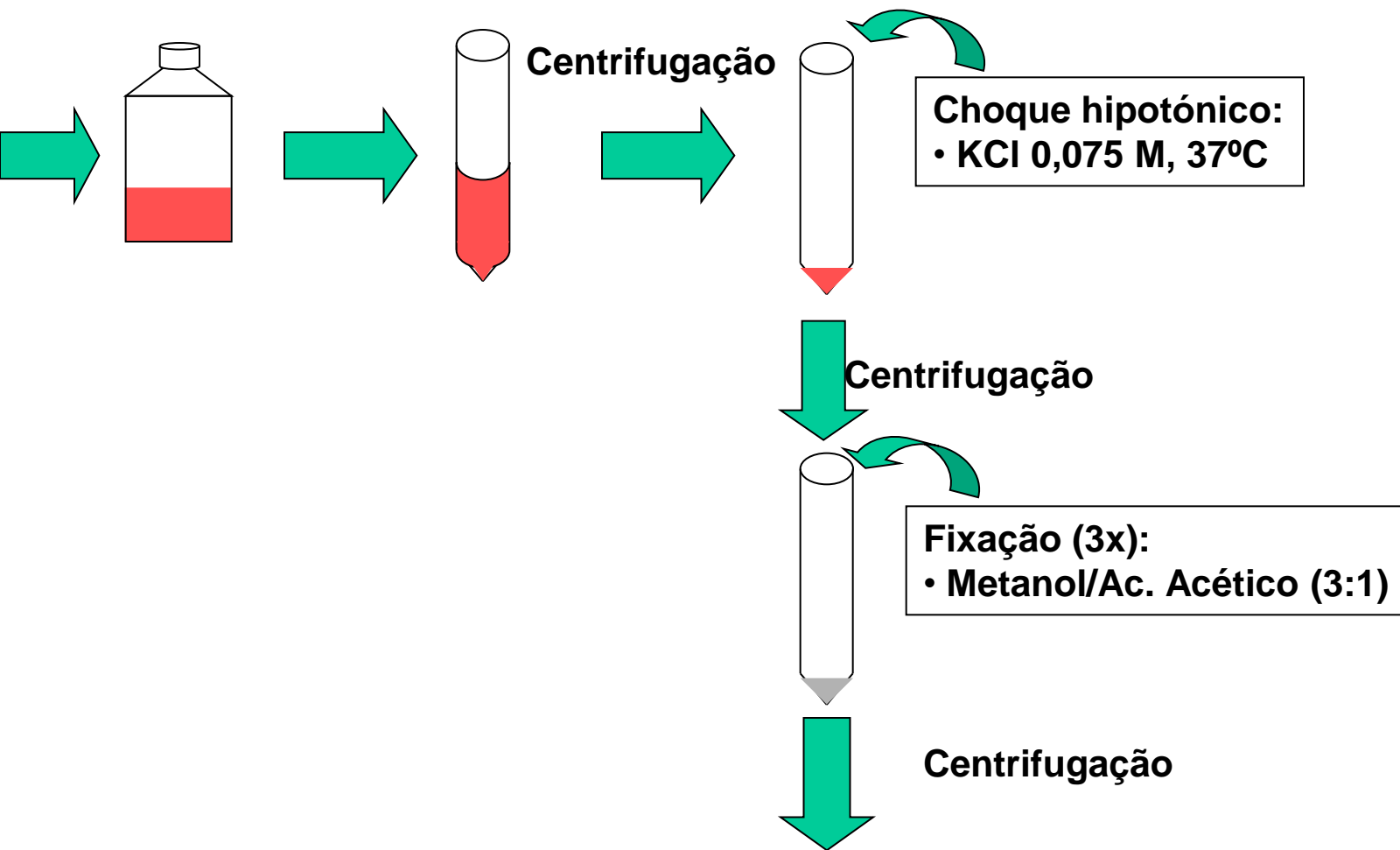
Citogenética

Diagnóstico Pré-Natal (DPN → líquido amniótico ou vilosidades coriônicas);
Diagnóstico Pós-Natal (Sangue periférico);
Doenças hematológicas (Sangue medular)



CARIOTIPO DE BANDAS G EM LINFÓCITOS

1. Colheita de linfócitos de sangue periférico

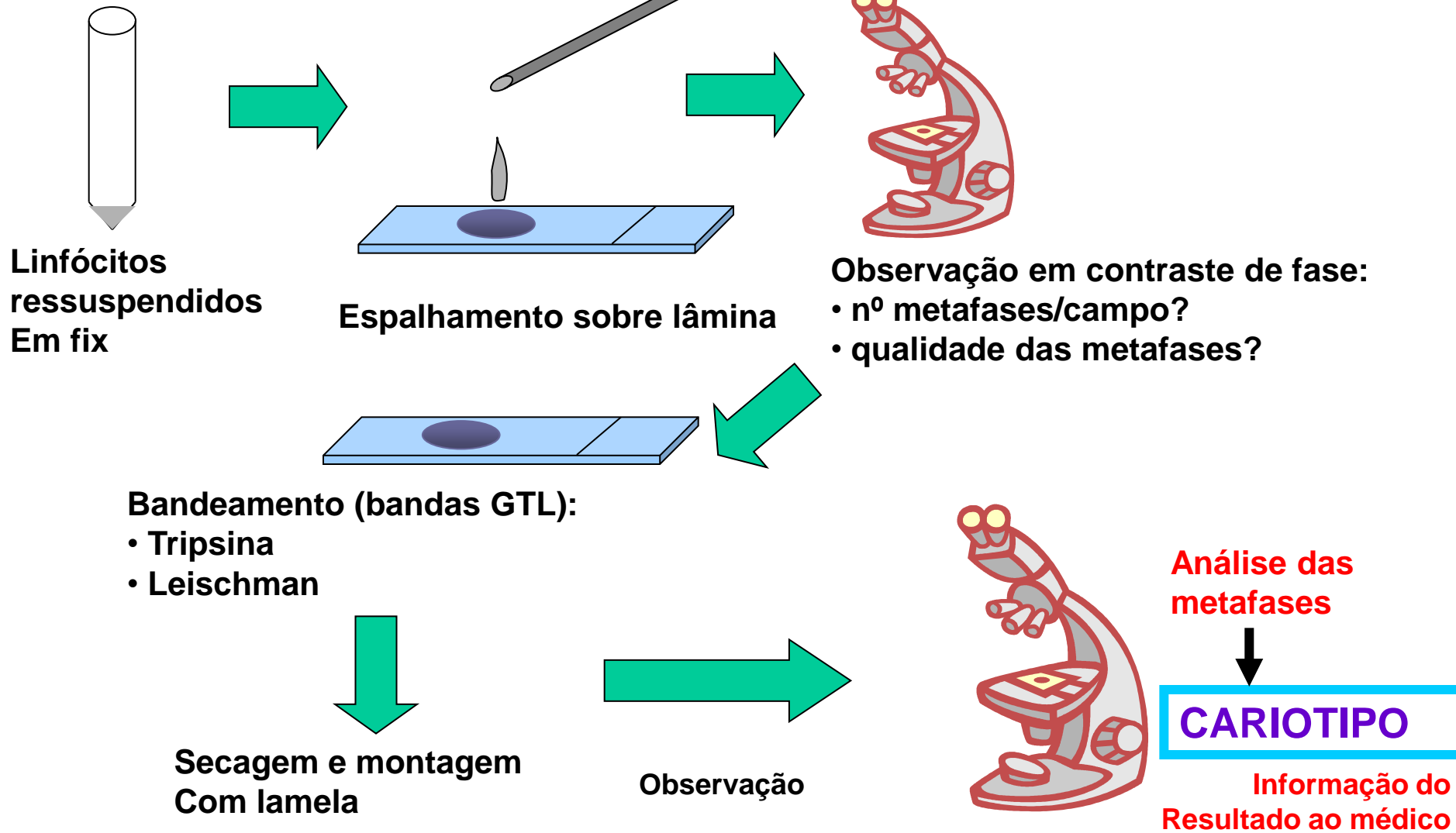


Fixação e espalhamento

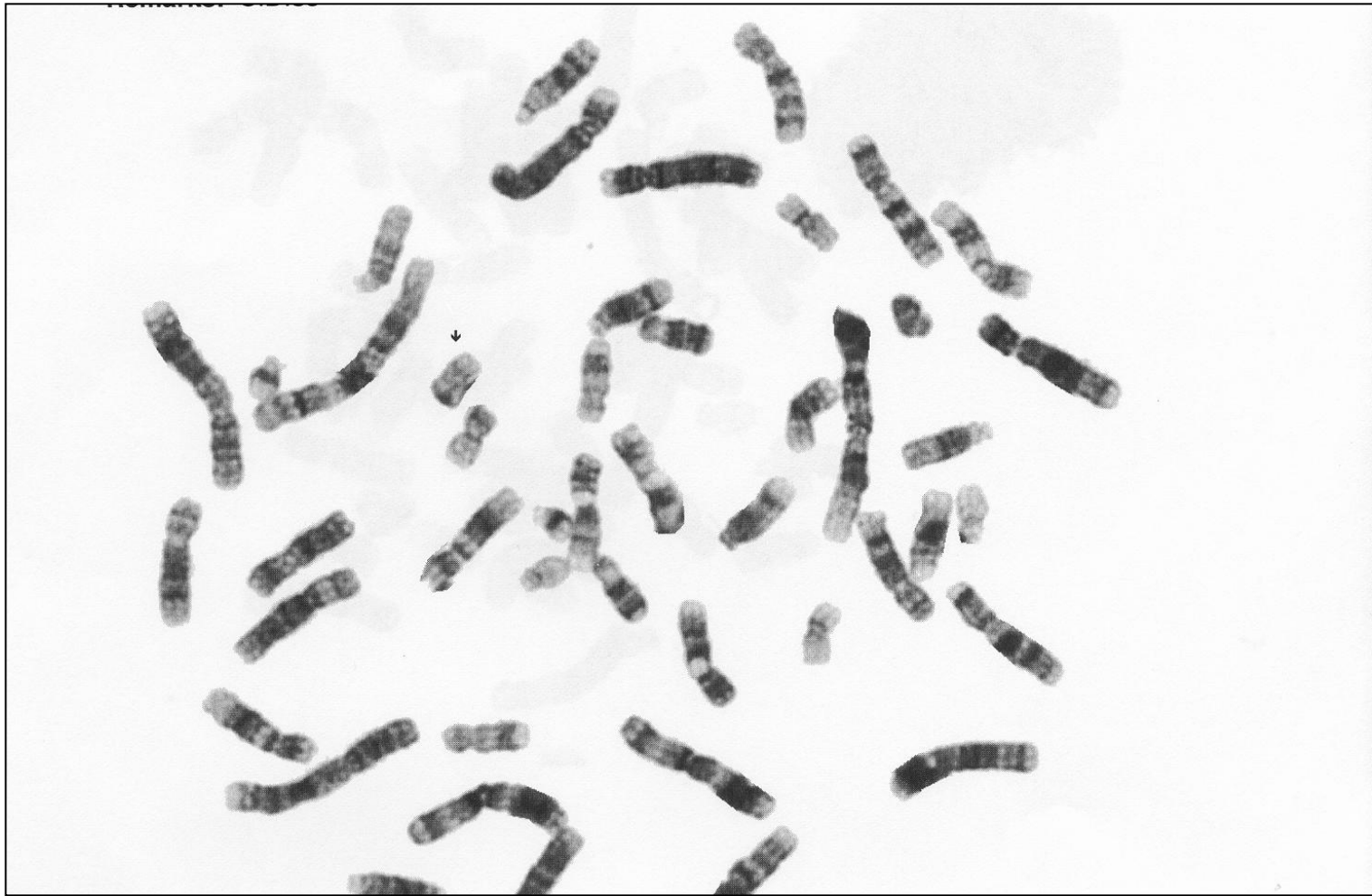
Cont. ⇨

CARIOTIPO DE BANDAS G EM LINFÓCITOS

2. Espalhamento e coloração



CROMOSSOMAS EM METAFASE



Bandeamento GTL

(Bandas G por tripsina e
Leishmann)

Estudo do número e
estrutura dos
cromossomas

Anomalias cromossómicas

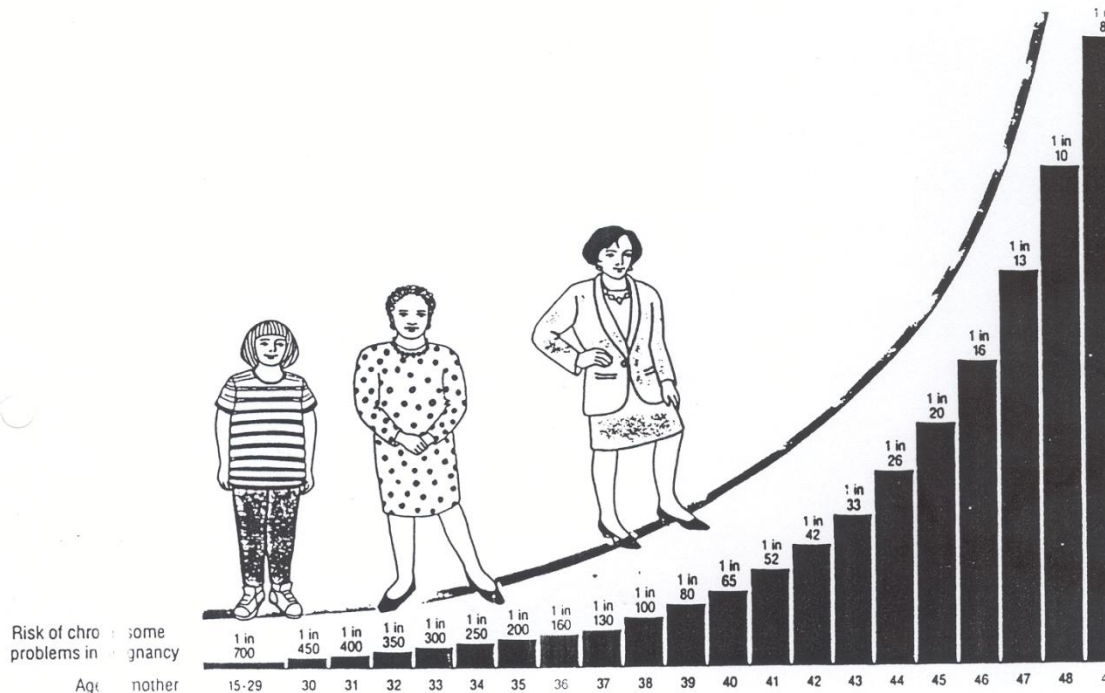
- **Anomalias herdadas** - alterações presentes nos cromossomas de um ou ambos os progenitores
- **Anomalias de novo** - alterações que não estão presentes nos progenitores

Anomalias cromossómicas

- **Anomalias numéricas** - alteração do número básico de 46 cromossomas
- **Anomalias estruturais** - alteração da sequência de bandas típica dos cromossomas

Principais indicações para DPN:

- Idade materna
- Anterior anomalia cromossómica
- Pais portadores de anomalia cromossómica
- Anomalia ecográfica
- Marcadores bioquímicos alterados

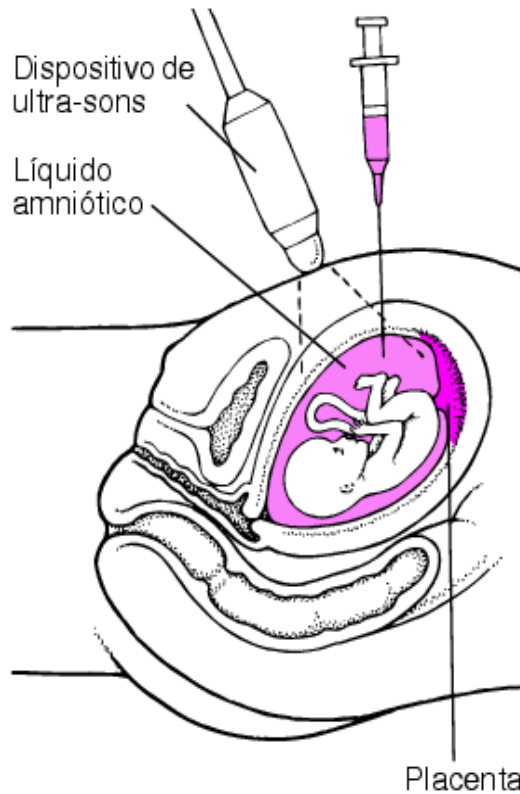


Indicações para DPN cromossómico

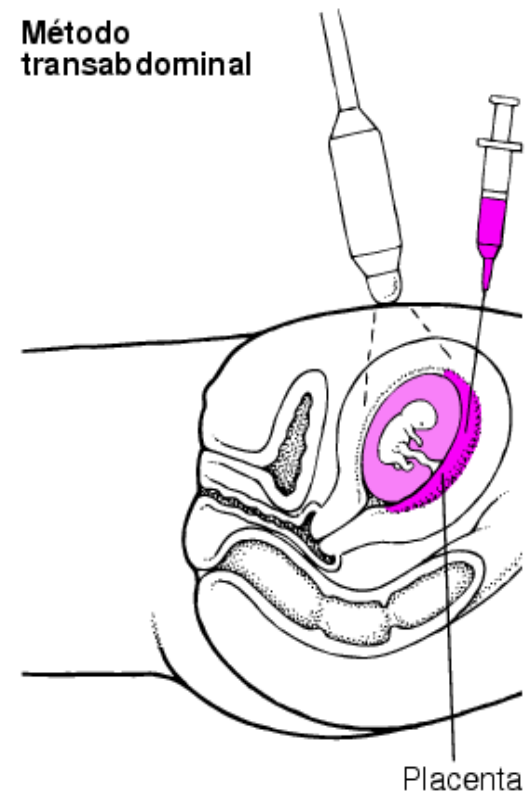
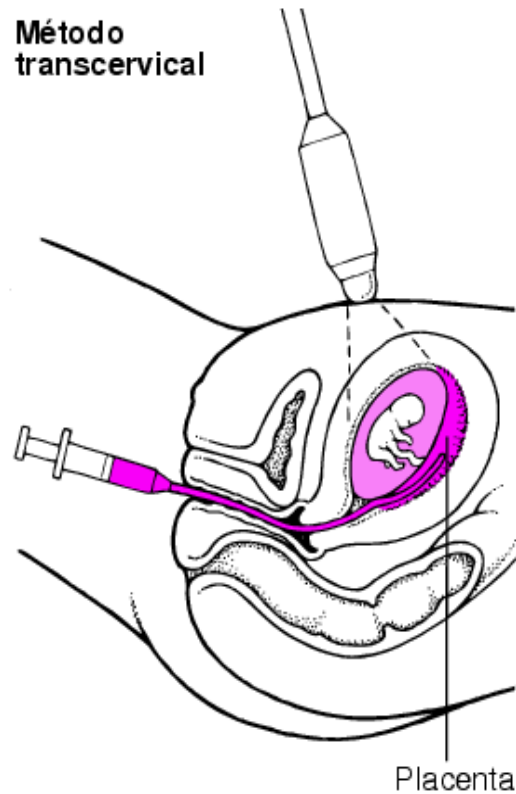
- Idade materna avançada 71%
- Anterior anomalia cromossómica 4%
- Pais portadores de anom. cromos. 1%
- Anomalia ecográfica fetal 13%
- Marcadores bioquímicos alterados 4%
- Outros 7%

Técnicas de recolha de amostras para DPN

Amniocentese



Colheita de amostras de vilosidades coriônicas



Anomalias cromossómicas em DPN

Anomalias cromossómicas	Número	% do total e cariotipos	% do total de anomalias
Total cariotipos	10000	100,0	100,0
Anomalias numéricas	310	3,1	65,0
- Trissomia 21	140	1,4	29,4
- Outras anomalias numéricas	170	1,7	35,6
Anomalias estruturais	167	1,7	35,0
- Anomalias estruturais equilibradas	134	1,4	28,1
- Anomalias estruturais desequilibradas	33	0,3	76,9
Total anomalias	477	4,8	

Diagnóstico Pós-Natal: Indicações para cariotipo

- Recém-nascido com malformações compatíveis com anomalia cromossômica
- Indivíduo com atraso mental
- Indivíduo com facies dismórfica, malformações múltiplas, anomalias da genitália
- Problemas de infertilidade: amenorreia, abortos espontâneos repetidos, infertilidade do casal

Monossomia parcial: Síndrome Cri-du-chat

Incidência – 1 em 50 000

Etiologia – deleção parcial de 5p

Ex: 46,XX,del(5)(p13) ou
46,XY,del(5)(p13)

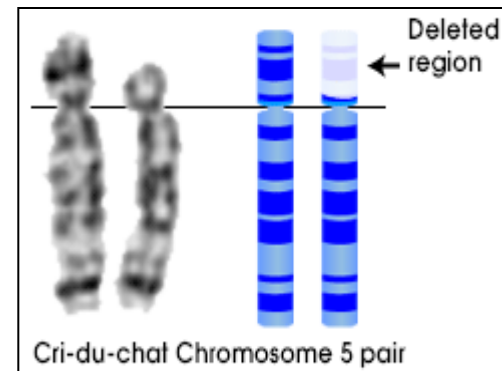
Características fenotípicas:

Malformações anatómicas

Complicações cardíacas e
gastrointestinais

Atraso mental

Desenvolvimento anormal da laringe e
da glote – choro semelhante ao miado
do gato



Triploidia (3n)

- Causas:
- Fecundação de 1 óvulo por 2 espermatozóides
- falha de uma das divisões da meiose durante a maturação – do ovócito (óvulo diplóide) ou do espermatozóide (espermatozóide diplóide)



Monossomia parcial: Síndrome Cri-du-chat

Incidência – 1 em 50 000

Etiologia – deleção parcial de 5p

Ex: 46,XX,del(5)(p13) ou
46,XY,del(5)(p13)

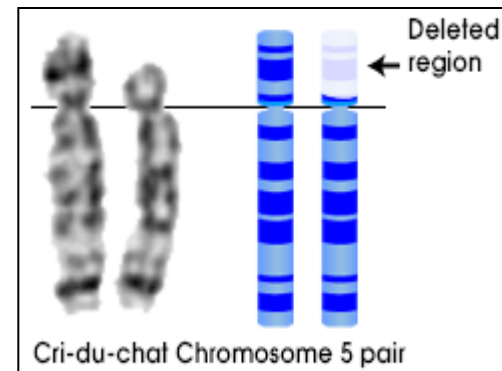
Características fenotípicas:

Malformações anatómicas

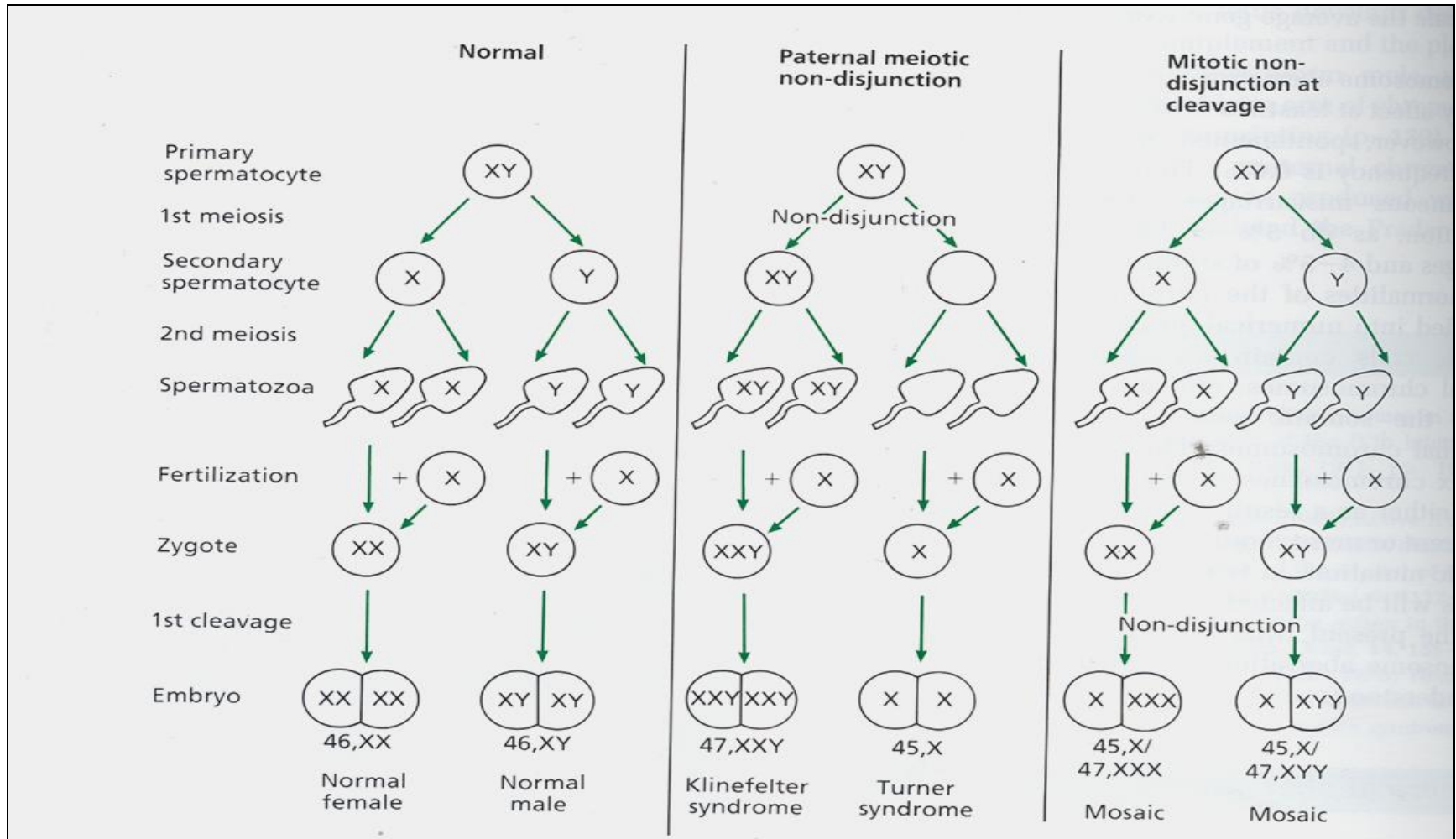
Complicações cardíacas e
gastrointestinais

Atraso mental

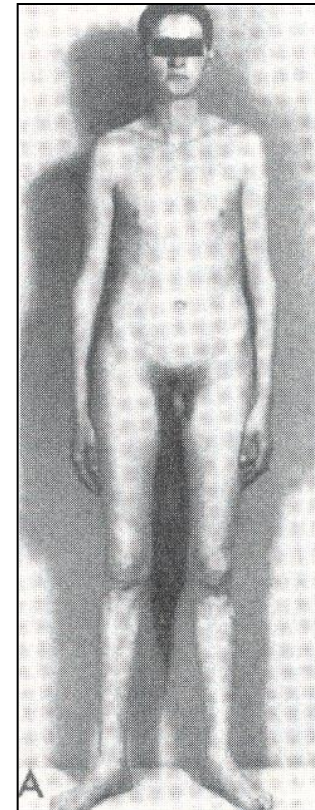
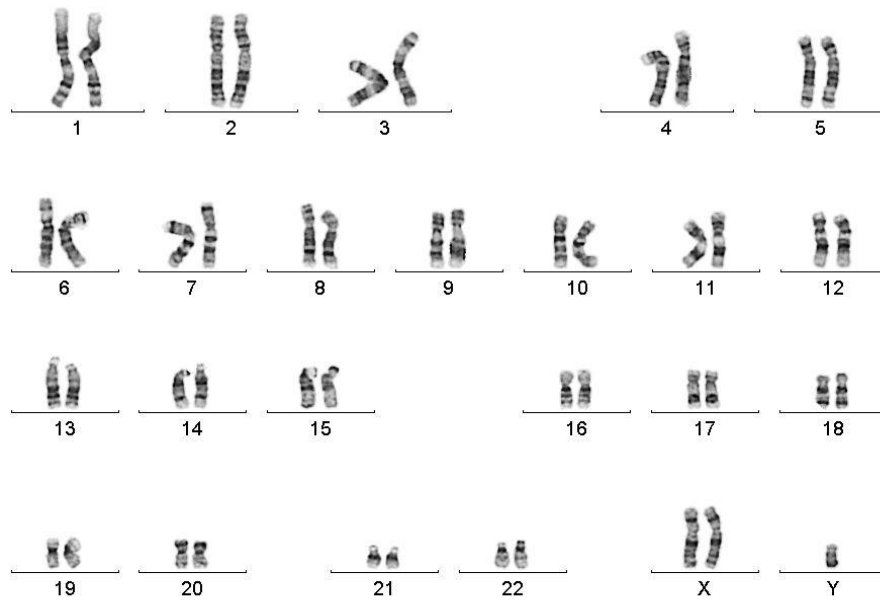
Desenvolvimento anormal da laringe e
da glote – choro semelhante ao miado
do gato



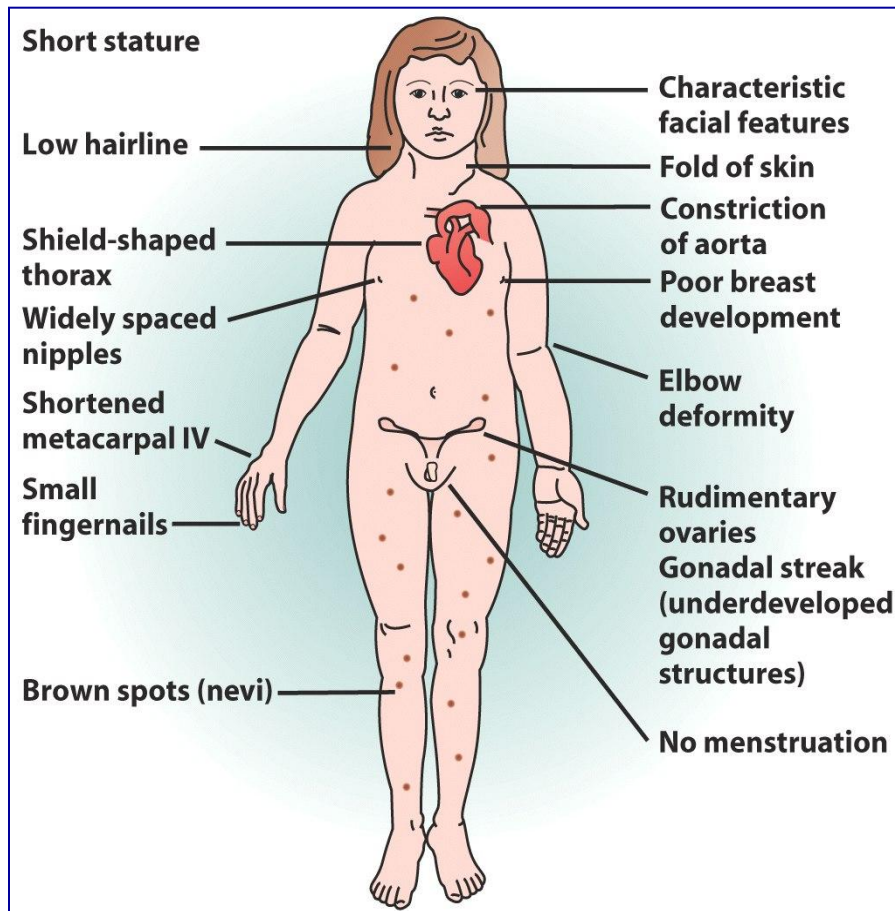
Não disjunção dos cromossomas sexuais na meiose



Exemplo de cariotipo anormal – Síndrome de Klinefelter

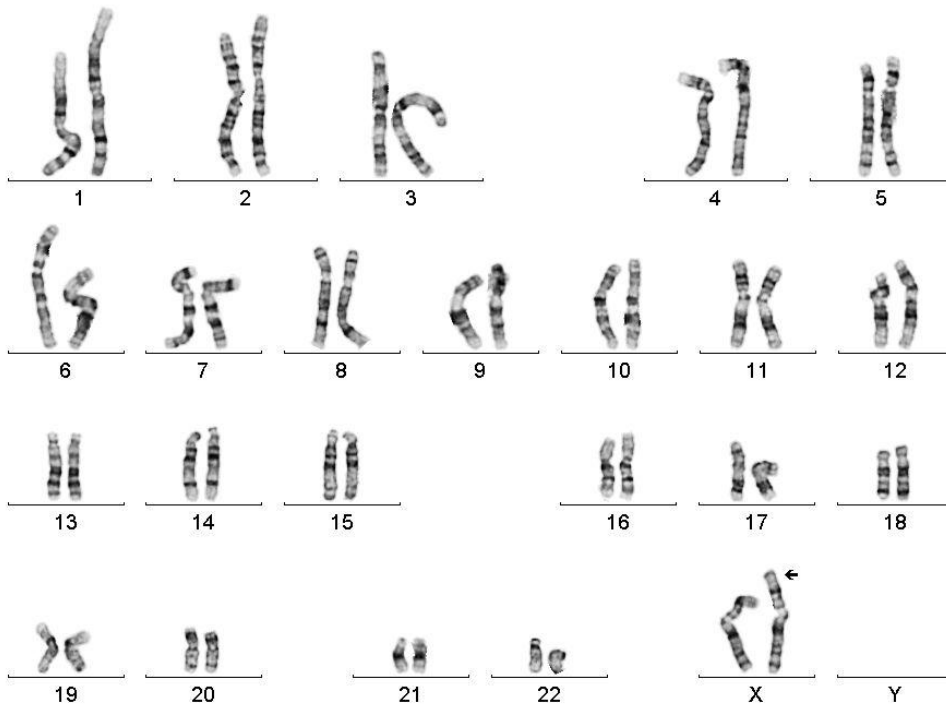


Síndrome de Turner – 45,X



- **Características fenotípicas:**
 - Baixa estatura
 - Inteligência média
 - Pescoço alado à nascença
 - Tórax largo com mamilos muito espaçados
 - Frequência elevada de anomalias renais e cardiovasculares
 - Gónadas vestigiais
 - Amenorreia
 - Infertilidade

Homens XX (translocação entre cromossoma X e Y)

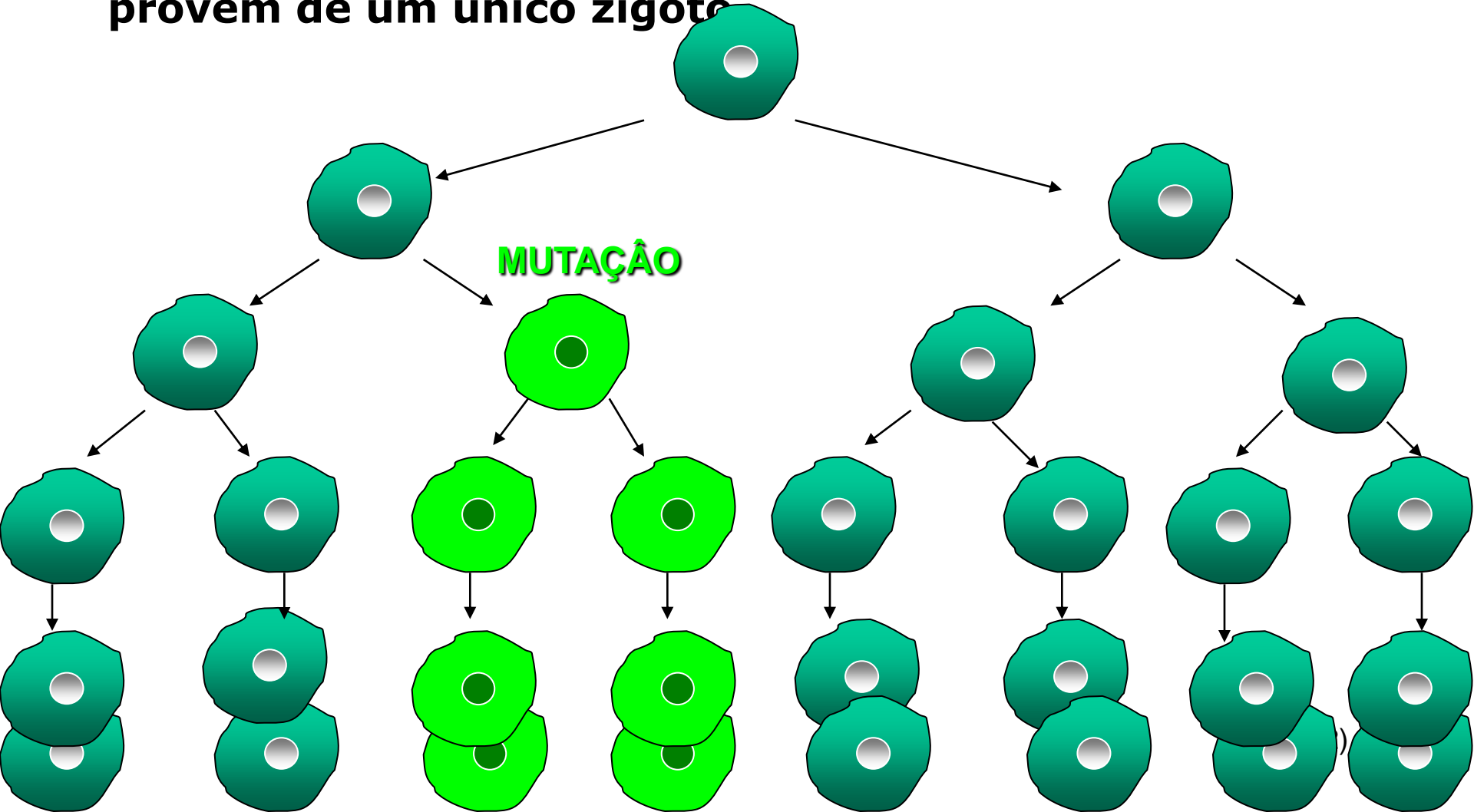


• Características fenotípicas:

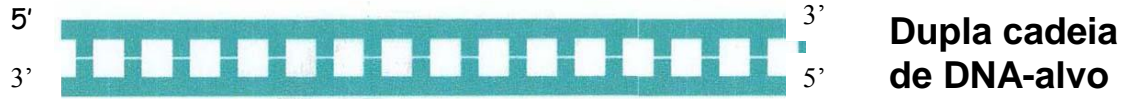
- Homem aparentemente normal
- Infértil (azoospermia)
- Tem o gene **SRY** (sex-determination region on the **Y**) na extremidade do cromossoma X
- 46,XX,der(X)t(X;Y)

Mosaicismo

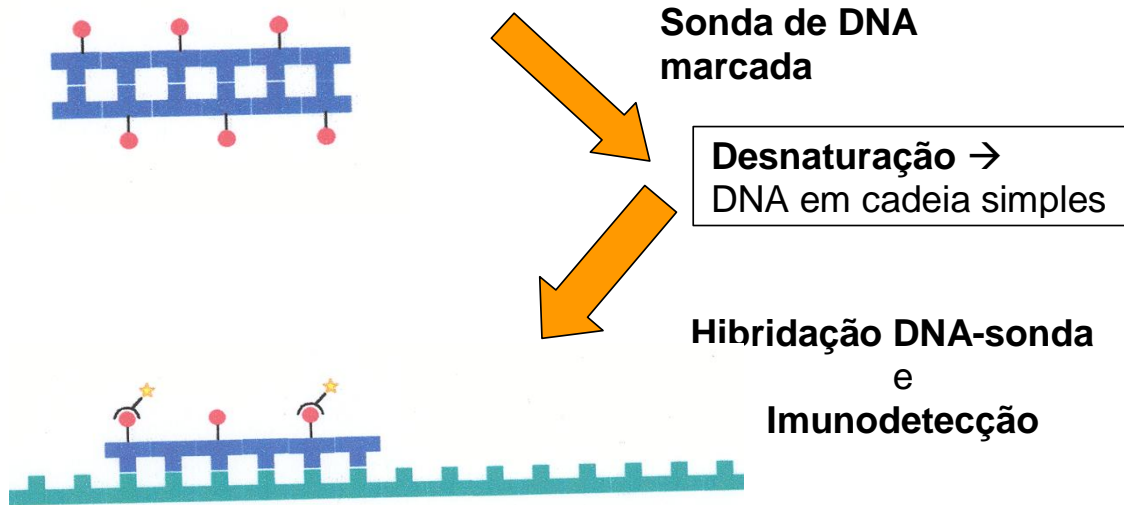
- Presença num individuo ou tecido de pelo menos 2 linhagens celulares que diferem geneticamente mas provêm de um único zigoto



❖ Permite a localização *in situ* de sequências específicas de ácidos nucleicos (DNA ou RNA) nos cromossomas, núcleo e citoplasma de células

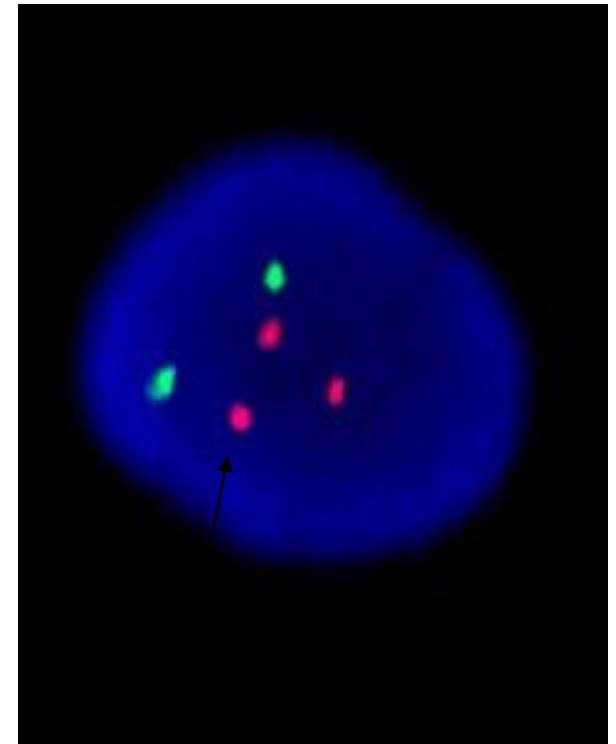
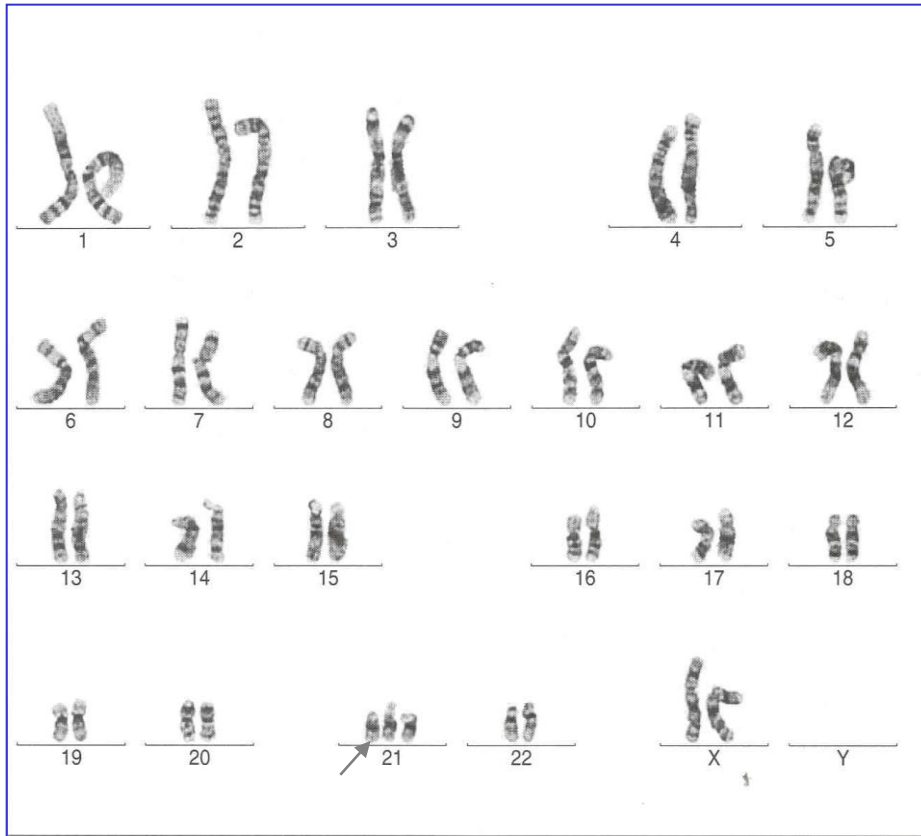


FISH

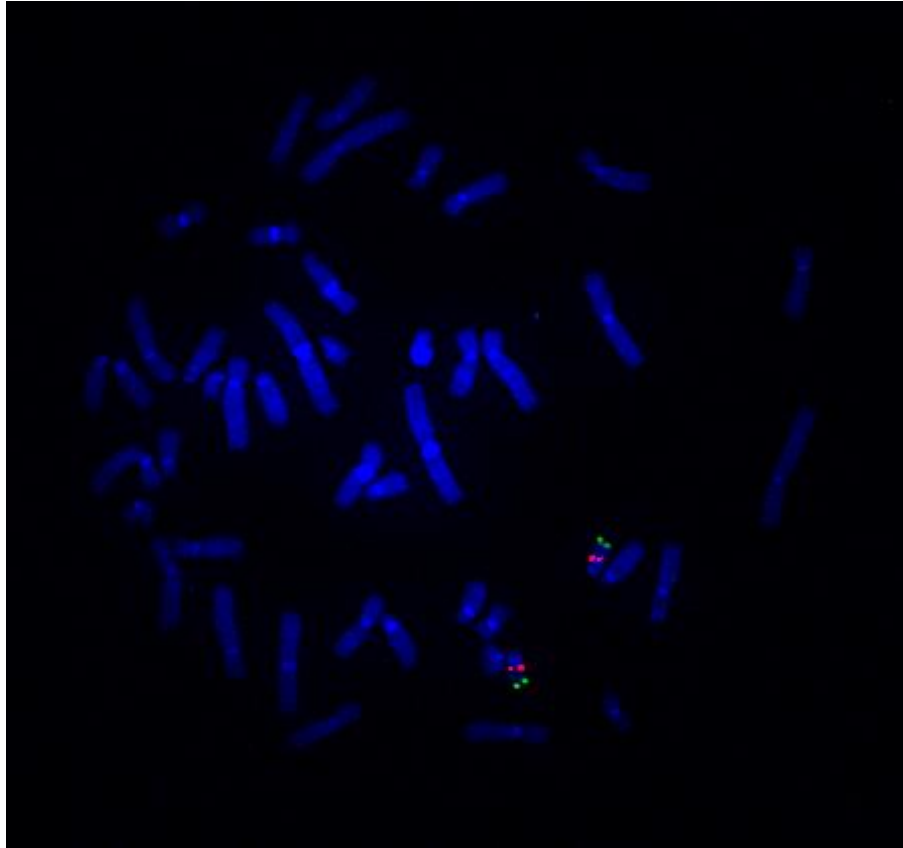


Trissomia 21: Citogenética clássica e FISH em interfase

(FISH – Fluorescence *in situ* hybridization)



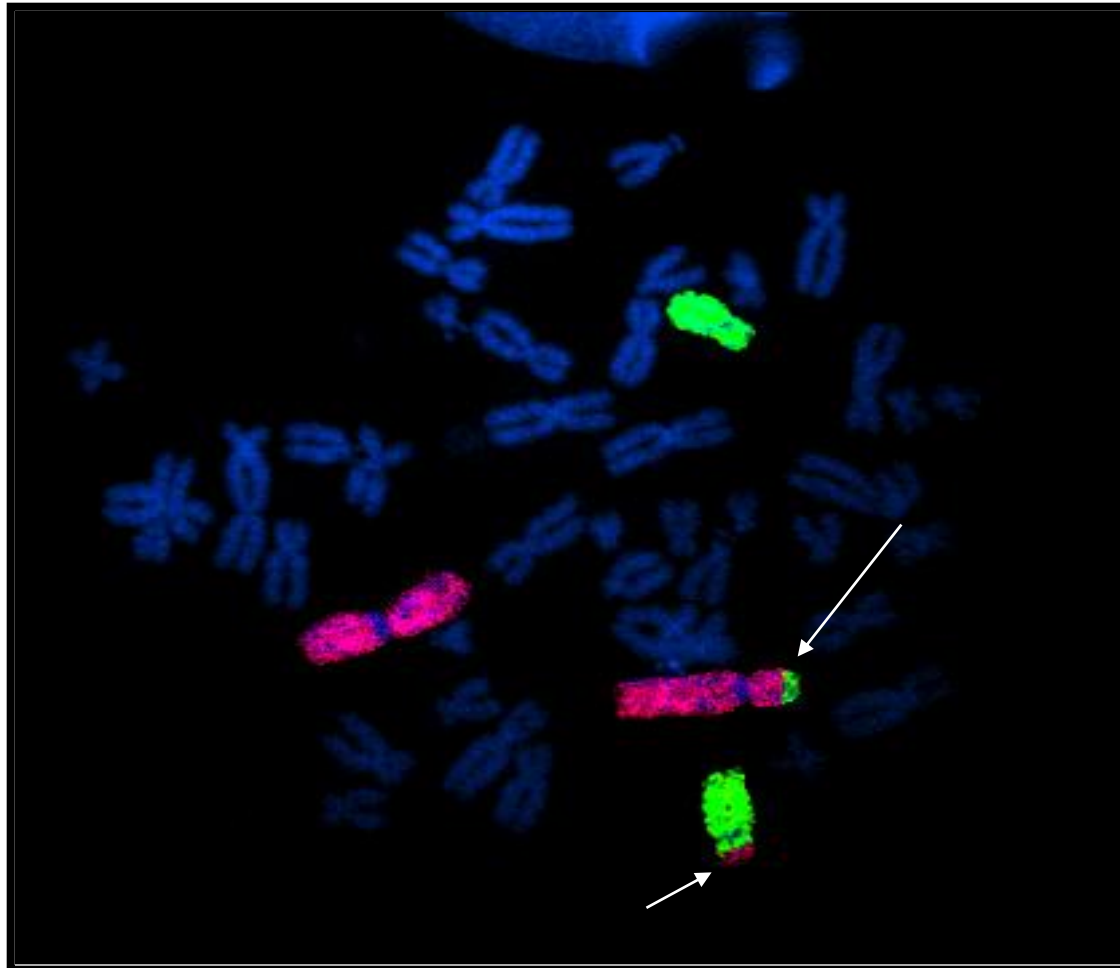
Síndrome de DiGeorge (del em 22q11.2)



Síndrome de microdeleção – deleção não visível em microscopia óptica mas que o maior nível de resolução do FISH permite detectar

FISH em metafase normal com sonda específica da região crítica do S. DiGeorge – 22q11.2 (●) e sonda-controlo – 22qter (●)

FISH com sondas-biblioteca dos cromossomas 1 e 12 mostrando o rearranjo cromossómico entre os cromossomas 1 e 12



Cromoss 1

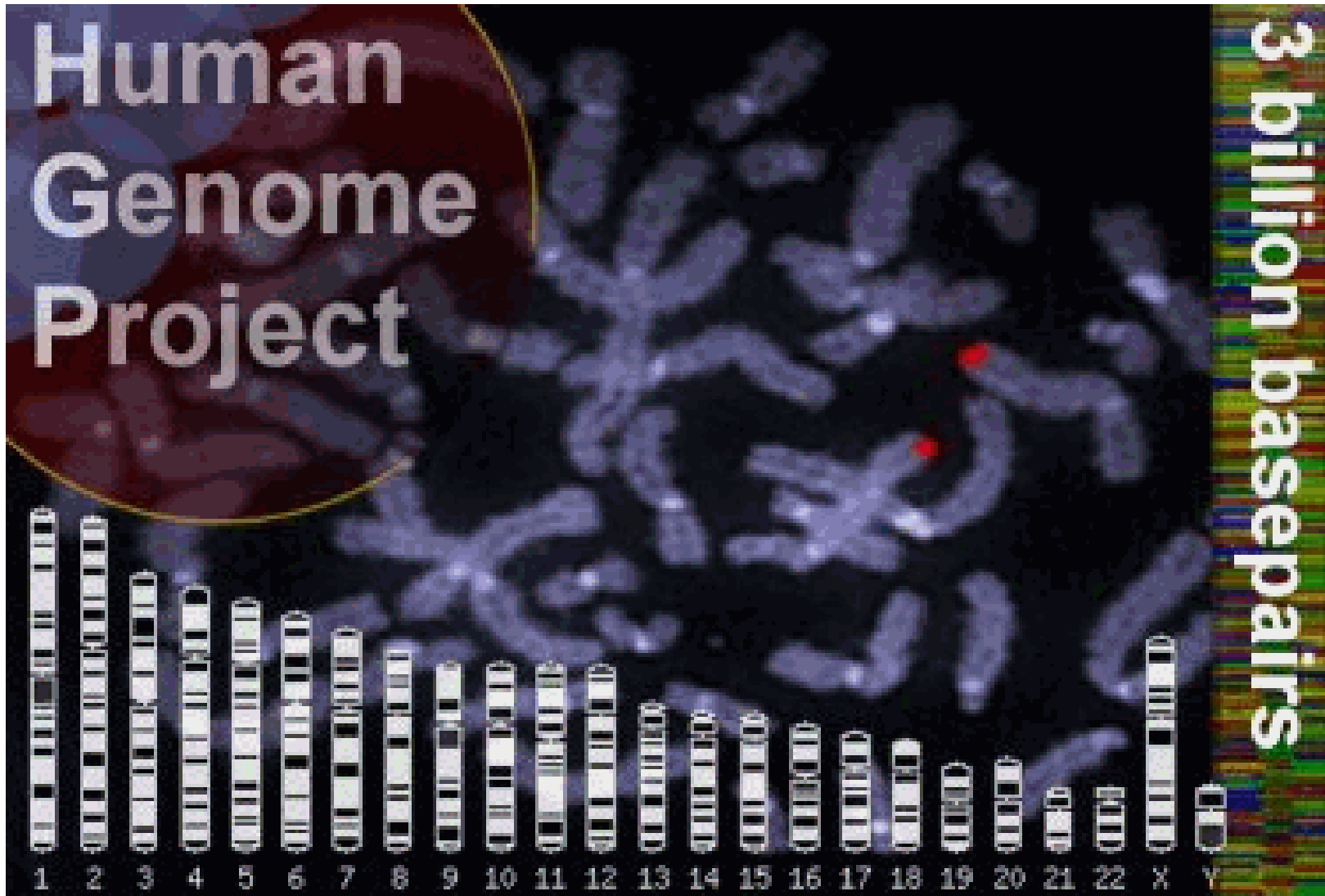
Cromoss 12

Doenças hematológicas malignas

- **Cariotipo em sangue medular permite:**
- Relacionar anomalias cromossómicas e determinadas patologias
- Direcionar o Diagnóstico, Prognóstico e Tratamento de leucemias e linfomas
- Ex: t(9;22) (Cromossoma de Filadélfia) - Fusão de genes bcr(cromossoma 9)/abl (cromossoma 22) → leucemia mielóide crónica

Projecto do Genoma Humano

1990 – início; 2003 – sequência completa





Agora vamos ver cromossomas, fotografias e folhetos, enquanto conversamos sobre Genética