



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA – UNICEUB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE - FACES

**APLICAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DE NUCLEOTÍDIOS SIMPLES (SNPs) NO
ESTUDO DE DOENÇAS GENÉTICAS E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS**

HENDY SANDY SANTOS ARAÚJO

Trabalho de Conclusão de Curso como requisito ao curso de Biomedicina elaborado em forma de artigo sob a orientação do Paulo Roberto Martins Queiroz da Faculdade de Ciências da Educação e Saúde – FACES.

Orientador: Prof. Paulo Roberto Martins Queiroz.

BRASÍLIA

2015

APLICAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DE NUCLEOTÍDIOS SIMPLES (SNPs) NO ESTUDO DE DOENÇAS GENÉTICAS E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

Hendy Sandy Santos Araújo¹
Paulo Roberto Martins Queiroz²

Resumo

Polimorfismos de nucleotídeos simples (SNPs) são variações que ocorrem em apenas um nucleotídeo no genoma. O objetivo desse estudo foi descrever as aplicações dos SNPs no estudo de doenças genéticas e aplicações biotecnológicas, por meio de uma revisão da literatura no formato narrativo. O que diferencia o SNP das mutações raras é a sua frequência na população, igual ou superior a 1%. Pode ser dividido em dois grupos baseados por substituição e baseados em inserção ou deleção. Tais variações são responsáveis por características fenotípicas individuais, e indicam a propensão á doenças complexas. O mapeamento de tais variações pode ser utilizado no diagnóstico, tratamento e na prevenção, a fim de um diagnóstico precoce e conseqüentemente um tratamento mais eficaz. Outra área de estudo promissora associada aos SNPs é a nutrigenômica, que através de uma nutrição personalizada pode reduzir o risco do desenvolvimento de uma doença crônica não transmissível.

Palavras-chave: SNP, polimorfismos de nucleotídeos simples, nutrigenômica, farmacogenética.

APPLICATIONS OF THE SINGLE NUCLEOTIDES POLYMORPHISMS (SNPs) IN THE STUDY OF GENETIC DISEASES AND APPLICATIONS BIOTECHNOLOGY

Abstract

Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are variations that occur in only one nucleotide in the genome. The objective of this study was to describe the applications of SNPs in the study of genetic diseases and applications biotechnology, through a literature review in narrative format. SNP differ from the rare mutations is their frequency in the population, less than 1%. It can be divided into two groups based on substitution-based insertion or deletion. Such variations are responsible for individual phenotypic characteristics and indicate the propensity will complex diseases. The mapping of such variations can be used in the diagnosis, treatment and prevention, to an early diagnosis and, consequently, a more efficacious treatment. Another promising area of study associated with SNPs is nutrigenomics, which through personalized nutrition can reduce the risk of developing a non-communicable chronic disease.

Key-words : SNP, single nucleotide polymorphisms, nutrigenomics, pharmacogenetics.

¹ Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília- UniCEUB.

² Biólogo, PhD em Biologia Animal - UnB, Professor de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

1. INTRODUÇÃO

As mutações gênicas podem originar-se por qualquer um de dois mecanismos básicos: erros que ocorrem durante o processo normal de replicação do DNA, ou mutações que surgem de uma falha no mecanismo de reparo do DNA após uma lesão. Algumas mutações são espontâneas, enquanto outras são induzidas por agentes físicos ou químicos (NUSSBAUM; MCLNNES; WILLARD, 2008).

Os tipos mais comuns de mutações que causam doenças genéticas em humanos são substituições de pares de base individuais e microdeleções (ANTONARAKIS et al., 2001). Existem variações em pontos bem definidos dentro do genoma humano que são responsáveis por características fenotípicas individuais, incluindo a propensão de uma pessoa para doenças complexas, como doenças cardíacas e câncer (KITTS; SHERRY, 2011). Essas variações são denominadas, polimorfismos de nucleotídeo simples (SNPs) que ocorrem naturalmente (HARVEY et al., 2008).

A maioria dos polimorfismos pode ser dividida em dois grupos: aqueles baseados em substituições nucleotídicas e aqueles baseados em inserção ou deleção de um ou mais nucleotídeos (*indels*) (WEBER et al., 2002). Para ser classificado como SNP, o alelo incomum deve ocorrer com uma frequência de 1% ou mais, distinguindo-o de mutações pontuais mais raras. Muitos SNPs ocorrem na região codante de um gene e podem produzir tanto alterações neutras (que não alteram o aminoácido codificado), alterações conservativas (que alteram o aminoácido codificado, mas tem um efeito mínimo na estrutura da proteína ou função), ou alterações não conservativas (que alteram o aminoácido estruturalmente e funcionalmente) (HARVEY et al., 2008).

Os polimorfismos do tipo *indels* são abundantes no genoma humano. Estima-se que eles sejam responsáveis por aproximadamente 16% a 25% de todos os polimorfismos de sequência do genoma (MILLS et al., 2006). O *indel* (inserção-deleção) é uma modificação complexa que parece representar uma combinação de microdeleção e microinserção (CHUZHANOVA et al., 2003). Alguns *Indels* estão localizados dentro dos promotores, íntrons ou éxons de genes. Assim como os SNPs, espera-se que alguns destes tenham um impacto na função do gene humano (MILLS et al., 2006).

Por serem relativamente estáveis geneticamente, os SNPs agem como verdadeiros sinais biológicos. Sua localização em áreas bem definidas do DNA permite a produção de mapas

cromossômicos que indicam sua posição em relação a genes conhecidos e, ao mesmo tempo, permitem caracterizar as interações com outros genes (TILLIB; MIRZABEKOV, 2001).

Os SNPs podem ser utilizados como uma estratégia para compreender a variação humana e genética molecular. As variações na sequência podem ser utilizadas para o mapeamento genético, definição da estrutura populacional e realização de estudos funcionais (KITTS; SHERRY, 2011).

A capacidade para detectar e identificar SNPs também é importante no campo da farmacogenética, o estudo de como drogas e regimes de dose podem ser adaptados para cada paciente. Um exemplo é o SNP presente no gene *MDRI*, capaz de alterar os perfis farmacocinéticos e farmacodinâmicos de medicamentos, tais como, a digoxina, fexofenadina e ciclosporina (IEIRI; TAKANE; OTSUBO, 2004).

Essa pesquisa teve como objetivo principal descrever as aplicações dos SNPs no estudo de doenças genéticas e aplicações biotecnológicas.

2. METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão da literatura no formato narrativo. A revisão da literatura narrativa, apresenta uma temática mais aberta; dificilmente parte de uma questão específica bem definida, a busca das fontes não é pré-determinada e específica. A seleção dos artigos é arbitrária (CORDEIRO et al., 2007).

Os artigos científicos para o desenvolvimento da revisão bibliográfica foram obtidos nas bases de dados GOOGLE ACADEMICS, SCIELO e PUBMED, publicados nos últimos 10 anos (2005 a 2015). Eventualmente textos mais antigos, ou livros texto foram utilizados para fundamentação de alguns conceitos. As palavras-chave usadas na busca foram: SNP, polimorfismos de nucleotídeos simples, nutrigenômica e farmacogenética assim como, as mesmas palavras no idioma inglês. Esses termos foram aplicados individualmente e em combinações dois a dois. As aplicações da técnica foram selecionadas a partir da leitura do texto e observação da descrição no artigo.

3. DESENVOLVIMENTO

Variações genéticas podem resultar de um único polimorfismo de nucleotídeo (SNP), inserção, deleção ou duplicação de sequências de DNA. SNP é provavelmente a variação mais comum. Mais de 90% dos genes humanos contêm pelo menos um SNP e quase todos os genes humanos são caracterizados por uma variação de sequência. Mais de 14 milhões de SNPs

foram identificados no genoma humano e mais de 60.000 SNPs estão localizados nas regiões codificadoras dos genes (SACHIDANANDAM et al., 2001).

SNPs detém o potencial como chave para a definição do risco de susceptibilidade de um indivíduo a várias doenças e respostas a drogas. Há um processo contínuo de identificação de SNPs comuns biologicamente relevantes, em particular aqueles que estão associados com o risco de doença. A identificação e a caracterização de um grande número desses SNPs são necessárias antes que se possa começar a usá-los extensivamente como ferramentas genéticas (ALWI, 2005).

3.1 Estudos de associação ampla do genoma

Muitas descobertas científicas e biológicas foram feitas por meio dos estudos de associação ampla do genoma (*Genome-wide association studies* - GWASs). Esses estudos tinham como objetivo detectar variantes em *loci* do genoma que estão associados com características complexas da população e, em especial, para detectar associações entre polimorfismos comuns de nucleotídeo simples (SNPs) e doenças comuns, tais como, doenças cardíacas, diabetes, doenças autoimunes e distúrbios psiquiátricos (VISSCHER et al., 2012).

A incidência de mutações em famílias de alto risco varia muito entre diferentes populações, algumas apresentam diversas mutações, enquanto que em determinados grupos étnicos específicos mostram uma frequência alta de mutações devido a um efeito ‘fundador’. O efeito fundador deve-se a pequenos grupos de pessoas que permanecem isolados com consequente miscigenação o que resulta na permanência de uma mutação rara e esta torna-se mais comum entre a população (FRIEDMAN et al., 1995).

O mapeamento dos SNPs é uma ferramenta fundamental para descoberta e ligação entre a clínica e a variação gênica do paciente, em seu trabalho FERLA e colaboradores (2007), observaram as variantes relacionadas aos genes BRCA 1/2 em diferentes etnias (Tabela 1).

3.1.1 Fibrose cística

A fibrose cística (FC) é uma doença autossômica recessiva causada por mutações no gene *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) (DAVIES; ALTON; BUSH, 2007). A expressão clínica da FC é heterogênea e se caracteriza pelo transporte imperfeito de cloretos, principalmente nas células exócrinas (PESSOA et al., 2015). A presença de dois alelos mutados causa ausência de atividade, ou funcionamento parcial da CFTR, causando a diminuição na excreção do cloro e aumento da eletronegatividade no

interior da célula, levando ao aumento da passagem de sódio (Na) para manter o equilíbrio eletroquímico e, posteriormente, de água para a célula por osmose. Ocorre então, desidratação das secreções mucosas e aumento da viscosidade, favorecendo a obstrução dos ductos, que acompanha reação inflamatória e, conseqüentemente, processo de fibrose (RIBEIRO; RIBEIRO; RIBEIRO, 2002).

Tabela 1- Principais mutações encontradas nos genes *BRCA1/2* em algumas populações.

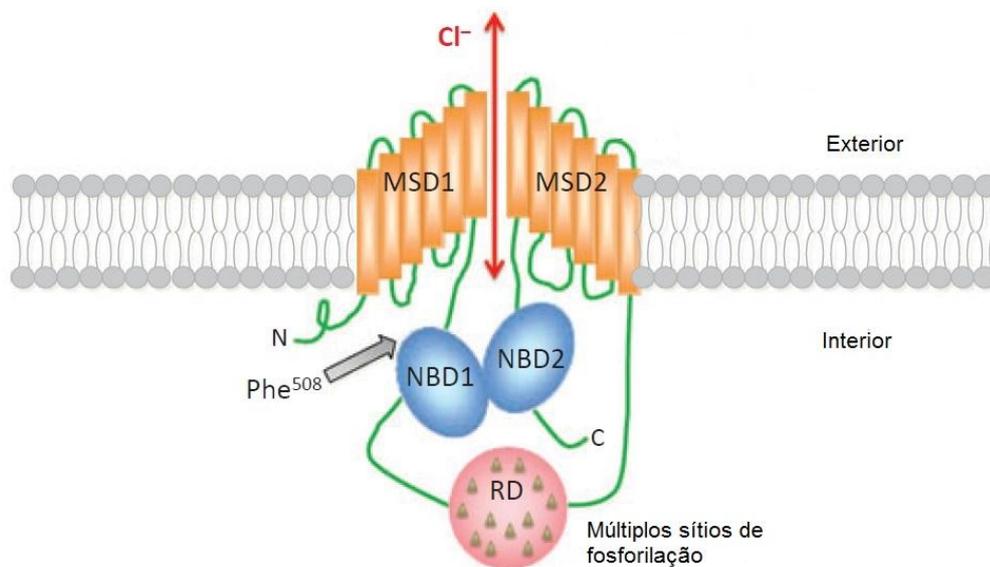
População	Mutação <i>BRCA1</i>	Mutação <i>BRCA2</i>
Judeus Ashkenazi	185delAG, 5832insC	
Islandês		6174delT, 995delG
Norueguês	1675delA, 816delGT, 3347delAG, 1135insA	
Sueco	3171ins5	
Francês	3600del11	
Holandês	2804del11, IVS12- 1643del3835	5579insA, 6503delTT
Italiano (Calabri)	5083del19	
Italiano (Sardínia)		8765delAG
Fraco-canadenses (Quebec)	C4446T, R1443X	8765delAG, 3398delAAAAG
Hispânico (Sul da Califórnia)	S995X, 2552delC	
Hispânico (Colômbia)	3450delCAAG, A1708E	
Afro americano	943ins10, 1832del5, 5296del4	IVS13+1G>A
Sul africano	E881X	
Chinês	1081	
Japonês	Q934X, L634X	5802delAATT
Paquistânês	5454delC, S1503X, R1835X	

Fonte: Adaptado de FERLA et al. (2007).

O gene responsável pela FC se localiza no braço longo do cromossomo 7, *locus* q319, apresenta aproximadamente 250 kb, 27 éxons que representam cerca de 5% do DNA e codifica um RNA mensageiro (RNAm) que transcrito gera uma proteína de 1480 aminoácidos denominada CFTR (*Regulator Transmembrane Conductance Cystic Fibrosis*)(PESSOA et al., 2015). A proteína CFTR é constituída por cinco domínios: dois domínios que atravessam a membrana (MSD1 e MSD2) que formam o canal de íons cloreto, dois domínios de ligação a nucleotídios (NBD1 e NBD2) que se ligam e hidrolisam o ATP (adenosina trifosfato) e um domínio regulador (R) (Figura 1) (REPETTO; PUGA; DELGADO, 2007).

A proteína CFTR está localizada na membrana apical das células epiteliais e confere transporte cAMP-ativável de cloreto, bicarbonato e glutatona (REPETTO; PUGA; DELGADO, 2007). A proteína atua como canal de cloreto e atua na regulação do balanço entre íons e água através do epitélio e se localiza na membrana apical de células do trato respiratório, de glândulas submucosas do pâncreas exócrino, do fígado, dos ductos sudoríparos, do trato reprodutivo, entre outros sítios (PESSOA et al., 2015).

Figura1- Representação da estrutura CFTR inserida na membrana celular.



Fonte: Adaptado de FARINHA; MATOS; AMARAL (2013).

De acordo com pesquisa realizada na base de dados do Centro Nacional para Informação em Biotecnologia dos Estados Unidos (NCBI) existem cerca de 10644 SNPs relacionados ao gene *CFTR*, dentre eles mutações de substituições e *indels*, 254 são descritos como patogênicos. A mutação mais comum que ocorre em cerca de 70% de pacientes com fibrose é a eliminação de fenilalanina no códon 508 (*phe508del*, até recentemente conhecido como F508) (DAVIES; ALTON; BUSH, 2007). As mutações no gene *CFTR* podem ser classificadas em seis categorias diferentes, com base nos mecanismos que são afetados: síntese da *CFTR*, o tráfego ou função (Tabela 2) (BRODLIE et al. 2015).

A proteína F508-CFTR é parcialmente glicosilada e mal dobrada sendo retida no retículo endoplasmático e degradada pelo proteassoma, onde nenhuma ou pouca proteína mutada atinge a membrana apical das células epiteliais, o que é típico de uma mutação *CFTR* de classe II (JENSEN et al., 1995; SHEPPARD; WELSH, 1999).

O rastreio da F508del é importante devido à importância do genótipo no aparecimento da doença, o ambiente como um fator de risco que se torna mais elevado com o aumento da idade, a seleção de sobrevivência estar relacionada com a classe de mutação no gene *CFTR* e por tratar-se da mutação mais estudada, levando a produção de novas drogas focadas em pacientes com esta mutação, o que poderia favorecer o tratamento (MARSON et al., 2013).

Tabela 2- Resumo de classes de mutações do gene *CFTR*.

Classe de mutação	Natureza do defeito	Consequência funcional	Exemplo
I	Síntese da proteína de <i>CFTR</i>	Redução da expressão da proteína <i>CFTR</i>	Gly542X
II	Processamento da proteína <i>CFTR</i>	Proteínas <i>CFTR</i> mal dobradas não são transportadas para a superfície celular	Phe508del
III	Gating canal <i>CFTR</i>	Reduzido / falta de abertura do canal <i>CFTR</i>	Gly551Asp
IV	Condutância canal <i>CFTR</i>	Poros anormais do canal <i>CFTR</i> restringem o movimento do Cloreto	Arg117His
V	Produção da proteína <i>CFTR</i> reduzida	Níveis muito baixos da proteína <i>CFTR</i>	3849 + 10 kb C → T
VI	Alta rotatividade proteína <i>CFTR</i> na superfície celular	Proteína <i>CFTR</i> funcional, mas instável na superfície de células	120del23

Fonte: Adaptado de BRODLIE et al. (2015).

Um exemplo do avanço no tratamento da FC é o uso de ivacaftor, um potenciador da função de *CFTR*, que se tornou uma realidade de sucesso como uma terapia direcionada para pacientes com fibrose cística causada pelos genótipos específicos, um exemplo poderoso da medicina de precisão (RAMSEY et al., 2011). Em 2015 a *US Food and Drug Administration* (FDA) aprovou a combinação de um potenciador e um corretor para uso em pessoas com fibrose cística causada pela mutação mais comum, Phe508del (WAINWRIGHT, 2015; FDA, 2015).

3.1.2 Câncer

Considerada uma das maiores causas de morte no mundo, o câncer é definido como uma doença genômica, surgindo como consequência de modificações cumulativas no DNA de células saudáveis, as quais sofrem transformações até se tornarem malignas (JORDE et al., 2000).

Mutações em genes responsáveis pela supressão tumoral ou genes encarregados de reparar o DNA, desencadeiam o câncer. Já foram identificados muitos desses genes e associados a certos tipos de câncer. Essas descobertas possibilitam a aplicação de novos métodos de diagnóstico e tratamento para neoplasias diversas (DANTAS et al., 2009).

A descoberta do gene *BRCA1* (*breast cancer 1*) e o gene *BRCA2* (*breast cancer 2*) foi um dos grandes avanços na pesquisa com relação ao câncer, por serem específicos. *BRCA1/2* são genes responsáveis pela supressão tumoral, importantes para o controle de danos no DNA (GUDMUNSDOTTIR; ASHWORTH, 2006).

Vários polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em diferentes *loci* têm sido associados com a susceptibilidade do câncer da mama e representam cerca de 10% do componente familiar. Estudos realizados recentemente têm descoberto associações diretas entre SNPs específicos e câncer de mama em portadoras de mutação *BRCA1/2* (PROSPERI et al., 2014).

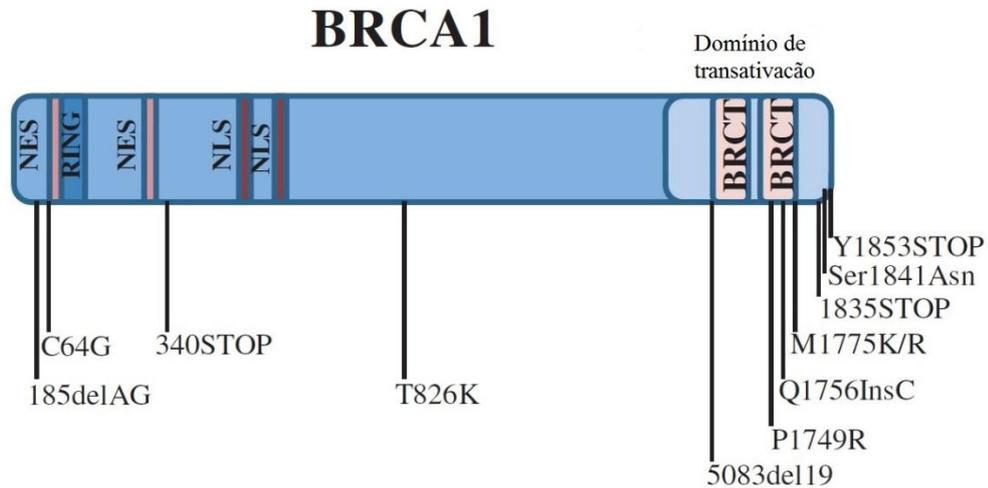
O gene *BRCA1* está localizado no braço longo do cromossomo 17 (17q21), possui 24 éxons e cerca de 100 kb. Codifica uma proteína chamada BRCA1, constituída de 1863 aminoácidos e apresenta um motivo na região amino-terminal, denominado dedo-de-zinco (Zinc-finger ou RING-finger), que exerce uma importante função na interação de BRCA1 com diversas proteínas (LINGER; KRUK, 2010). A figura 2 demonstra o gene BRCA1 e suas principais mutações.

De acordo com pesquisa realizada na base de dados do Centro Nacional para Informação em Biotecnologia dos Estados Unidos (NCBI) existem cerca de 7497 SNPs relacionados ao gene *BRCA1* dentre eles mutações de substituições e *indels*, 1067 são descritos como patogênicos.

O gene *BRCA2* está localizado no braço longo do cromossomo 13 (13q12) e é composto por 27 éxons, sendo 26 codantes, a proteína BRCA2 é formada por 3418 aminoácidos (TAVTIGIAN et al., 1996). A proteína BRCA2 possui diversas cópias de um motivo de 70 aminoácidos, denominado BRC, estes motivos são responsáveis por mediar a ligação com a recombinase RAD51, que atua na reparação do DNA (NCBI). O RAD51

interage com o BRCA1 e com o BRCA2. Um SNP na região não traduzida 5' (UTR) de RAD51, G135→C, tem sido considerado um possível modificador de risco do câncer de mama em portadores da mutação (ANTONIOU et al., 2007).

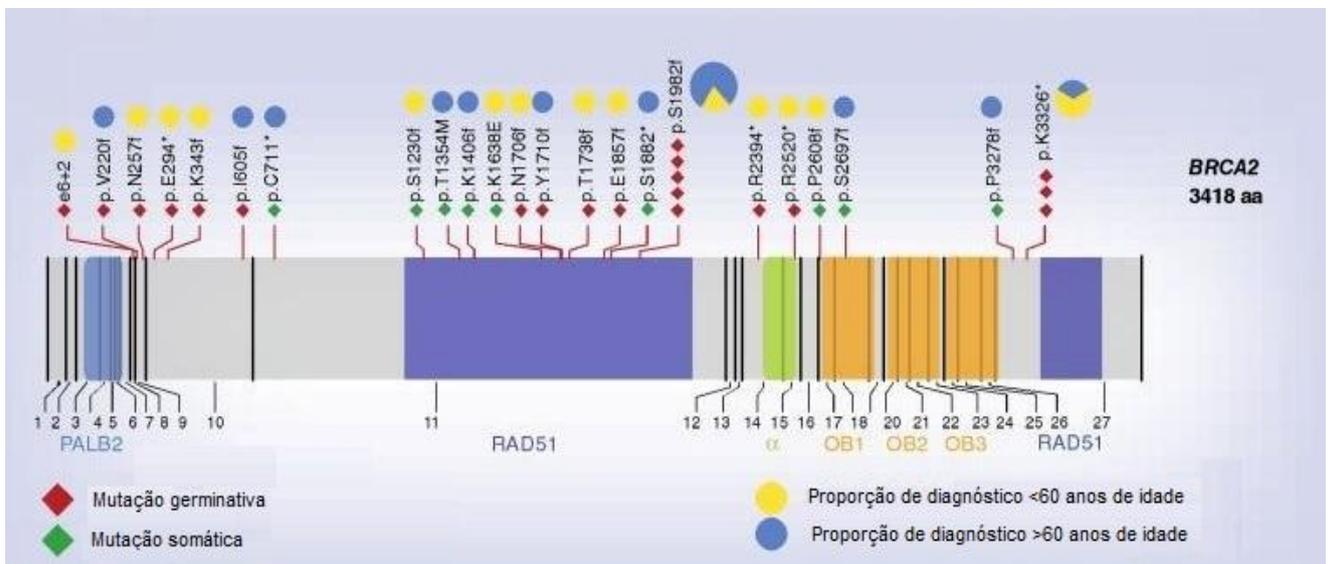
Figura 2 – Descrição das principais mutações na estrutura do gene *BRCA1*.



Fonte: Adaptado de LINGER; KRUK (2010).

A figura 3 demonstra o gene BRCA2 e suas principais mutações indicando a origem e a proporção de diagnóstico antes e depois dos 60 anos de idade. De acordo com pesquisa realizada na base de dados do Centro Nacional para Informação em Biotecnologia dos Estados Unidos (NCBI) existem cerca de 9194 SNPs relacionados ao gene *BRCA2* dentre eles mutações de substituições e *indels*, 1135 são descritos como patogênicos.

Figura 3 - Principais mutações distribuídas ao longo do gene BRCA2.



Fonte: Adaptado de LIU et al. (2012).

O gene *NAT2* pode apresentar um polimorfismo que está associado a capacidades acetiladoras diferentes entre diversos grupos étnicos. A prevalência de acetiladores lentos varia em japoneses de 10-20%, em caucasianos de 50-60% e na população do norte da África 90%. Alguns fármacos, como tuberculostático isoniazida, por exemplo, demonstram por meio da variação genética entre populações diferença na sua toxicidade. A acetilação que envolve o acetil-CoA e a enzima N-acetiltransferase é essencial para a eliminação deste fármaco (STRAKA; BENSON, 2004).

SNPs que foram testados para o risco de câncer de mama como parte do *Collaborative Oncological Gene-environment Study* (COGS) foram selecionados a partir de estudos de associação do genoma, realizados em mais de 10000 casos de câncer de mama e mais de 12500 controles. Quase 30000 SNPs foram genotipados novamente em mais de 45000 casos de câncer de mama e cerca de 42000 controles saudáveis. Este estudo identificou mais de 45 novos SNPs variantes para o risco de câncer de mama genético (MICHAILIDOU et al., 2013; BOJESSEN et al., 2013; GARCIA-CLOSAS et al., 2013), adicionalmente, aos já publicados.

A tabela 3 mostra a visão geral dos SNPs associados ao risco de câncer de mama, validados na última década. Os SNPs já validados explicam por volta de 14% do risco do câncer de mama familiar, porém é proposto que cerca de 1000 *loci* adicionais estão envolvidos na suscetibilidade ao câncer de mama (MICHAILIDOU et al., 2013).

3.2 Farmacogenética

Variações genéticas podem alterar a estrutura de uma proteína alvo por meio de mutações na região codificadora do gene ou a quantidade de proteína expressa, conseqüentemente alterar a função da proteína ou a sua proporção e constantes cinéticas, no caso de uma enzima. As mutações também podem modular a expressão gênica por meio de regulação epigenética. As mudanças estruturais de receptores ou enzimas podem afetar droga-receptor ou interação droga-enzima e, conseqüentemente, a resposta à droga (MA; LU, 2011). Certos SNPs são conhecidos por estarem associados com alterações significativas na eficácia do fármaco e a disposição de drogas (EVANS; RELLING, 1999; MCLEOD; EVANS, 2001; EICHELBAUM et al., 2006; RODEN et al., 2006).

Tabela 3- Polimorfismos de nucleotídeo simples (SNPs) validados para risco de câncer esporádico.

CROMOSSOMO	SNP
1	rs11249433, rs11552449, rs6678914, rs4245739, rs616488.
2	rs12710696, rs4849887, rs2016394, rs13387042, rs16857609, rs1045485, rs1550623.
3	rs6762644, rs4973768, rs12493607.
4	rs6828523, rs9790517.
5	rs10941679, rs1432679, rs889312, rs1353747, rs10472076, rs10069690, rs2736108.
6	rs17529111, rs2046210, rs3757318, rs11242675, rs204247.
7	rs720475
8	rs9693444, rs6472903, rs13281615, rs11780156, rs2943559.
9	rs865686, rs10759243, rs1011970.
10	rs11199914, rs2380205, rs7072776, rs11814448, rs2981579, rs2981582, rs7904519, rs704010, rs10995190.
11	rs3903072, rs11820646, rs614367, rs554219, rs75915166, rs3817198.
12	rs12422552, rs1292011, rs17356907, rs10771399.
13	rs11571833
14	rs941764, rs2236007, rs999737, rs2588809.
16	rs13329835, rs11075995, rs17817449, rs3803662.
17	rs6504950
18	rs527616, rs1436904.
19	rs3760982, rs8170, rs2363956, rs4808801.
21	rs2823093
22	rs132390, rs6001930.

Fonte: Adaptado de FASCHING et al. (2013).

Os primeiros relatos farmacogenéticos descritos vinculavam uma resposta a fármacos em determinada raça ou etnia. Clayman e colaboradores (1952) notaram, durante a Segunda Guerra Mundial, que cerca de 10% dos soldados afro-americanos e um pequeno número de caucasianos eram acometidos por uma crise hemolítica aguda, ao receber uma dose mediana de primaquina ou de outros fármacos antimaláricos. Posteriormente, foi mostrado que tal sensibilidade era acarretada por uma carência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), a qual modificava o metabolismo do eritrócito (MEYER, 2004).

Um dos exemplos de mais sucesso no que diz respeito à farmacogenética é o gene *CFTR*, pois já foram desenvolvidos medicamentos de pequenas moléculas específicas de genótipo que modulam sua função (BRODLIE et al. 2015). A figura 4 demonstra a localização das classes de mutações e seus respectivos tratamentos.

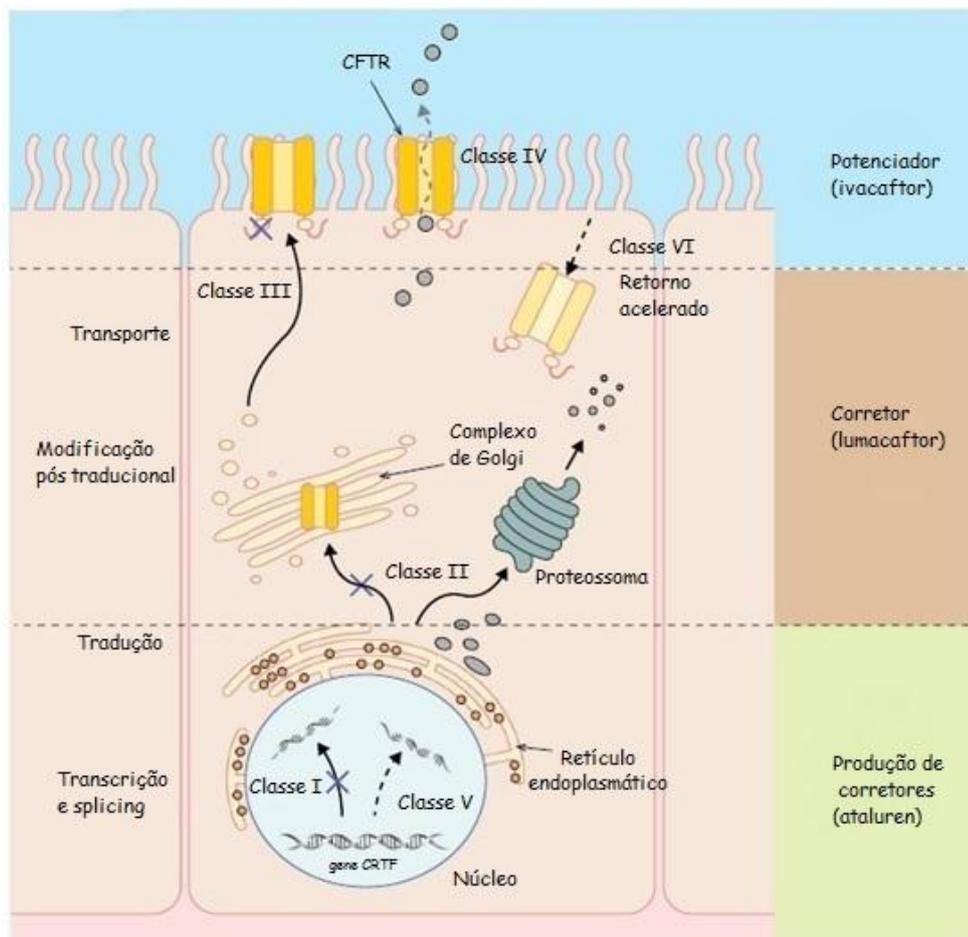
A utilização desses fármacos possui 3 abordagens já adotadas. A primeira é o uso de *potenciadores* que atuam aumentando a função de canais CFTR expressos na superfície apical de células epiteliais e são utilizados na classe de mutação III ou IV do gene *CFTR*, em que as proteínas atingem a superfície mas são disfuncionais. A segunda é a utilização de *corretores* que melhoram o processamento intracelular e a entrega da proteína mutada, em mutações de classe II, o que permite que mais proteínas atinjam a superfície da célula. A terceira é o uso de *corretores de produção* ou *agentes de leitura* que permitem o aumento na produção da proteína CFTR nas mutações de classe I do *CFTR* (BRODLIE et al., 2015).

É evidente que a farmacogenômica e a terapia medicamentosa individualizada estão cada vez mais influenciando a medicina e a investigação biomédica em muitas áreas, incluindo medicina clínica, o desenvolvimento de medicamentos, a regulação de drogas, farmacologia e toxicologia, uma reflexão temática da era pós-genômica da medicina de hoje. O rápido acúmulo de conhecimento a respeito do genoma da doença e as interações genoma-drogas proporcionam esperança de que a medicina individualizada pode ser conseguida no futuro próximo (MA; LU, 2011).

3.3 Nutrigênica

A ciência que estuda como os constituintes dos alimentos interagem com os genes e seus produtos na alteração do fenótipo é denominada, nutrigênica. Para isso, é necessário compreender de que forma nutrientes e compostos bioativos agem na modulação da expressão gênica (KAPUT et al., 2005). A nutrigênica pode ser entendida de duas maneiras, ou seja, tanto a alimentação poderia influenciar a atividade dos genes, quanto os genes poderiam influenciar a necessidade de nutrientes (CONTI, 2010).

Figura 4- As diferentes classes de mutações do gene *CFTR* e os mecanismos de ação dos fármacos de acordo com as classes.



Fonte: Adaptado de BRODLIE et al. (2015).

De acordo com a revisão feita por Corella; Ordovas (2005) vários exemplos de genes candidatos incluídos no metabolismo de lipídios já foram descritos na identificação desses genes e um número grande de SNPs que são úteis para tal identificação. A tabela 4 demonstra alguns dos polimorfismos já descritos.

No gene *PPARγ*, que participa do controle das concentrações sanguíneas de triacilglicerol, foi descrito um SNP, que leva a maiores concentrações de triacilglicerol comparado àqueles que não possuem essa variação genética. O mapeamento de polimorfismos com tal consequência auxilia na identificação de portadores que precisam dar uma atenção especial na dieta com relação ao consumo de alimentos ricos em gorduras, a fim de evitar doenças cardíacas. (CONTI, 2010).

Tabela 4- Relação dos polimorfismos presentes nos genes de algumas proteínas que atuam no metabolismo dos lipídios.

Proteína	Função	Polimorfismos	Alteração funcional
Apolipoproteína 1 (APOA 1)	Transporte de lipídios	Alelo A	Aumento de HDL +++
		Alelo G	HDL normal ou aumento + ↓ dos níveis de adiponectina, estresse oxidativo
Adiponectina	Modulação de processos metabólicos	ADIPQ 276 G	Mesmas alterações --
		ADIPQ 276 T	
Interleucina 1 (IL-1)	Mediador da inflamação	IL-1B (+3954)	Risco de doença cardiovascular
		IL-1 RN (+2018)	Mudança na atividade biológica da IL -1

Nota: Os sinais (+++) referem-se ao maior grau de intensidade do evento; (- -) referem-se ao grau intermediário; (+) refere-se ao baixo grau de intensidade. Já o símbolo (↓) refere-se à redução.

Fonte: Adaptado de FUJII; MEDEIROS; YAMADA. (2010).

No gene *APOA1*, relacionado ao colesterol-HDL, um SNP relacionado ao metabolismo de lipídeos foi encontrado. Em indivíduos que não possuem o polimorfismo, o aumento no consumo de ácidos graxos poliinsaturados como, por exemplo, o ômega-3, aumenta a concentração desse colesterol, diferentemente do que ocorre com os portadores da mutação, que apresentam também a redução desse biomarcador. Essa alteração genética explica em parte a distinção interindividual e chama a atenção para a chance de que não são efetivas para todos determinadas intervenções dietéticas (CONTI, 2010).

A metilação do DNA, tal como o balanço energético celular estão associados diretamente com o remodelamento da cromatina (PICARD et al., 2004), que pode ser levada pelos nutrientes, por meio da enzima DNA metiltransferase (DNMT) que catalisa a transição de um grupo metil da S-adenosilmetionina para locais específicos do DNA (SNEIDER; TEAGUE; ROGACHEVSKY, 1975). A S-adenosilmetionina metaboliza nutrientes provenientes da dieta, como a colina, metionina, ácido fólico, vitamina B6 (piridoxina), B12 (cobalamina) e B2 (riboflavina). As alterações no metabolismo do carbono podem ser ocasionadas pela carência desses nutrientes, o que prejudica a metilação do DNA e aumenta o risco de doenças crônicas, como o câncer e doenças cardiovasculares (STOVER; GARZA, 2002).

O risco de desenvolver uma doença crônica não transmissível pode ser reduzido pela realização de um perfil genético individual para que se possa estabelecer uma nutrição personalizada. Foi criada em 2007, a Rede Brasileira de Nutrigenômica

(www.nutrigenomicabrasil.org) o foco consiste primeiramente, na coordenação e na promoção de projetos integrados. Além da criação de um banco de dados relacionados aos estudos em nutrigenômica, originados de estudos executados com brasileiros (CONTI, 2010).

Atualmente existem exemplos que demonstram o início da aplicação do conceito de nutrigenômica. Pacientes com fenilcetonúria, patologia de causa monogenética, isto é, mutação em 1 gene específico, precisam seguir uma dieta diferenciada, com restrição de alimentos que possuem fenilalanina. Obrigatório no Brasil (Portaria nº822, de 06 de junho de 2001), o Programa Nacional de Triagem Neonatal (Teste do pezinho) torna possível a identificação de recém-nascidos que apresentam essa mutação e, assim, indicar o quanto antes a dieta específica necessária (CONTI, 2010).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diversos estudos veem mostrando o grau de importância do investimento em estudos para análises de polimorfismos de nucleotídeos simples (SNP) visto que sua aplicabilidade é ampla e pode ser utilizada em diversas patologias, desde o diagnóstico até o tratamento.

As técnicas que veem sendo utilizadas têm se mostrado promissoras, porém é necessário que se estabeleçam critérios de seleção dos pacientes e métodos de genotipagem mundiais para avaliações a fim de obter frequências de mutações mais consistentes entre os estudos e para que tais descobertas possam beneficiar a população em geral, diferentemente do que tem ocorrido, ou seja, estudos pontuais em determinadas etnias.

No futuro espera-se que o custo para mapeamento dos SNPs diminua e que seu uso se torne mais abrangente para que desde o nascimento qualquer indivíduo tenha acesso a tais informações e conseqüentemente uma análise clínica de suas possíveis doenças, bem como a melhor dieta para que se diminua os riscos de desenvolvê-las e os fármacos específicos para seu tratamento.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALWI, Z. The Use of SNPs in Pharmacogenomics Studies. **The Malaysian journal of medical sciences**, Kubang Kerian, v.12, n.2, p.4–12, jul. 2005.

ANTONARAKIS, S; KRAWCZAK, M; COOPER, D. The nature and mechanisms of human gene mutation. Cap. 13. In: SCRIVER CR, BEAUDET AL, SLY WS, VALLE D, editors. **The metabolic and molecular bases of inherited disease**. 8ª ed. Nova Iorque: McGraw-Hill. 2001. p 259–291.

ANTONIOU, A. RAD51 135GrC Modifies Breast Cancer Risk among BRCA2 Mutation Carriers: Results from a Combined Analysis of 19 Studies. **The American Journal of Human Genetics**, Baltimore, v.81, n.6, p. 1186-1200, dez. 2007.

BOJESSEN, S et al. Multiple independent variants at the TERT locus are associated with telomere length and risks of breast and ovarian cancer. **Nature genetics**, New York, v.45, n. 4, p.371–384, abr. 2013.

BRODLIE,M; HAQ, I;ROBERTS, K; ELBORN, J. Targeted therapies to improve CFTR function in cystic fibrosis. **Genome Medicine**, Londres, v.7, n.1, p. 1-16, set. 2015.

CONTI, A. Nutrigenômica: a ciência da nutrição na era pós genoma. **Food ingredientes Brasil**,São Paulo, n.15, p. 44-46, set-nov. 2010

CORDEIRO, A et al . Revisão sistemática: uma revisão narrativa. **Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro , v. 34, n. 6, p. 428-431, dez. 2007 .

CORELLA, D; ORDOVAS, J. Single nucleotide polymorphisms that influence lipid metabolism: Interaction with dietary factors. **Annual review of nutrition**, Palo Alto, v. 25, p. 341-390, jul. 2005.

CHUZHANOVA, N et al. Meta-Analysis of Indels Causing Human Genetic Disease: Mechanisms of Mutagenesis and the Role of Local DNA Sequence Complexity. **Human Mutation**, Nova Iorque, v. 21, n.1, p. 28-44, jan. 2003.

DANTAS, É et al . Genética do Câncer Hereditário. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 55, n.3, p. 263-269, jul-ago. 2009.

DAVIES, J; ALTON, E; BUSH, A. Clinical Review: Cystic fibrosis. **BMJ**, Londres, v.335, n.7632, p. 1255-1259, dez. 2007.

EICHELBAUM, M; INGELMAN-SUNDBERG, M; EVANS, W. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. **Annual review of medicine**, Palo Alto, v.57, p.119-137, fev. 2006.

EVANS, W; RELLING, M. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. **Science**, New York, v.286, n. 5439, p.487-491, out. 1999.

FARINHA, C; MATOS, P; AMARAL, M. Control of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator membrane trafficking: not just from the endoplasmic reticulum to the Golgi. **FEBS Journal**,Oxford,v.280, n.18, p.4396–4406, set. 2013.

FASCHING, P et al. Breast Cancer Risk – From Genetics to Molecular Understanding of Pathogenesis. **Geburtshilfe Frauenheilkd**, Stuttgart, v.73, n.12, p.1228-1235, dez. 2013.

FERLA, R et al. Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes. **Annals of Oncology**, Dordrecht, v.18, s.6, p. vi93-vi98, jun. 2007.

FRIEDMAN, L et al. Novel inherited mutations and variable expressivity of BRCA1 alleles, including the founder mutation 185delAG in Ashkenazi Jewish families. **American Journal of Human Genetics**, Baltimore, v.57, n.6, p. 1284–1297, dez. 1995.

FUJII, T; MEDEIROS, R; YAMADA, R. Nutrigenômica e nutrigenética: importantes conceitos para a ciência da nutrição. **Nutrire**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 149-166, abr. 2010

GARCIA-CLOSAS, M et al. Genome-wide association studies identify four ER negative-specific breast cancer risk loci. **Nature genetics**, New York, v.45, n. 4, p.392–398, abr. 2013.

GUDMUNSDOTTIR, K; ASHWORTH, A. The roles of BRCA1 and BRCA2 and associated proteins in the maintenance of genomic stability. **Oncogene**, Basingstoke, v. 25, p.5864–5874, set. 2006.

HARVEY, J; BRANT, S; KNUTSON, J; HAN, M. SNP Analysis Using CataCleave Probes. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, Nova Jérsei, v. 22, n. 3, p.192–203, maio 2008.

IEIRI, I. ; TAKANE, H.; OTSUBO, K. The MDR1 (ABCB1) gene polymorphism and its clinical implications. **Clinical Pharmacokinetics**, Auckland, v. 43, n. 9, p.553–576, ago. 2004.

JENSEN, T. et al. Multiple proteolytic systems, including the proteasome, contribute to CFTR processing. **Cell**, Cambridge, v.83, n.1, p.129-135, out. 1995.

JORDE, L; CAREY, J; BAMSHAD, M; WHITE, R. **Genética Médica**. 2ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

KITTS, A; SHERRY, S. **The Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP) of Nucleotide Sequence Variation**, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21088/>>. Acesso em: 9 abr. 2015.

KAPUT, J et al. The case for strategic alliances to harness nutritional genomics for public and personal health. **The British journal of nutrition**, Cambridge, v. 94, n. 5, p. 623-632, nov. 2005.

LINGER, R; KRUK, P. BRCA1 16 years later: Rick-associated BRCA1 mutations ad their functional. **The FEBS journal**. Oxford, v. 277, n. 15, p. 3086-3096, ago. 2010.

LIU, G et al. Differing clinical impact of BRCA1 and BRCA2 mutations in serous ovarian câncer.**Pharmacogenomics**, London, v.13, n.13, p.1523–1535, out. 2012.

MA, Q; LU, A. Pharmacogenetics, Pharmacogenomics, and Individualized Medicine. **Pharmacological reviews**, Baltimore, v. 63, n. 2, p. 437-459. jun. 2011.

MARSON, F et al. Pesquisa da mutação F508del como primeiro passo no diagnóstico molecular de fibrose cística. **Jornal brasileiro de pneumologia**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 306-316, jun. 2013.

MCLEOD, H; EVANS, W. Pharmacogenomics: unlocking the human genome for better drug therapy. **Annual review of pharmacology and toxicology**, Palo Alto, v. 41, p. 101-121. abr. 2001.

MEYER, U. Pharmacogenetics – five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. **Nature reviews. Genetics**, London, v.5, p. 669-676, set. 2004.

MICHAILIDOU, K et al. Large-scale genotyping identifies 41 new loci associated with breast cancer risk. **Nature genetics**, New York, v.45, n.4, p.353–361, abr. 2013.

MILLS, R et al. An initial map of insertion and deletion (INDEL) variation in the human genome. **Genome Research**, Nova Iorque, v. 16, p.1182-1190, jul. 2006.

NUSSBAUM, R; MCLNNES, R; WILLARD, H. **Thompson & Thompson Genética médica**. 7ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

PESSOA, I; GUERRA, F; MENEZES, C; GONÇALVES, G. Fibrose Cística: Aspectos genéticos, clínicos e diagnósticos. **Journal of Surgery and Clinical Research**, Maringá, v.11, n.4, p. 30-36, jun-ago. 2015.

PICARD, F. et al. Sirt 1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR- γ . **Nature**, London, v. 429, n. 6993, p. 771-776, jun. 2004.

PROSPIERI, M. et al. Can multiple SNP testing in BRCA2 and BRCA1 female carriers be used to improve risk prediction models in conjunction with clinical assessment?. **BMC medical informatics and decision making**, London, v.14, n.87, p.1-11, out. 2014.

RAMSEY, B et al. A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. **The new england journal of medicine**, Boston, v. 365, n.18, p.1663–1672, nov. 2011.

REPETTO, G; PUGA, A; DELGADO, I. XV-2c and KM: 19 haplotype analysis in Chilean patients with cystic fibrosis and unknown CFTR gene mutations. **Biological Research**, Santiago, v.40, n.2, p.223-229, 2007.

RIBEIRO, J; RIBEIRO, M, RIBEIRO, A. Controvérsias na fibrose cística: do pediatra ao especialista. **Jornal de pediatria**, Porto Alegre, v.78, n.2, p. 171-186, dez. 2002.

RODEN, D et al. Pharmacogenomics:challenges and opportunities. **Annals of internal medicine**, Philadelphia, v.145, n. 10, p. 749-757, nov. 2006.

SACHIDANANDAM, R et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. **Nature**, London, v.409, n.6822, p.928-933, fev. 2001.

SHEPPARD, D; WELSH, M. Structure and function of the CFTR chloride channel. **Physiological reviews**. Washington, v.79, n. 1, p. S23–45, jan.1999.

SNEIDER, T; TEAGUE, W; ROGACHEVSKY, L. S-adenosilmethionine: DNA-cytosine 5-methyltransferase from a Novikoff rat hepatoma cell. **Nucleic acids research**, London, v. 2, n. 10, p. 1685-1700, out. 1975.

STOVER, P; GARZA, C. Bringing individuality to public health recommendations. **The Journal of nutrition**, Rockville, v. 132, n. 8, p. 2476S-2480S, ago. 2002. Supplement.

STRAKA, R; BENSON, S. Chronopharmacologic considerations when treating the patient with hypertension: a review. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 36, n.9, p. 771–782, set. 1996.

TAVTIGIAN, S et al. The complete BRCA2 gene and mutations in chromosome 13q-linked kindreds. **Nature Genetics**, New York, v.12, p.333–337, mar.1996.

TILLIB, S; MIRZABEKOV, A. Advances in the analysis of DNA sequence variations using oligonucleotide microchip technology. **Current Opinion in Biotechnology**, Londres, v. 12, n. 1, p. 53-58, fev. 2001.

US Food and Drug Administration (FDA). **FDA approves new treatment for cystic fibrosis**. Disponível em: <http://www.fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/ucm453565.htm>. Acesso em: 01 out. 2015.

VISSCHER, P. et al. Five Years of GWAS Discovery. **The American Journal of Human Genetics**, Baltimore, v. 90, n.1, p. 7-24, jan. 2012.

WAINWRIGHT C. et al. Lumacaftor–ivacaftor in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del CFTR. **The new england journal of medicine**, Boston, v.373, p.220–231, jul. 2015

WEBER, J.; DAVID, D.; HEIL, J.; FAN, Y.; ZHAO, C.; MARTH, G. Human diallelic insertion/deletion polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v.71, n.4, p.854–862, out. 2002.