



# POLIMORFISMO GENÉTICO E NUTRIGENÔMICA

**22-JUNHO-2023**

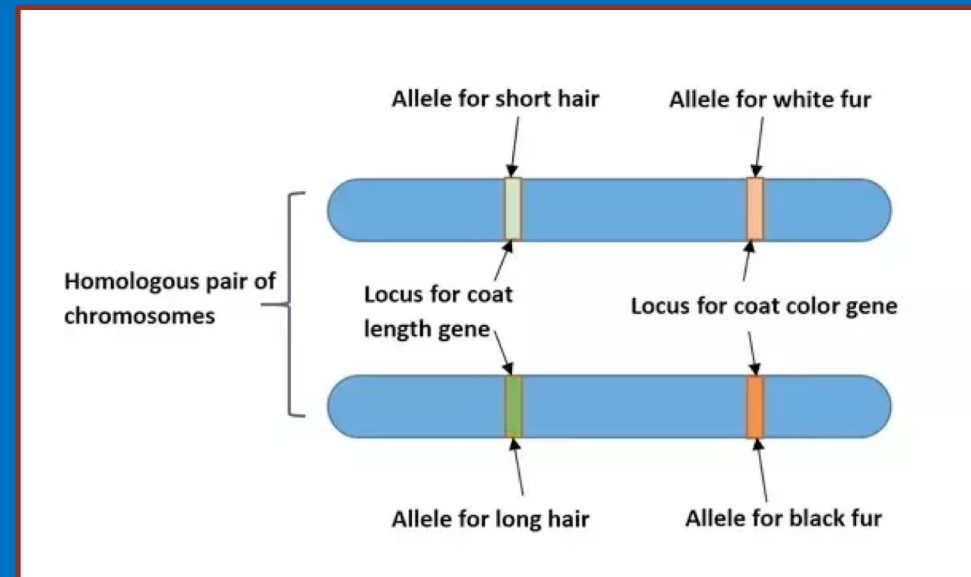
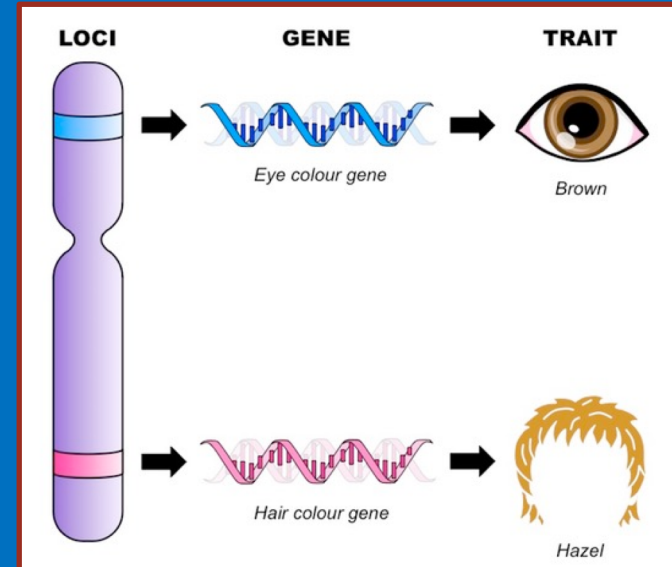
QBQ-313 Bioquímica para Nutrição USP

# Resumo

- Nas aulas anteriores, nós comentamos que o genoma de um organismo é sua assinatura
- Que a sequência de DNA é igual numa mesma espécie
- Embora esta afirmação seja verdadeira, “igual” neste caso não significa “idêntica”
- Veremos nesta aula, que a sequência de DNA (genoma) dos indivíduos de uma mesma espécie apresentam pequenas diferenças, que podem ser importantes na saúde e na doença
- Estas diferenças, são o que chamamos de polimorfismo genético
- Podem ser alterações numa única base do DNA ou em longas sequências do cromossomo como inserções, deleções, inversões e duplicações
- Veremos como estas alterações podem causar grande diferenças entre organismos, com implicações importante na saúde e na doença

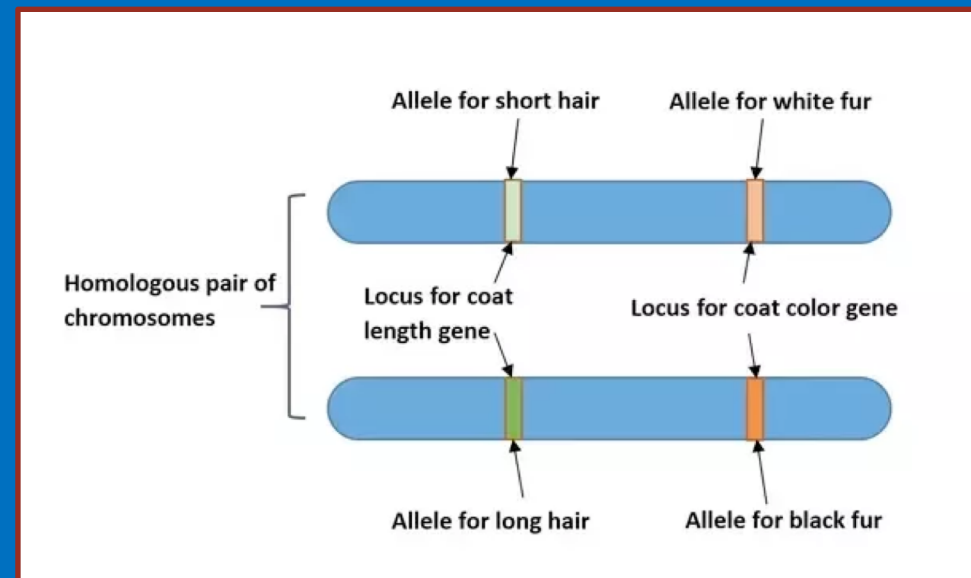
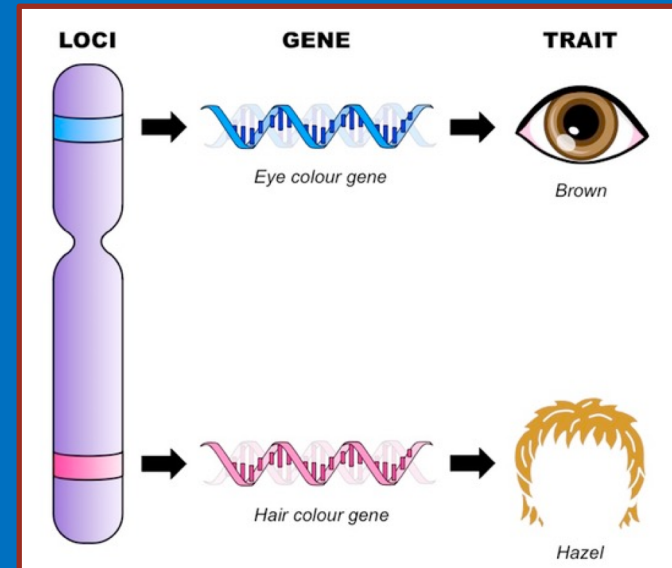
# Locus e alelos

- Locus (plural, loci) é uma posição no DNA
- Um locus pode ser toda uma região contendo vários genes
- Pode ser uma região contendo apenas 1 gene
- Como pode, ainda, ser apenas 1 nucleotídeo do DNA
- Como temos duas cópias de cada cromossomo, podemos ter duas variantes de um mesmo locus



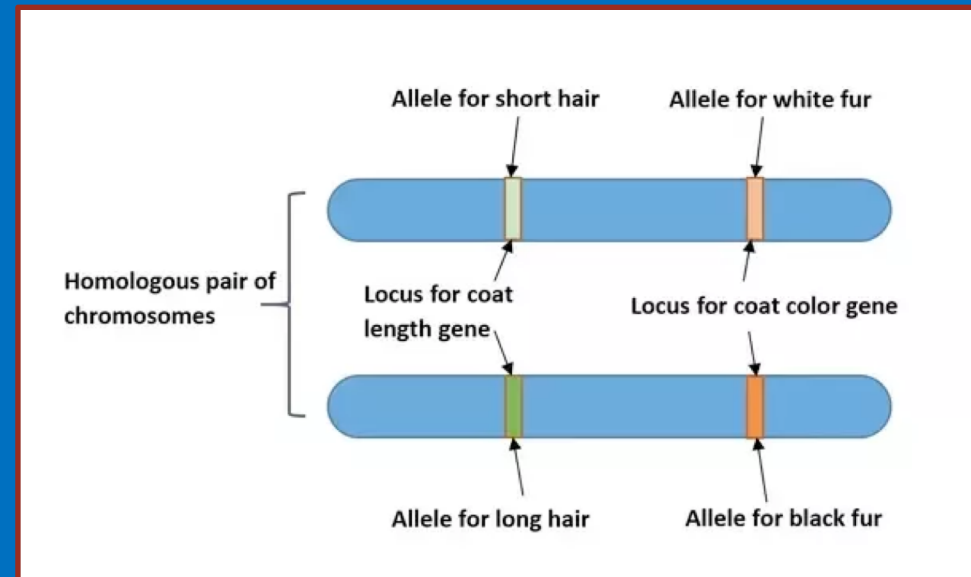
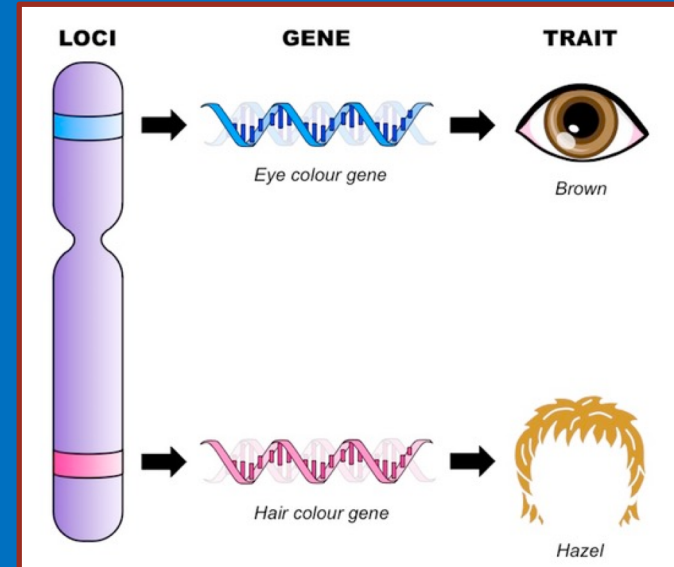
# Do DNA ao RNA e, finalmente, às proteínas

- Cada alelo pode codificar para um determinado traço genético (cor dos olhos, do cabelo etc)
- Portanto, podemos ter um alelo que determina olhos castanhos e outro alelo para olhos azuis
- Podemos ter um alelo que determina pelos curtos e outro longos etc
- Enfim, estes diferentes alelos são denominados de variantes
- Outros termos, pode ser selvagem ou mutante



# Quanto alelos existem?

- Geralmente, temos apenas 2 alelos para um determinado locus
- Porém, podem existir mais
- Consideramos o alelo referência aquele que é mais comum na população em geral



# Tipos de variantes gênicas

- Várias alterações podem ocorrer no DNA
- Desde a mudança numa única base (troca de um A para T, por exemplo)
- Inserções e deleções de bases, inversões de grandes regiões cromossômicas (p.ex., com mais de 1 milhão de pb)
- Vamos olhar agora, com um pouco mais de detalhes, como estas mudanças podem acontecer e quais as implicações biológicas

**TABELA 4-2** Variação Comum no Genoma Humano

Tipo de Variação	Extensão do Tamanho (Aprox.)	Base para o Polimorfismo	Número de Alelos
Polimorfismos de nucleotídeo único	1 pb	Substituição de um ou outro par de bases em uma localização específica no genoma	Geralmente dois
Inserção/deleções (indels)	1 pb a > 100 pb	<i>Simples</i> : Presença ou ausência de um pequeno segmento de DNA de 100-1.000 pb de comprimento <i>Microsatélites</i> : Geralmente, uma unidade de 2, 3 ou 4 nucleotídeos repetida em <i>tandem</i> 5-25 vezes	<i>Simples</i> : 2 <i>Microsatélites</i> : tipicamente 5 ou mais
Variantes no número de cópias	10 kb a > 1 Mb	Tipicamente a presença ou ausência de segmentos de DNA de 200 pb a 1,5 Mb, embora a duplicação em <i>tandem</i> de 2, 3, 4 ou mais cópias também possa ocorrer	2 ou mais
Inversões	Poucos pb a > 1 Mb	Um segmento de DNA presente em qualquer uma das duas orientações com respeito ao DNA circundante	2

pb, par de bases; kb, par de quilobases; Mb, par de megabases

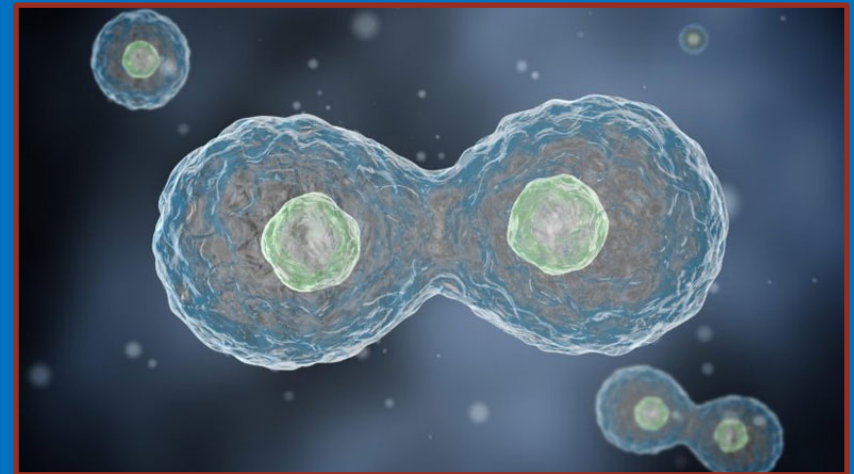
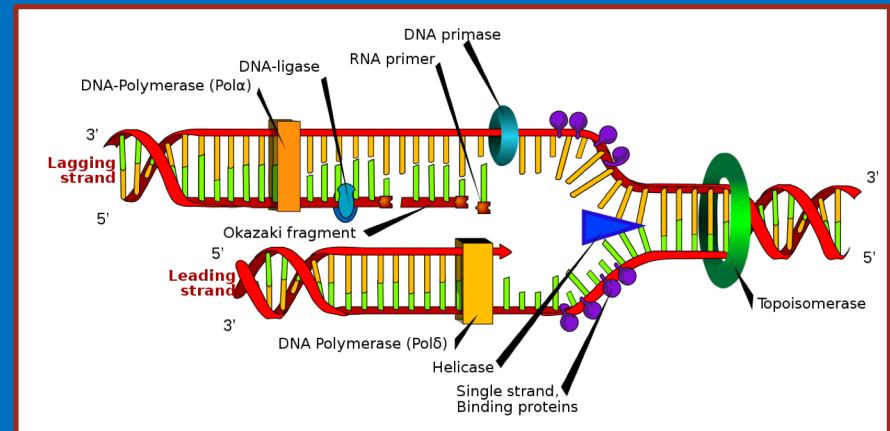
# SNP e indel

- SNP, ou single-nucleotide polymorphism (polimorfismo de nucleotídeo único), é quando a mudança é de uma única base
- Indel (insertion + deletion) significa quando temos inserção (in) ou deleção (del) de bases numa sequência
- Abaixo, temos exemplos de um SNP e dois Indels (A e B)
- A sequência referência de um genoma geralmente é a sequência encontrada na maior parte da população

	5	10	15	20
<b>Sequência de referência</b>	...	G G A T T T C T A G G T A A C T C A G T C G A ...		
<b>SNP</b>	<i>Alelo 1</i>	...	G G A T T T C T A G G T A A C T C A G T C G A ...	
	<i>Alelo 2</i>	...	G G A T T T C <b>C</b> A G G T A A C T C A G T C G A ...	
<b>Indel A</b>	<i>Alelo 1</i>	...	G G A T T T C T A G G T A A C T C A G T C G A ...	
	<i>Alelo 2</i>	...	G G A T T T C T A G G <b>G</b> T A A C T C A G T C G A ...	
<b>Indel B</b>	<i>Alelo 1</i>	...	G G A T T T C T A G G T A A C T C A G T C G A ...	
	<i>Alelo 2</i>	...	G G A T <b>- -</b> C T A G G T A A C T C A G T C G A ...	

# Erros durante a duplicação do DNA

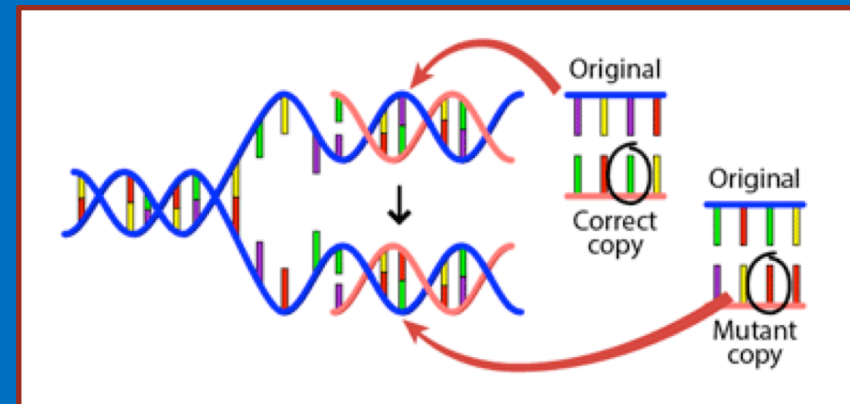
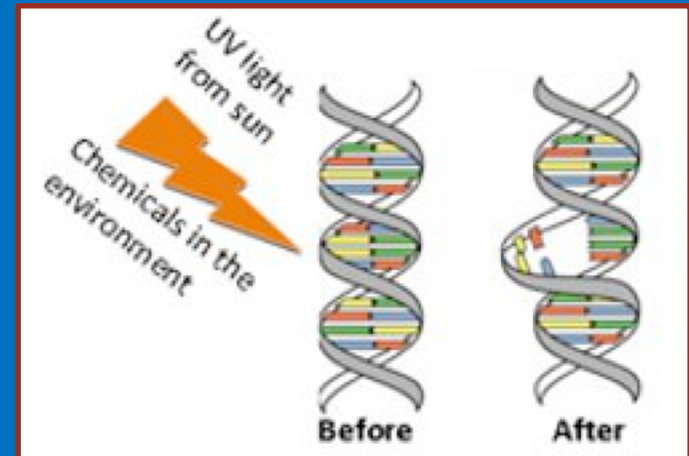
- O processo de duplicação do DNA é muito preciso, mas não é perfeito!
- Erros durante a duplicação são rapidamente corrigidos por várias enzimas de reparo do DNA
- A DNA polimerase ocasionalmente insere um nucleotídeo errado (1 em cada 10 milhões)
- Porém, sua atividade exonucleásica (3'-5'), assim com as demais vias de reparo do DNA, corrigem >99% destes erros
- Ao final, o erro global é uma base a cada 10 bilhões de nucleotídeos
- Ou seja, menos de uma base errada por genoma





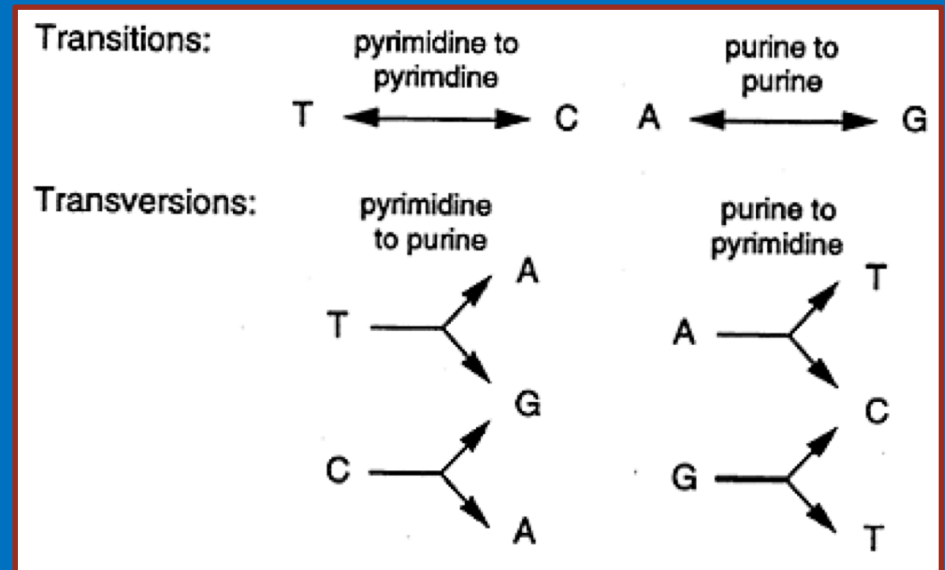
# Como surgem as mutações?

- Elas podem ocorrer durante a replicação do DNA ou por processos químicos (naturais ou induzidos), que danificam o DNA
- Estima-se que de 10 mil até 1 milhão de bases do DNA são alterados diariamente numa célula
- Luz ultravioleta (UV), radiação, cigarro, e outros agentes químicos podem causar danos no DNA
- Este dano muitas vezes resulta na alteração de bases do DNA
- Quando este DNA mutado é copiado durante a duplicação, este dano se torna permanente
- Podemos ter troca, inserção e/ou remoção de bases do DNA



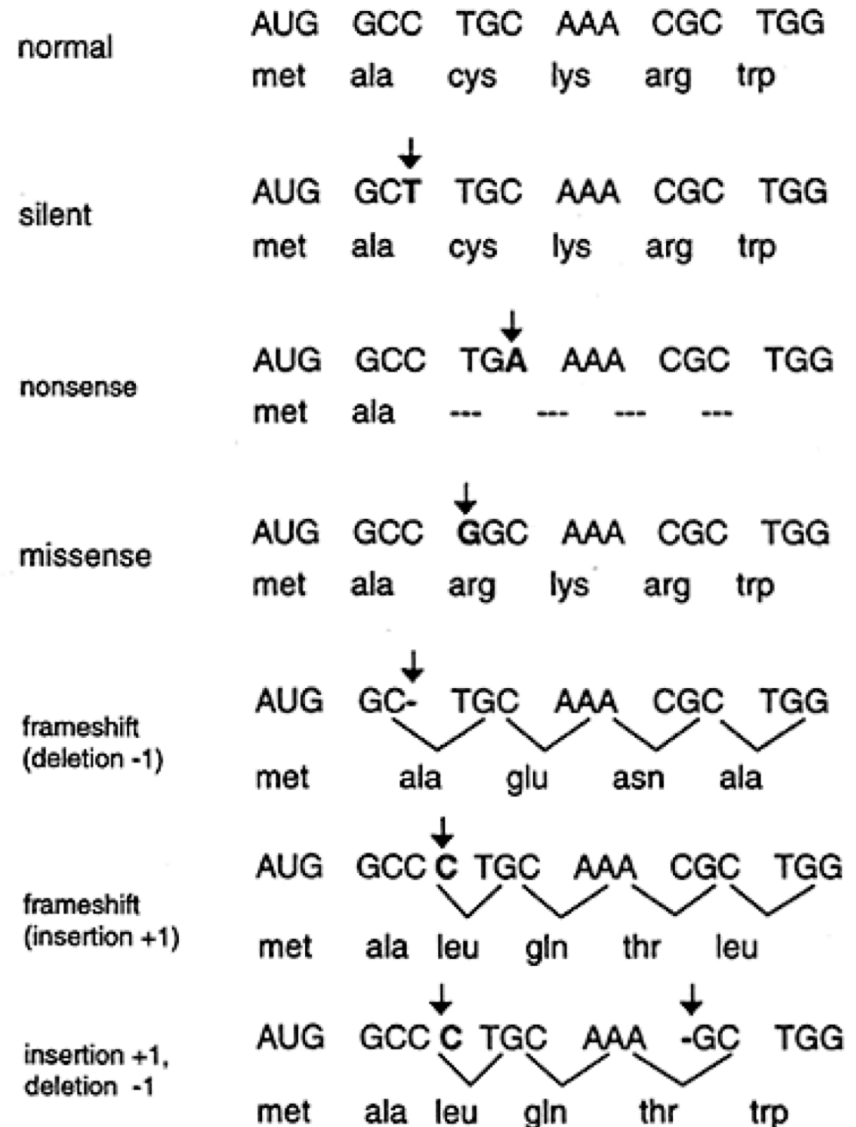
# O que acontece se mudarmos a sequência do DNA?

- Estas mudanças são conhecidas como mutações
- Quando há mudança na base, elas podem ser de dois tipos: transições ou transversões
- As transições, indicam uma troca de base da mesma família (purina ou pirimidina)
- Já as transversões envolvem alteração de uma purina para pirimidina e vice-versa



# O que acontece se mudarmos a sequência do DNA?

- Estas mudanças são conhecidas como mutações
- Se elas ocorrerem dentro de um gene, podemos ter alteração na informação
- Porém, por causa do código genético, nem sempre estas mutações alteram o produto do gene (proteína)
- Vejamos, quando a mutação ocorre na terceira base do códon, muitas vezes esta mutação pode ser do tipo **silenciosa**
- Neste exemplo, temos uma transição de C para T na sequência
- Porém, como a mudança foi na terceira posição de um códon do aminoácido alanina (GCC – GCT), isto não resultou numa alteração na sequência da proteína produzida



# O que acontece se mudarmos a sequência do DNA?

- Estas mudanças são conhecidas como mutações

- Se elas ocorrerem em um gene, podemos observar mudanças na proteína

- Porém, nem sempre uma mudança no gene (proteína) resulta em uma mudança na proteína

- Vejam os exemplos: a substituição de uma base do DNA pode ser silenciosa

- Neste exemplo, a substituição de uma base do DNA resulta em uma mudança na proteína

- Porém, a substituição de uma base do DNA em uma posição diferente do código genético (GCC – Cys) não resulta em uma mudança na sequência da proteína

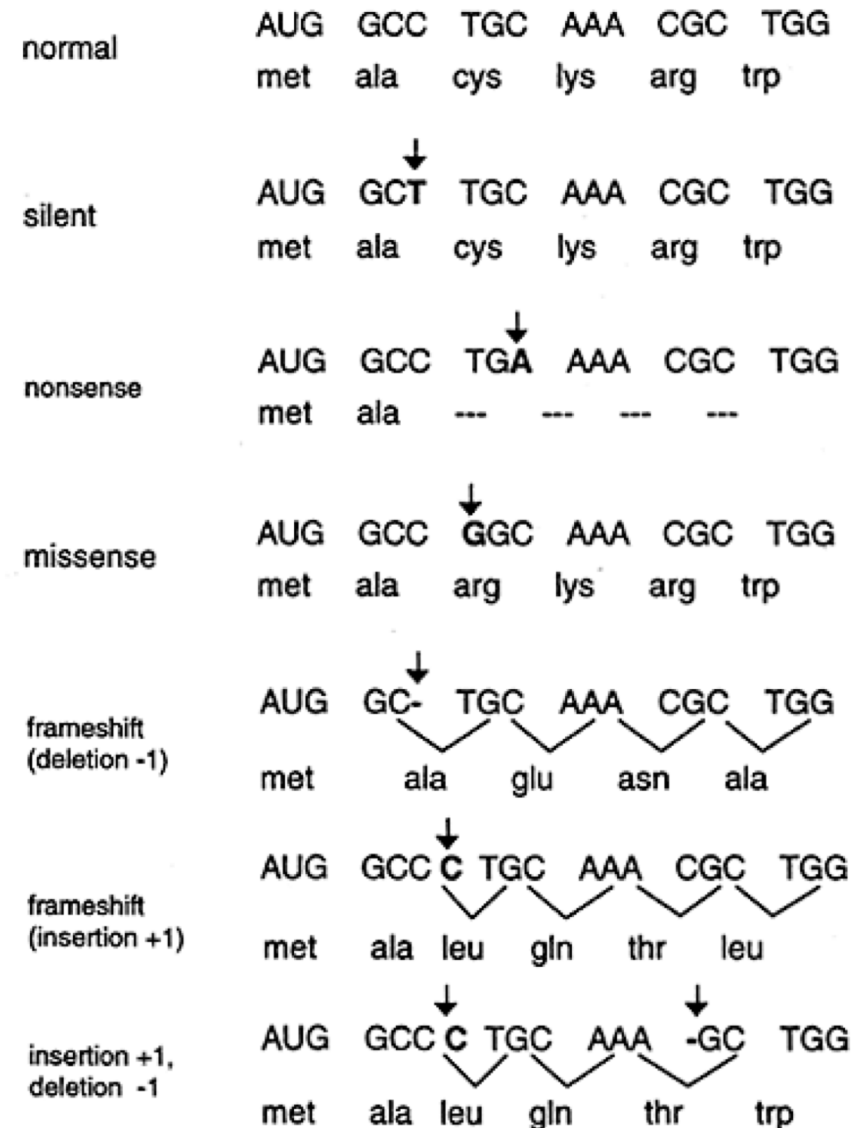
First letter	Second letter				Third letter
	U	C	A	G	
U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA Stop UAG Stop	UGU } Cys UGC } UGA Stop UGG Trp	U C A G
C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	U C A G
A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G
G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U C A G

AUG	GCC	TGC	AAA	CGC	TGG
				arg	trp
AA	CGC	TGG			
				arg	trp
AA	CGC	TGG			
---	---				
AA	CGC	TGG			
				arg	trp
AA	CGC	TGG			
				asn	ala
AAA	CGC	TGG			
				thr	leu
AAA	-GC	TGG			
				thr	trp

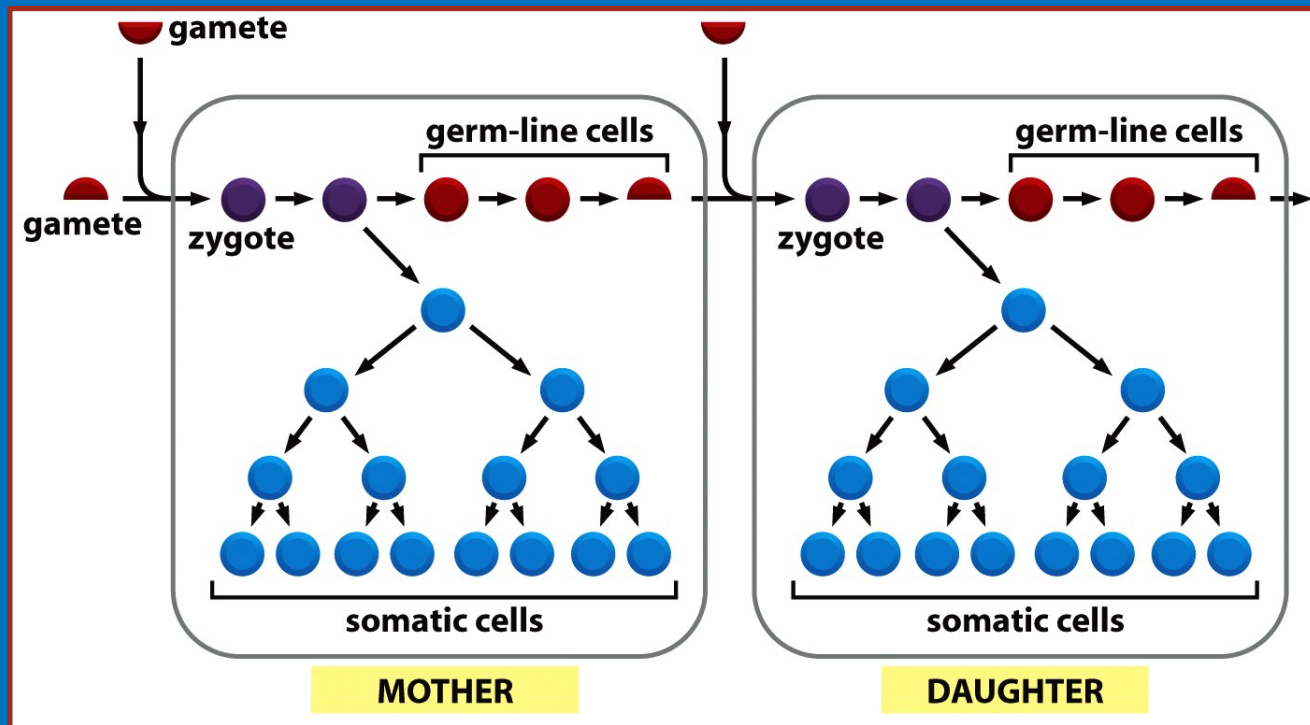
# O que acontece se mudarmos a sequência do DNA?

- Porém, outra mudança, agora uma transversoão (A para C), também na terceira base de um códon foi mais drástica
- Isto resultou na alteração de um códon de cisteína (TGC) para um de parada (TGA)
- Isto resultará na produção de uma proteína truncada, menor, muitas vezes não funcional
- Esta mutação é conhecida como "**sem sentido**" (do inglês, nonsense)
- Se a mutação for em qualquer posição de um códon é resultar numa troca de aminoácidos (neste caso, TGC para GGC) (Cys para Arg), a mutação é de "**sentido trocado**" (missense)
- Inserções e deleções (adição e remoção) de bases podem ainda alterar o paço de leitura, levando à produção de uma outra proteína diferente da original



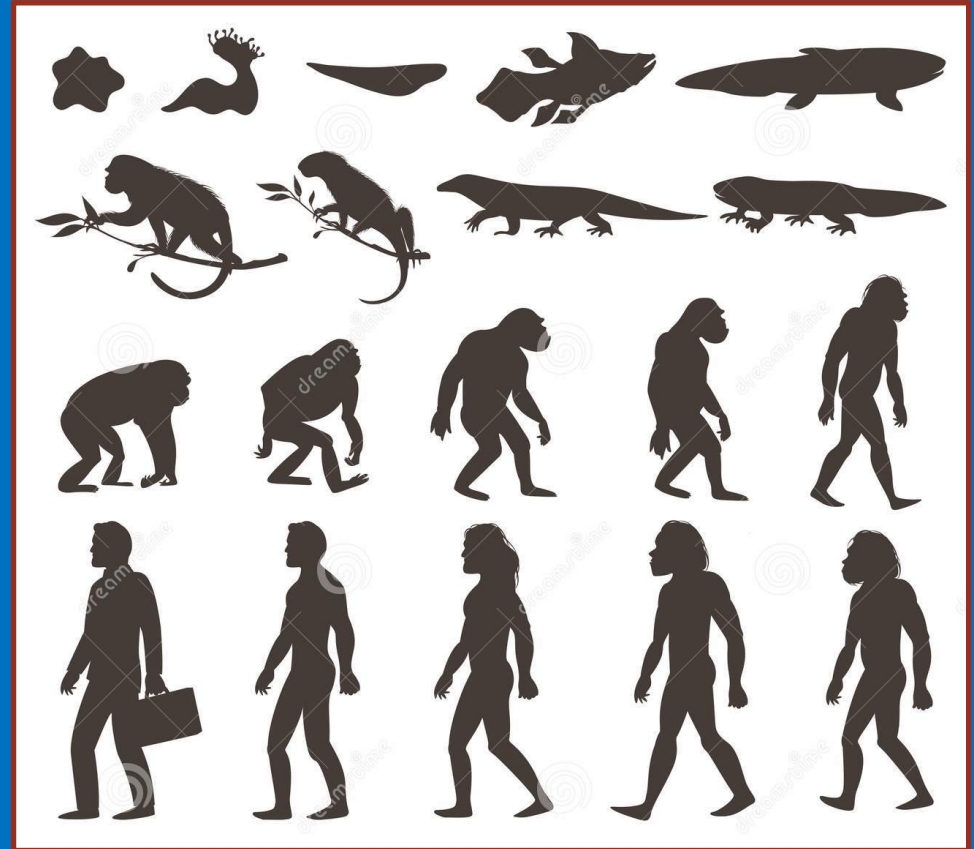
# Mutações somáticas e germinativas

- Ao longo da nossa vida, as células do nosso corpo podem acumular um grande número de mutações
- São as mutações somáticas, que não passam para nossos filhos/filhas
- Porém, mutações nas células germinativas (óvulo e espermatozóide) podem ser transmitidas para as próximas gerações



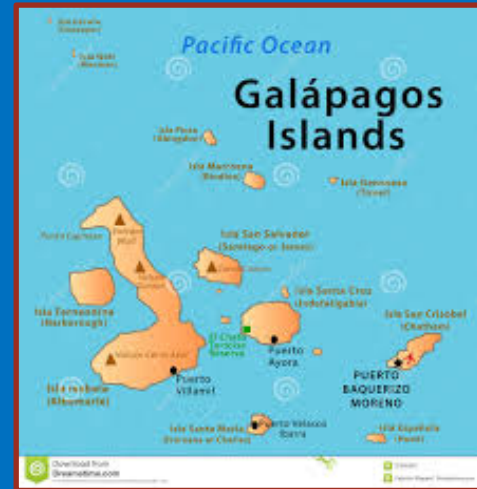
# Mutações e evolução

- Ao longo de bilhões de anos, mutações, Indel, duplicações no DNA promoveram a evolução das espécies
- Novos genes surgiram (duplicação gênica), melhorar sua atividade (mutações) etc



# Darwin

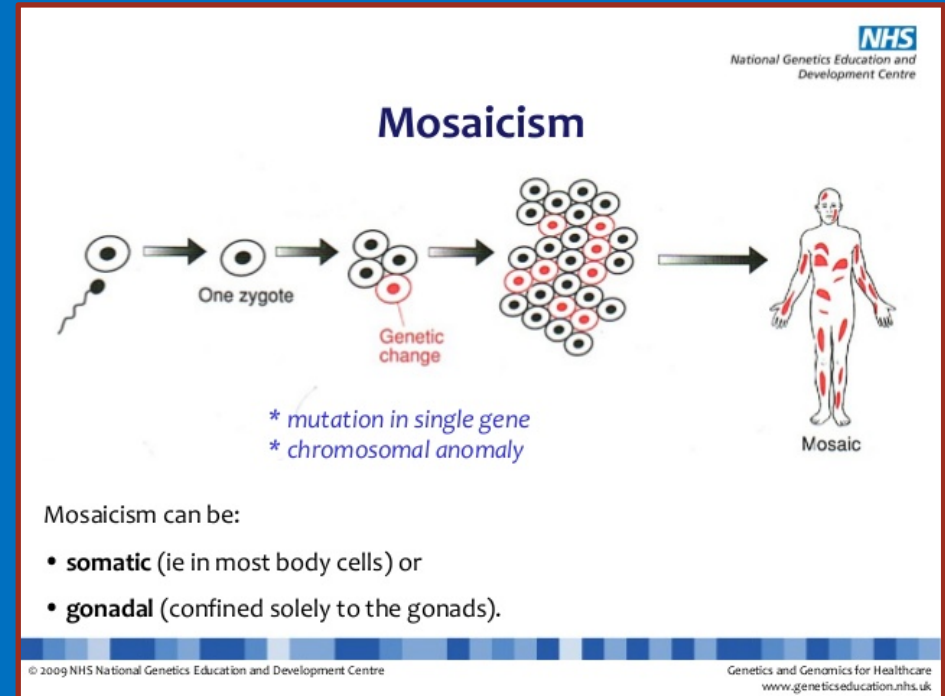
- Durante sua visita às ilhas Galápagos, Darwin recolheu algumas espécies de pássaros na diferentes ilhas
- Inicialmente, ele imaginou que fossem espécies diferentes
- Porém, observou mais tarde que se tratavam da mesma espécie (fringilídeos)
- Quando isolados, as espécies evoluíam, tomando formas diferentes (p.ex., formato do bico)
- Isto é um exemplo da mutações naturais que são passadas de pais/mães para os filhos/filhas
- Com o passar dos anos, séculos, todos os indivíduos da espécie passam a ter o mesmo genótipo





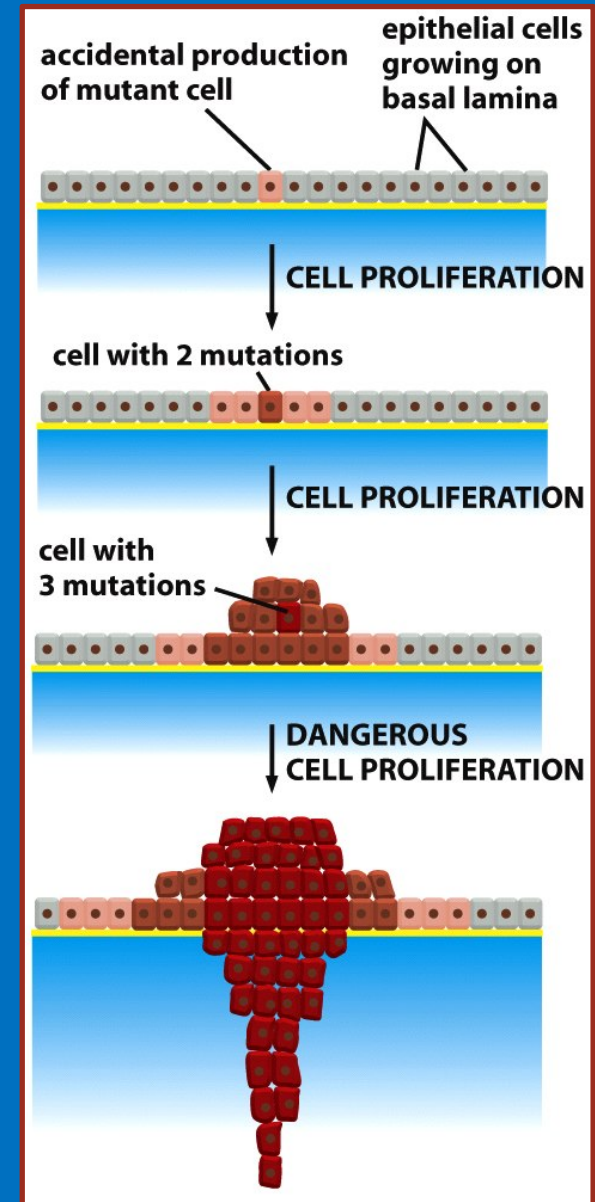
# Mutações somáticas e o mosaicismo

- Notem, porém, que durante o desenvolvimento embrionário, nossas células se dividem bilhões de vezes
- Neste caso, algumas mutações podem acontecer ao longo do processo
- Apenas as células filhas carregarão esta mutação somática
- Ao final, seremos uma combinação de células sem e com a mutação
- A isto, dá-se o nome de mosaicismo (de mosaico)



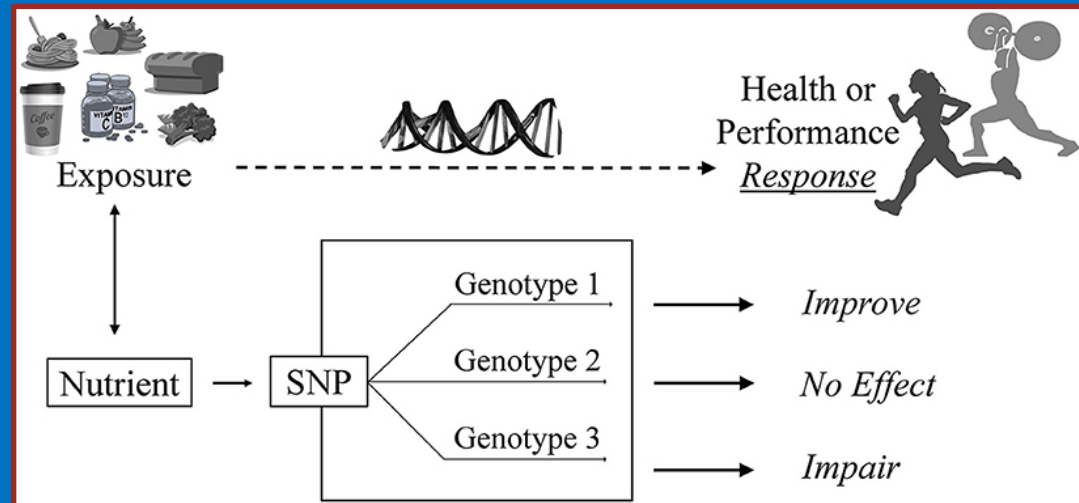
# Mutações somáticas e o câncer

- Na grande maioria da vezes, mutações somáticas serão inofensivas
- Isto porque elas podem ocorrer em regiões intergênicas (sem genes) ou mesmo dentro de introns, sem prejuízo para a produção de uma proteína, por exemplo
- Porém, algumas vezes, elas podem ocorrer em regiões importantes, alterando a sequência de uma proteína ou inativando um promotor
- Quando várias mutações prejudiciais se acumulam numa mesma célula, a mesma pode se tornar uma célula "transformada", maligna
- Estas células, crescem sem controle e se tornam células tumorais, um câncer



# Polimorfismo gênico na nutrição

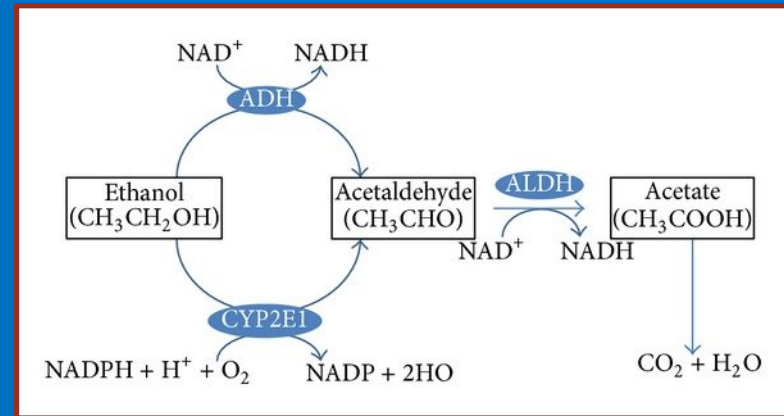
- Alterações gênicas podem ter implicações importantes na nutrição
- Como veremos ao longo do curso (próximo semestre), nosso metabolismo é controlado por proteínas (enzimas, hormônios etc)
- Mutações que alteram a sequência destas proteínas, sem inativá-las, podem mudar seu comportamento
- Por exemplo, dependendo do alelo, uma enzima por ser mais ou menos ativa
- Vamos analisar o metabolismo de etanol como exemplo



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2019.00008/full>

# Polimorfismo gênico na nutrição

- O álcool que ingerimos é metabolizado por duas enzimas: ADH e ALDH
- A ADH (álcool desidrogenase) converte o etanol em acetaldeído, que é convertido pela enzima Acetaldeído desidrogenase (ALDH) em acetato
- Temos dois alelos para a ALDH (o  $ALDH2^*1$  e o  $ALDH2^*2$ )
- No caso do alelo  $*2$ , temos uma troca de bases (G>A) que resulta na mudança do aminoácido ácido Glutâmico para Lisina
- Isto faz com que a enzima fique praticamente inativa (sem atividade), resultando no acúmulo de acetaldeído, que é bastante tóxico
- Este alelo  $*2$  é bastante comum na população de origem asiática, fazendo com que a ingestão de bebidas alcólicas seja bem desagradável para estas pessoas



# Polimorfismo gênico na nutrição

- O primeiro genoma humano foi completado no ano 2000 a um custo de milhões de dólares
- Atualmente, o genoma de uma pessoa pode ser feito em algumas horas a um custo próximo de US\$ 1 mil
- Com isto, estudos populacionais com dados genômicos de milhares de indivíduos já está ao nosso alcance

**TABELA 4-1 Bancos de Dados Úteis sobre Informações da Diversidade Genética Humana**

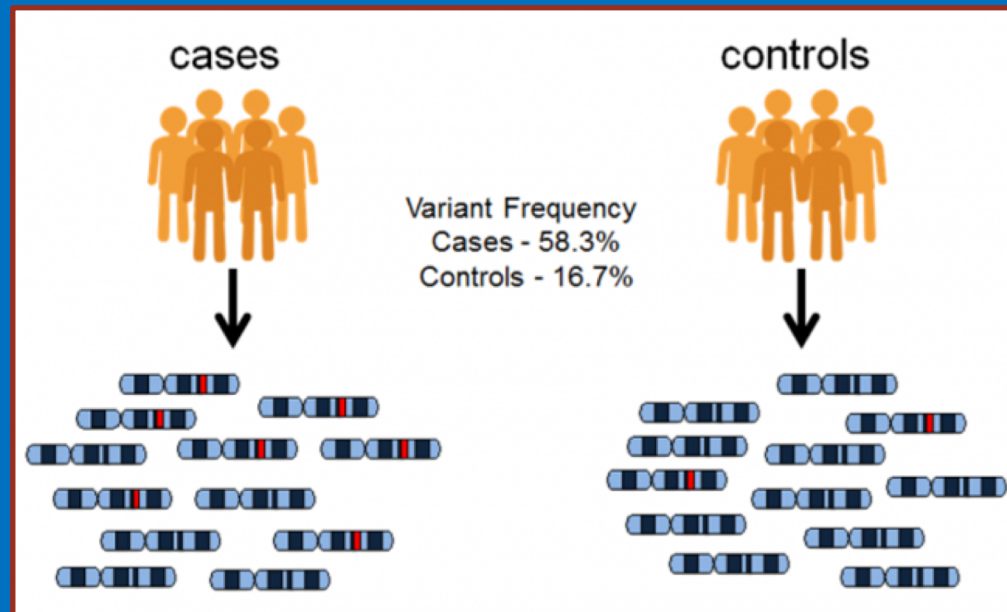
Descrição	URL
O <b>Projeto Genoma Humano</b> , concluído em 2003, foi uma colaboração internacional para sequenciar e mapear o genoma da nossa espécie. O rascunho da sequência do genoma foi divulgado em 2001, e a montagem do genoma de referência “essencialmente completo” foi publicada em 2004.	<a href="http://www.genome.gov/10001772">http://www.genome.gov/10001772</a> <a href="http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway">http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway</a> <a href="http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Index">http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Index</a>
O <b>Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP)</b> e o <b>Structural Variation Database (dbVar)</b> são bancos de dados de variações em pequena e larga escala, incluindo variantes de nucleotídeo único, microssatélites, indels e CNVs.	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/</a> <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar/</a>
O <b>1.000 Genomes Project</b> está sequenciando os genomas de um grande número de indivíduos para fornecer uma fonte abrangente sobre a variação genética em nossa espécie. Todos os dados estão disponíveis publicamente.	<a href="http://www.1000genomes.org">www.1000genomes.org</a>
O <b>Human Gene Mutation Database</b> é uma coleção abrangente de mutações germinativas associadas a ou causadoras de doenças hereditárias humanas (atualmente incluindo mais de 120.000 mutações em 4.400 genes).	<a href="http://www.hgmd.org">www.hgmd.org</a>
O <b>Database of Genomic Variants</b> é um catálogo de curadoria de variações estruturais no genoma humano. Desde 2012, o banco de dados contém mais de 400.000 entradas, incluindo mais de 200.000 CNVs, 1.000 inversões e 34.000 indels.	<a href="http://dgv.tcag.ca">http://dgv.tcag.ca</a>
O <b>Japanese Single Nucleotide Polymorphisms Database (JSNP Database)</b> relata SNPs descobertos como parte do Millennium Genome Project.	<a href="http://snp.ims.u-tokyo.ac.jp/">http://snp.ims.u-tokyo.ac.jp/</a>

CNV, variação no número de cópias; SNP, polimorfismo de nucleotídeo único.

Atualizado de Willard HF: The human genome: a window on human genetics, biology and medicine. In Ginsburg GS, Willard HF, editors: *Genomic and personalized medicine*, ed 2, New York, 2013, Elsevier.

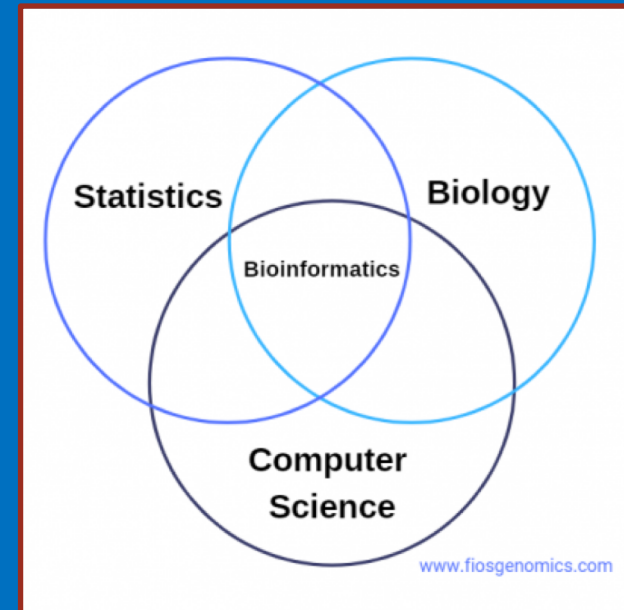
# GWAS studies

- Genome wide association studies (GWAS) procuram por associações entre um fenótipo (uma doença, p.ex.) um determinado genótipo
- Estes estudos são possíveis graças ao barateamento dos custos para sequenciar um genoma completo
- Busca-se por uma correlação entre a presença de um determinado alelo (variação gênica) e uma doença



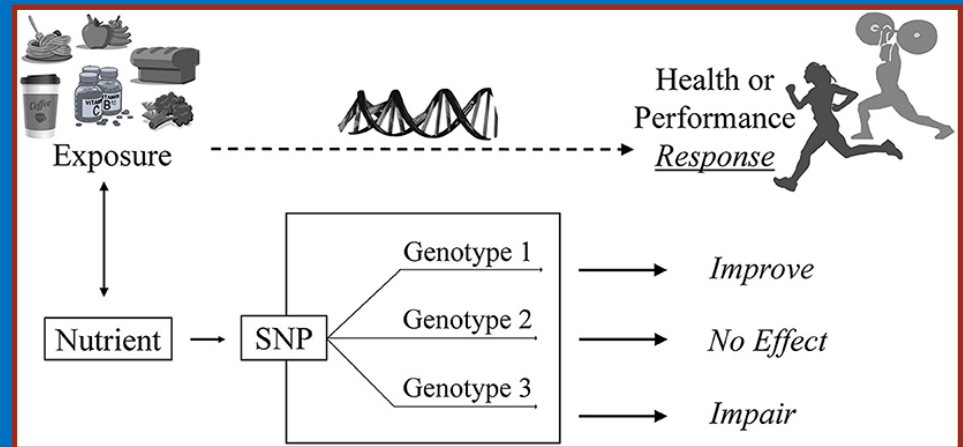
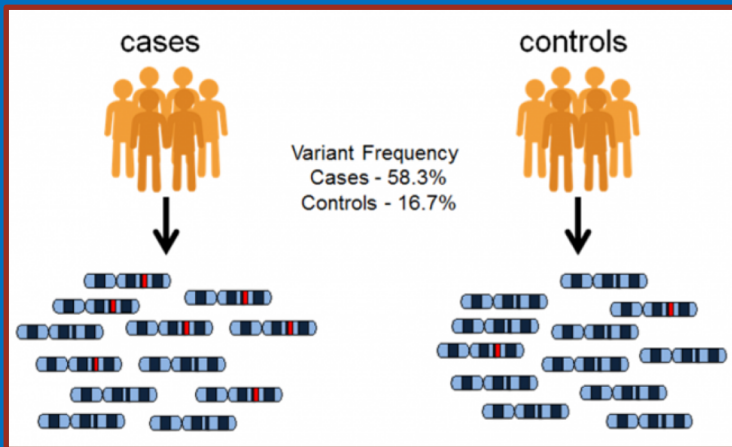
# Bioinformática

- Os estudos de genômica, principalmente, estudos GWAS, são possíveis graças aos avanços da bioinformática
- Comparações das longas sequências de DNA (com bilhões de nt) de milhares de indivíduos não é trivial
- A bioinformática é um campo de estudo que vem crescendo em importância a cada ano
- Estudos de GWAS em câncer, nutrição e outras áreas envolvem conhecimentos de ciência da computação, biologia e matemática (principalmente, estatística)



# GWAS e nutrigenômica

- A nutrigenômica busca por associações entre determinadas variações gênicas e os nutrientes
- É um campo novo, bastante ativo, e que graças aos avanços no sequenciamento de DNA, bioinformática, está crescendo bastante
- Nas próximas décadas, deveremos aprender muito sobre as implicações das variações genéticas na nutrição





# Literatura

- Thompson & Thompson, Genética Médica – Capítulo 4 (Diversidade genética humana: mutações e polimorfismos).
- Zaha, Biologia Molecular Básica – Capítulo 14 (Controle da expressão gênica).