

GENÉTICA DAS PORFIRIAS



Dr. Salmo Raskin

O que são Porfirias?

- **Porfirias são um grupo de 7 doenças raras causadas por defeitos na produção do HEME, que é fundamental para a constituição de enzimas respiratórias, responsáveis pelo transporte de oxigênio, de elétrons, e pelo sistema do citocromo P450.**
- **85% da síntese é feita nas células da medula, e servem para formação da hemoglobina; 15% é produzido no fígado, dos quais 80% é usado para a produção de diferentes citocromos.**

Quão raras são as Porfirias?

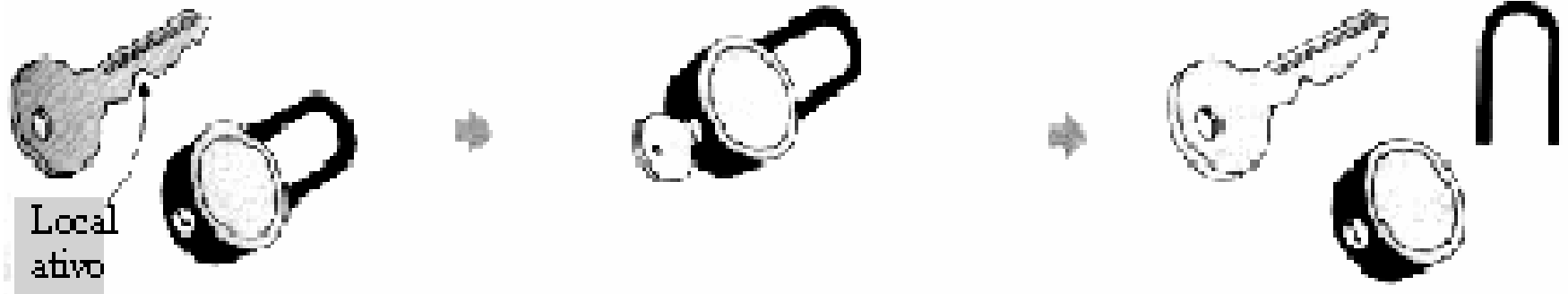
- **Occorre em todas as etnias**
- **Todas combinadas ocorrem em 5/100 mil pessoas, sendo que a Porfíria Aguda ocorre em 1 a 2 pessoas a cada 100 mil**
- **Altas incidências na Suécia (PAI principalmente) e África do Sul (cerca de 10 mil casos descritos)**

Porfirias são causadas por deficiências enzimáticas

➤ ENZIMAS:

- ◆ Catalisadores biológicos**
- ◆ Altamente específicas**
- ◆ Catalisa uma só reação ou um conjunto de reações relacionadas**

Porfirias são causadas por deficiências enzimáticas

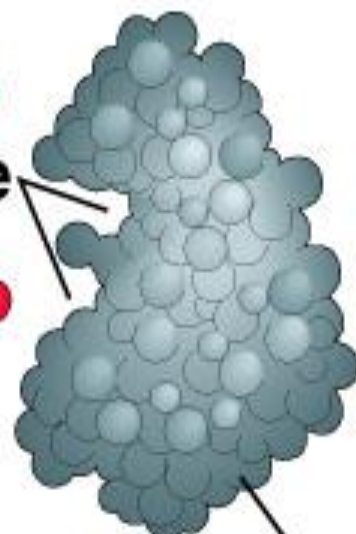




Substrate A



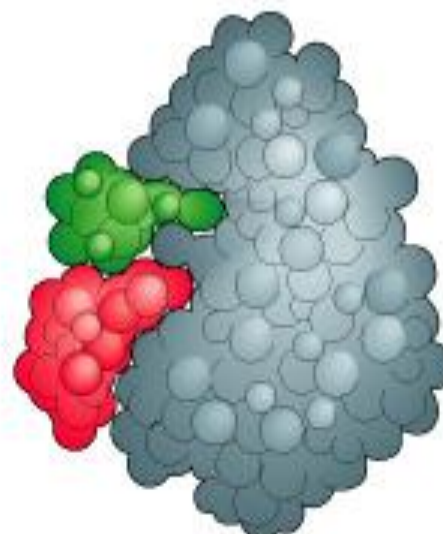
Active sites



Substrate B

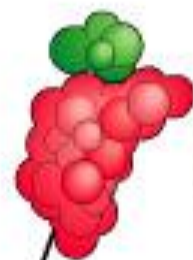
Enzyme

(a) Enzyme and substrates



(b) Enzyme-substrate complex

Product C



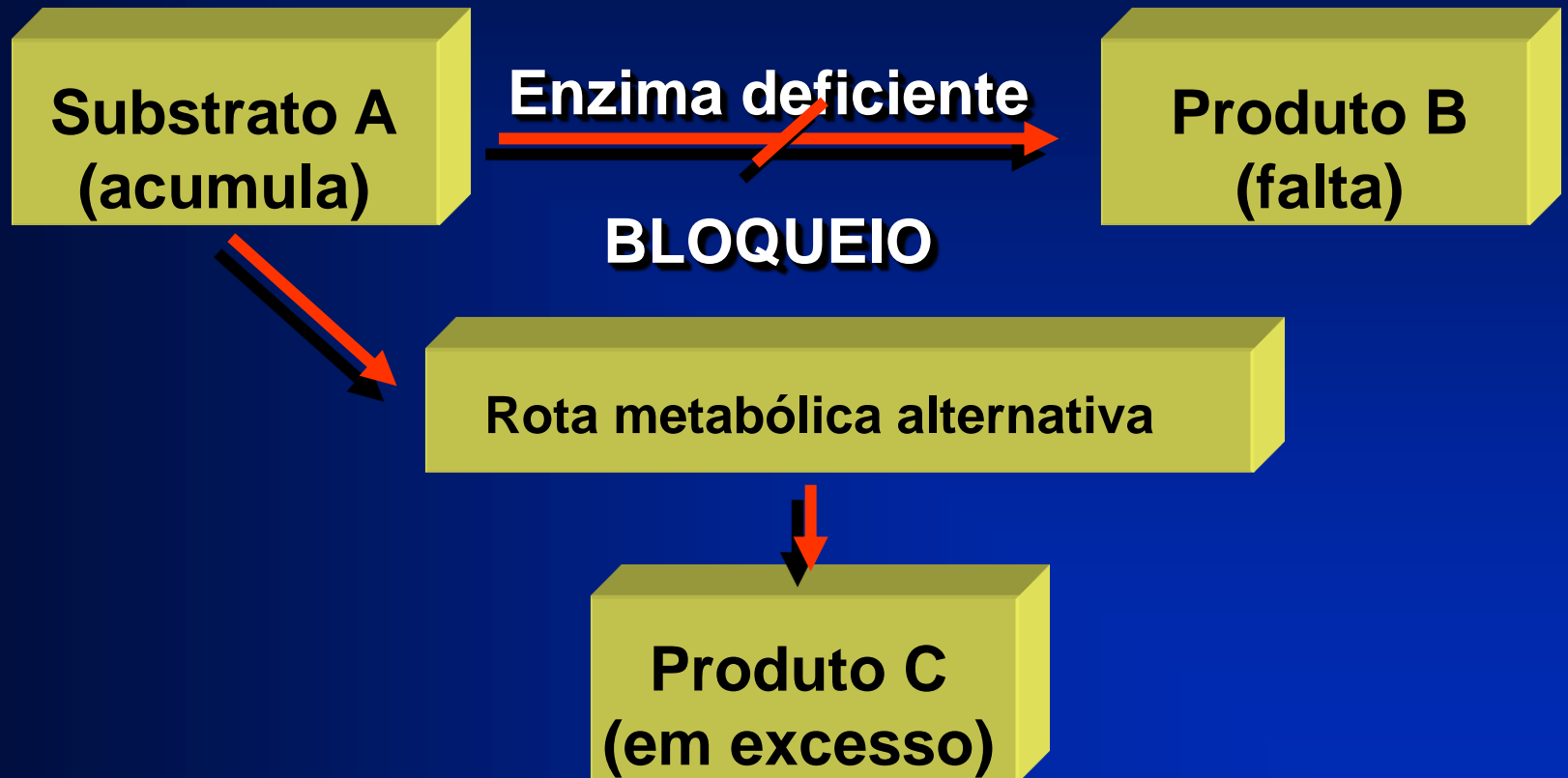
Product D

(c) Reaction products and enzyme (unchanged)

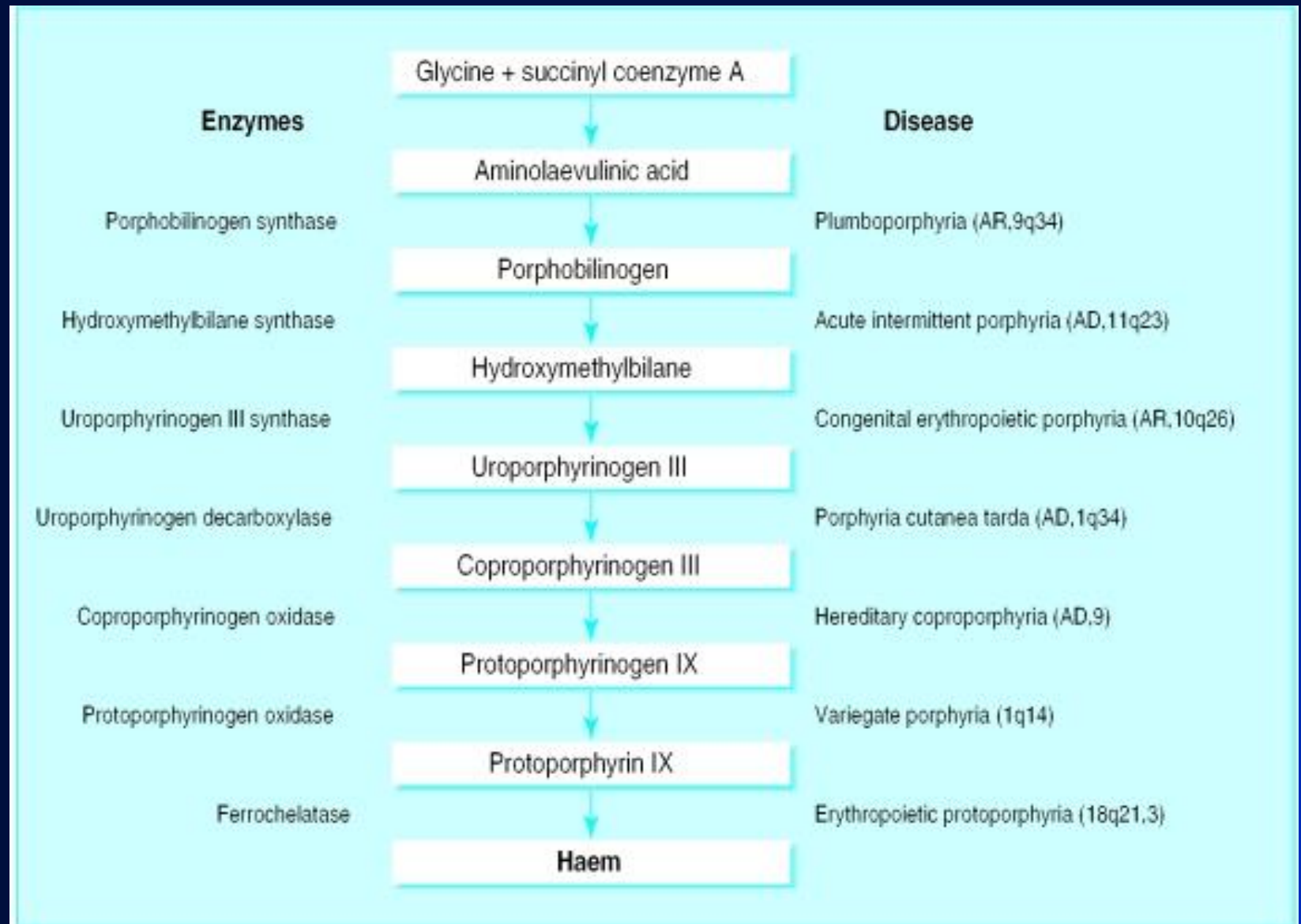
As Porfirias são Erros Inatos do Metabolismo

- **Doenças metabólicas hereditárias resultantes da falta da atividade de uma enzima, coenzima ou cofator, que leva ao bloqueio de uma determinada rota metabólica.**

Representação esquemática dos processos envolvidos em um EIM



Via Metabólica da Biosíntese do Heme



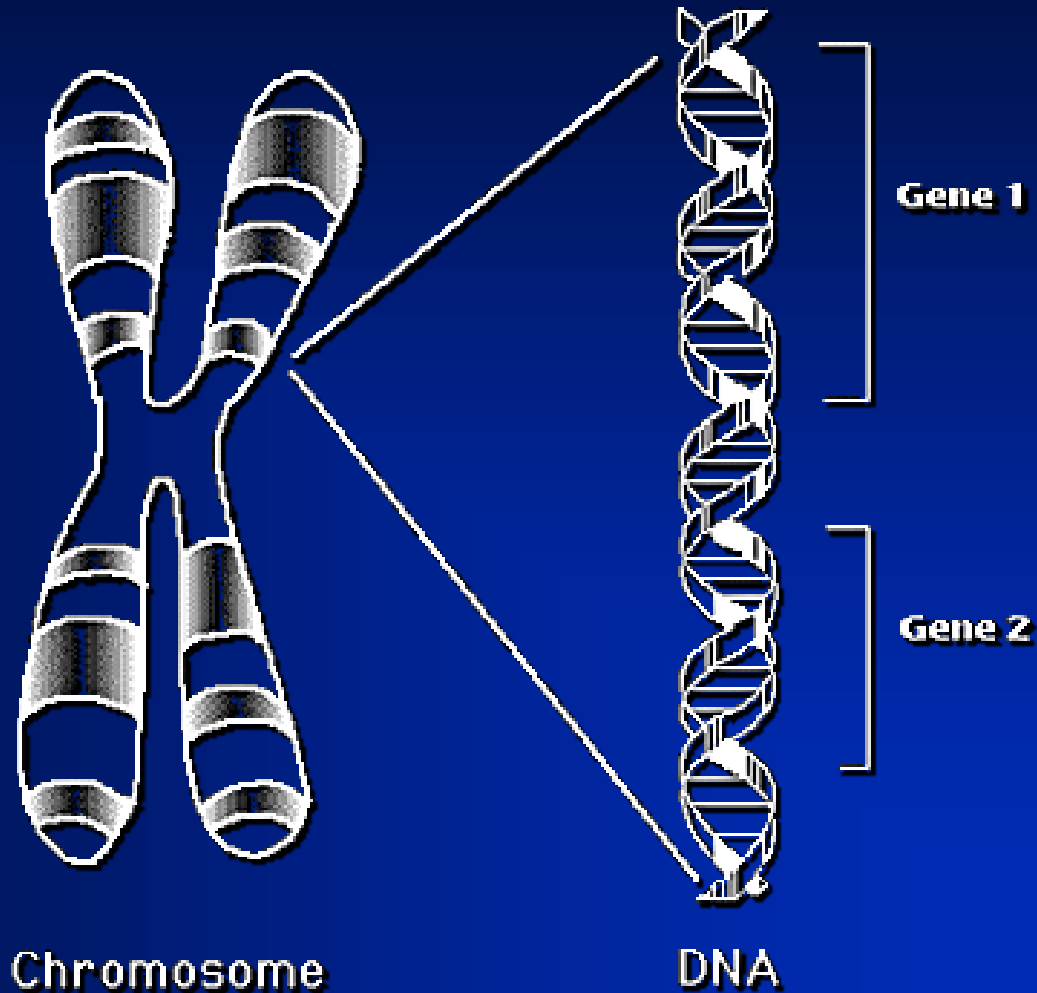
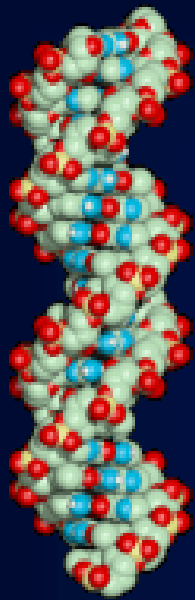
Tipos de Porfirias

7 tipos:

LOCUS

- ◆ **Porfiria Cutanea Tardia (PCT)** 6p21.3 e 1p34
- ◆ **Protoporfiria Eritropoiética** 18q21.3 e Xp11.21
- ◆ **Porfiria Eritropoiética Congenita** 10q25.2
- ◆ **Porfiria Aguda Intermitente (PAI)** 11q23.3
- ◆ **Porfiria Variegata** 1q22 e 6p21
- ◆ **Coproporfiria Hereditária** 3q12
- ◆ **Porfiria Deficiente em Acido
Deltaaminolevulinico Dehidratase** 9q34

As Porfirias são doenças gênicas



Genes

Summary of diagnosis patterns of overproduction of haem precursors in different porphyrias

Type of porphyria	Locus	Porphyrins
Plumboporphyria	Aminolaevulinic acid	Coproporphyrinogen III
Acute intermittent porphyria	11q23.3	Porphyrin mainly from porphobilinogen
Congenital erythropoietic porphyria	Not increased	Uroporphyrinogen I > coproporphyrinogen I
Porphyria cutanea tarda	Not increased	Uroporphyrinogen > heptacarboxylate
Hereditary coproporphyria	3q12	Coproporphyrinogen III (porphyrin mainly from porphobilinogen)
Variegate porphyria	1q22	Coproporphyrinogen III (porphyrin mainly from porphobilinogen)
Erythropoietic protoporphyria	Not increased	Not increased

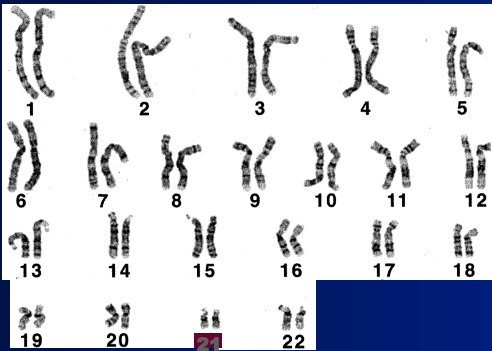
AS PORFIRIAS SÃO HEREDITÁRIAS

(menos 90% dos casos de Porfiria Cutanea Tardia)

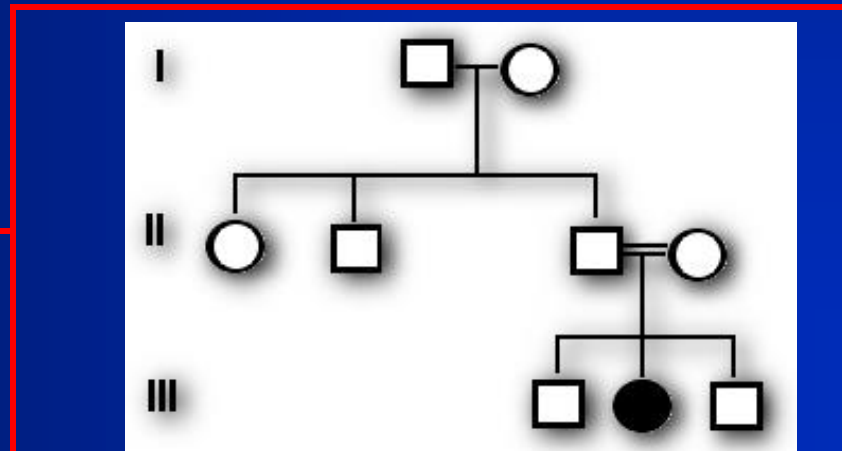
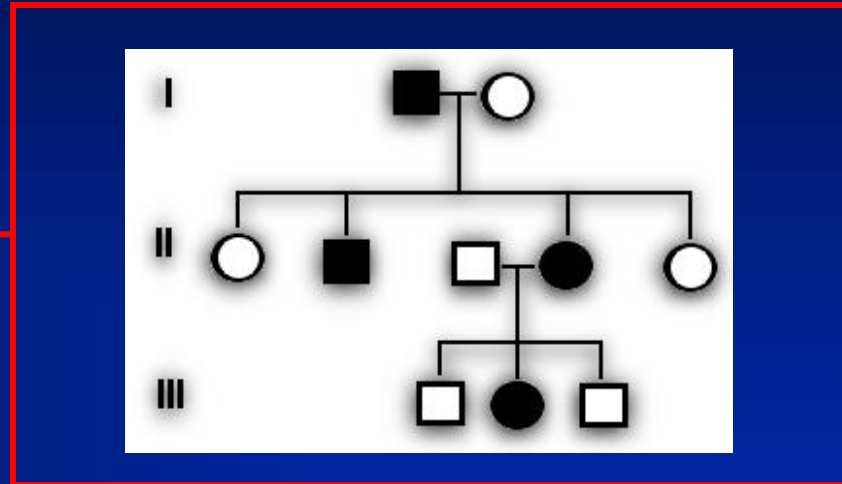
Os genes mutados estão nos cromossomos autossômicos

• Herança Autossômica

Dominante

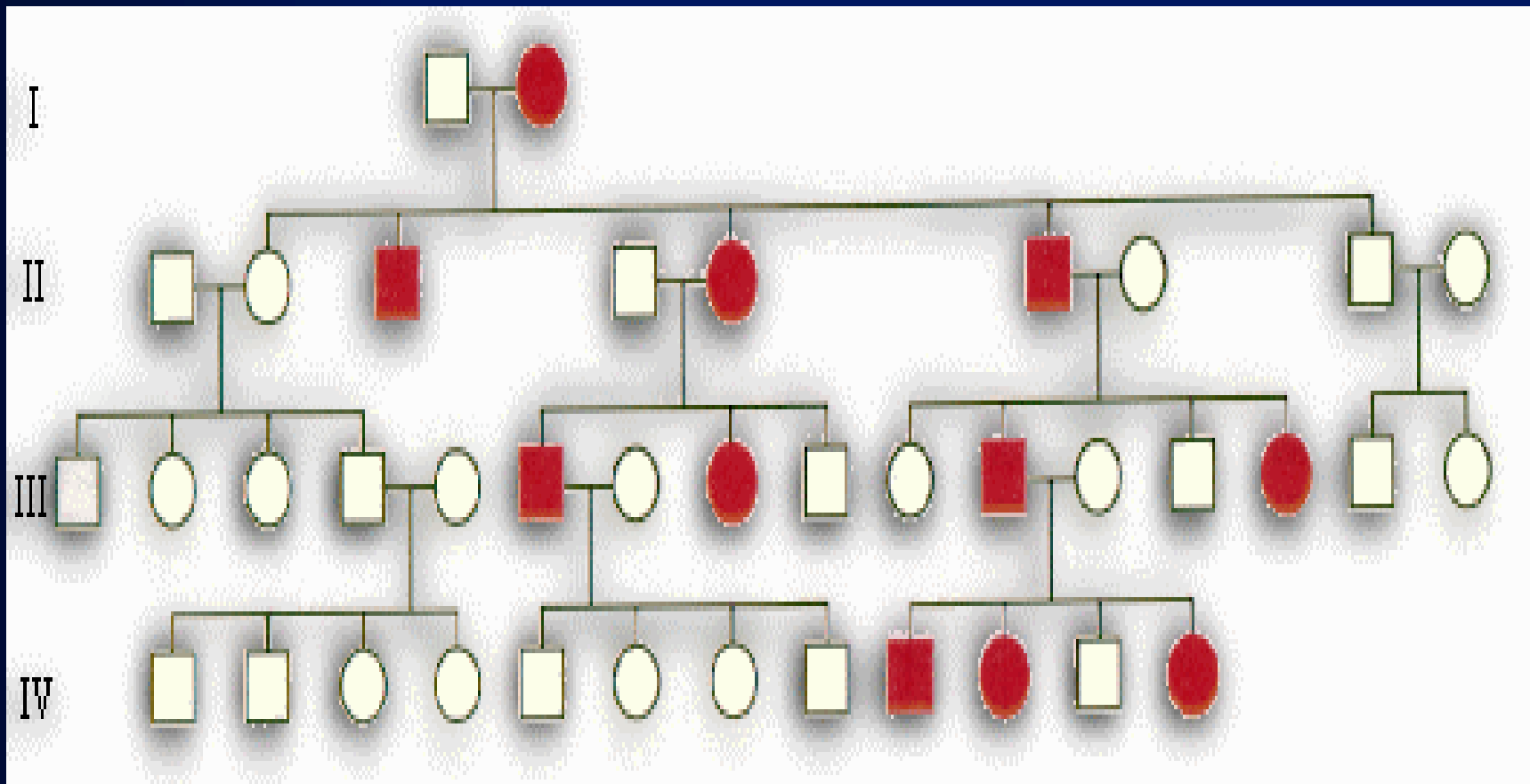


Recessiva



A herança de quase todas as Porfirias é Autossômica Dominante

(menos a Porfíria Eritropoiética Congênita e a Porfíria por Deficiência de Ácido Aminolevulinico-dehidratase)



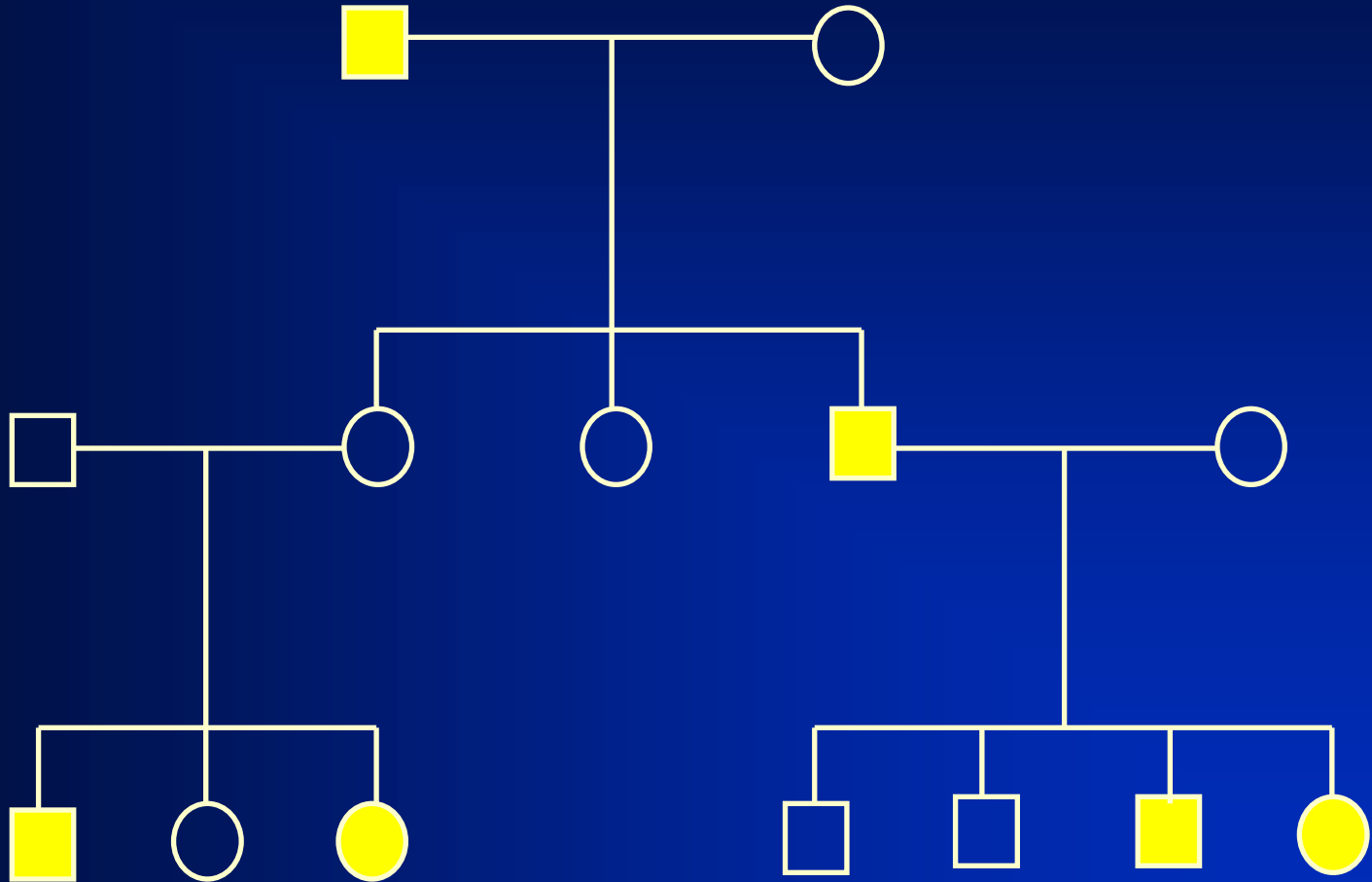
Critérios da Herança Autossômica Dominante

- O fenótipo aparece em todas as gerações, e toda pessoa afetada tem um genitor afetado.
- Qualquer filho de genitor afetado tem um risco de 50% de herdar o fenótipo.
- Familiares fenotipicamente normais não transmitem o fenótipo para seus filhos.
- Homens e Mulheres têm a mesma probabilidade de transmitir o fenótipo aos filhos de ambos os sexos.
- Somente **10-15%** das pessoas que produzem 50% da enzima vão desenvolver sinais clínicos de de Porfíria, mas mesmo que não desenvolvam, podem passar o gene mutado para a próxima geração.

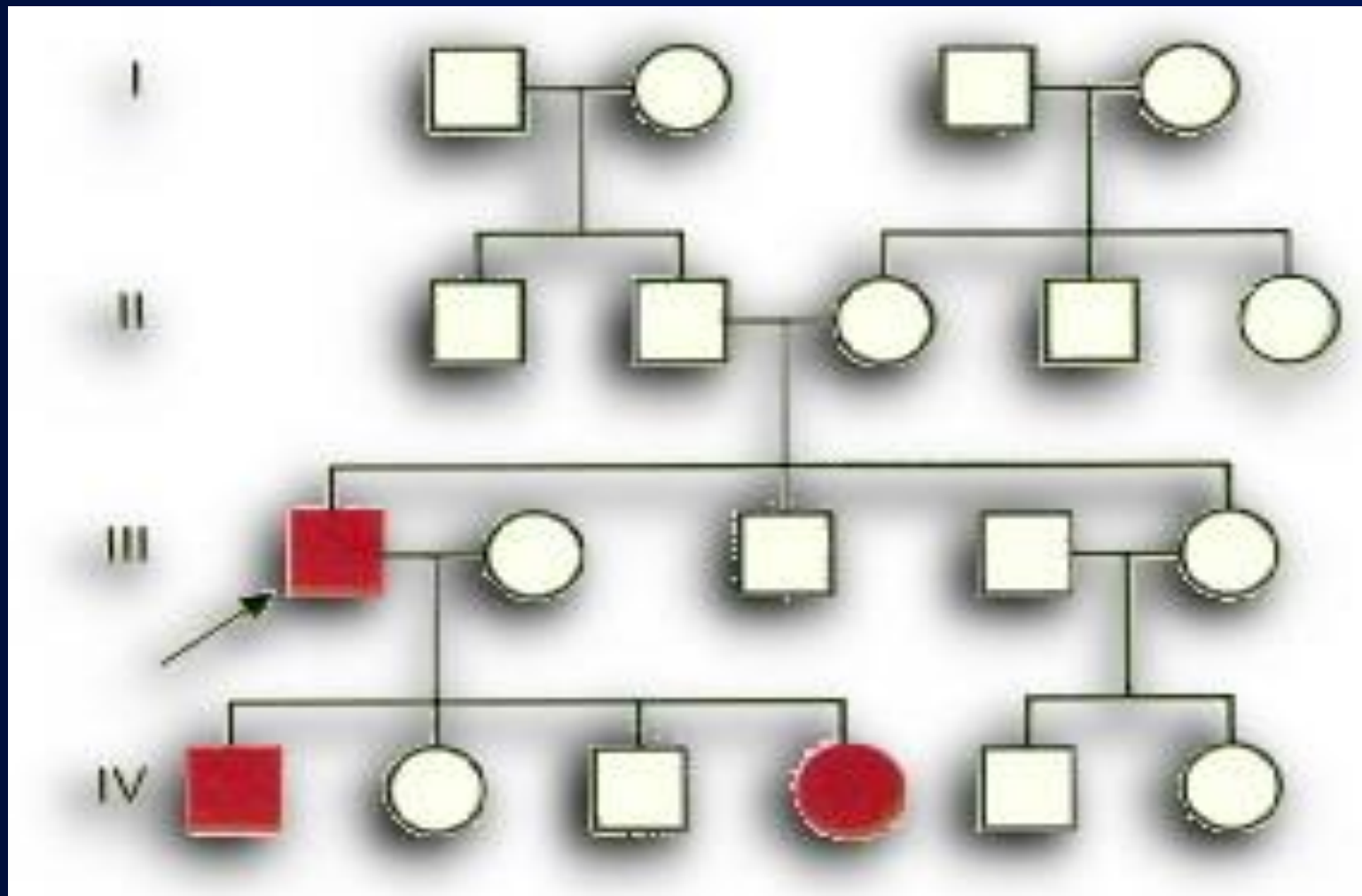
O que é Penetrância Reduzida?

- É a probabilidade de um gene ter qualquer expressão fenotípica. Quando alguns indivíduos que têm determinada mutação em determinado gene, porém não apresentam o fenótipo daquela doença, diz-se que o gene exibe penetrância reduzida. Em um fenômeno qualitativo, de tudo-ou-nada.

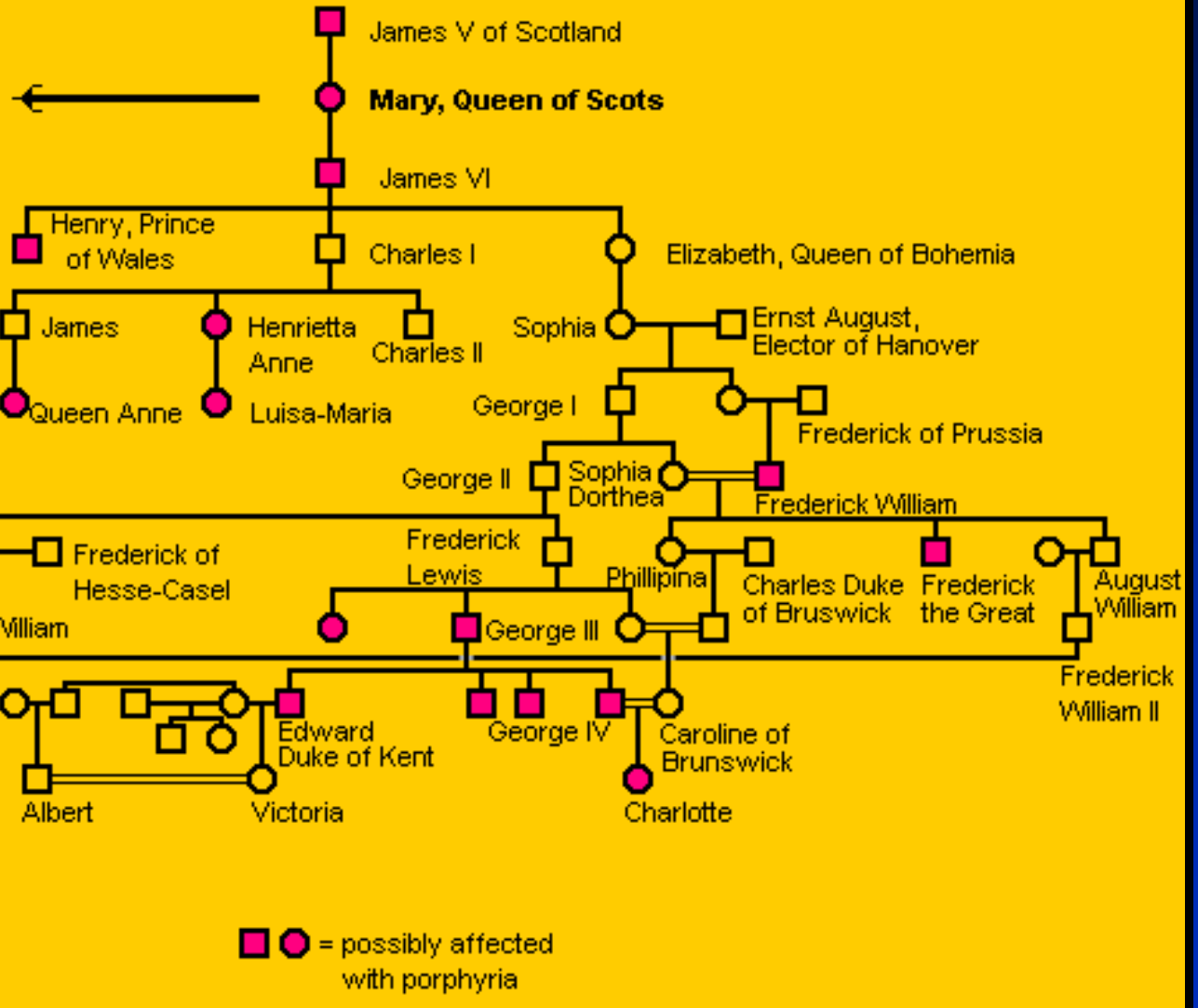
Exemplo de Herança Autossômica Dominante com Penetrância Reduzida



O que é uma “nova mutação”?



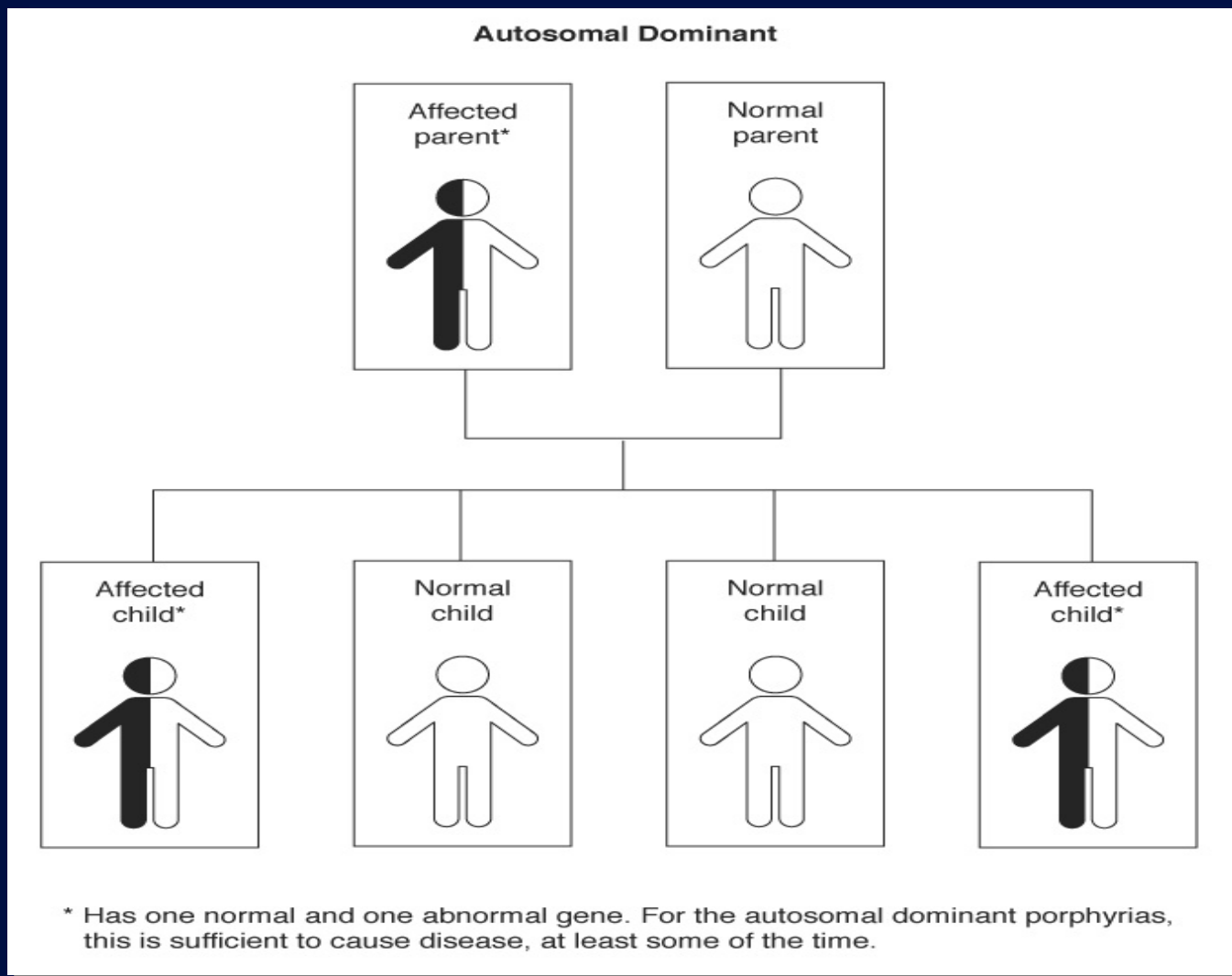
Heredograma Real de Porfiria



ACONSELHAMENTO GENÉTICO

***Processo de comunicação que
lida com os problemas
associados à ocorrência ou à
possibilidade de ocorrência de
um distúrbio genético em uma
família***

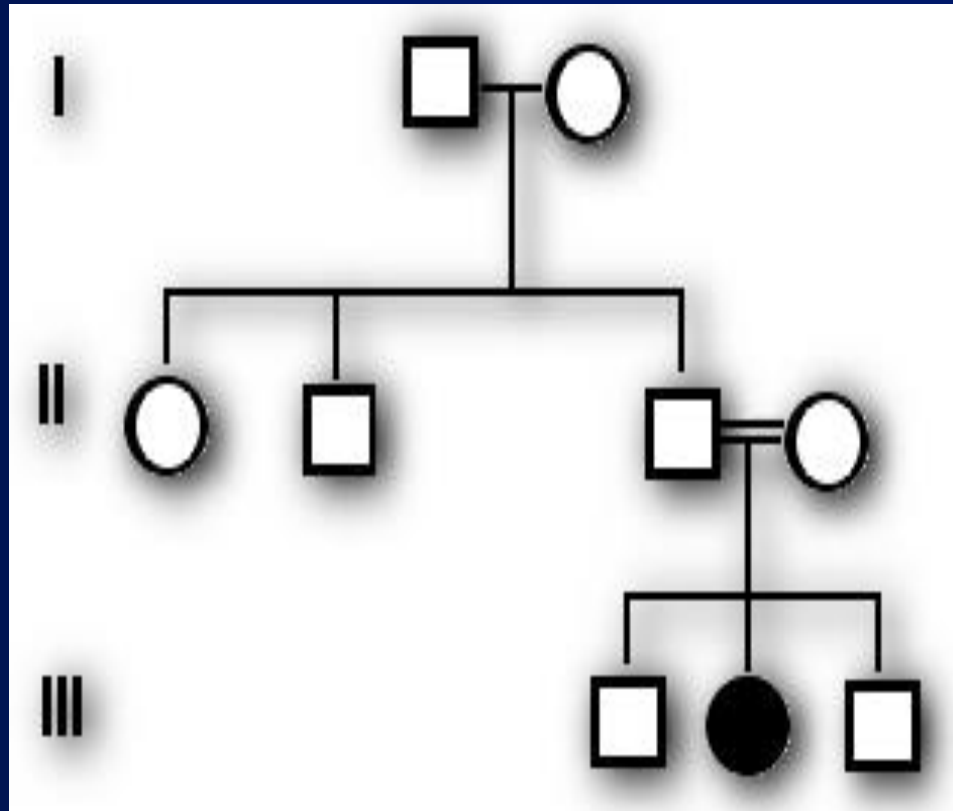
Aconselhamento Genético nas Porfirias de Herança Autossômica Dominante



Images obtained from:

http://ghr.nlm.nih.gov/ghr/info/disorders/section/inheritance_patterns;jsessionid=7A08D6DF63D5412499CE7EBF695D1CD8

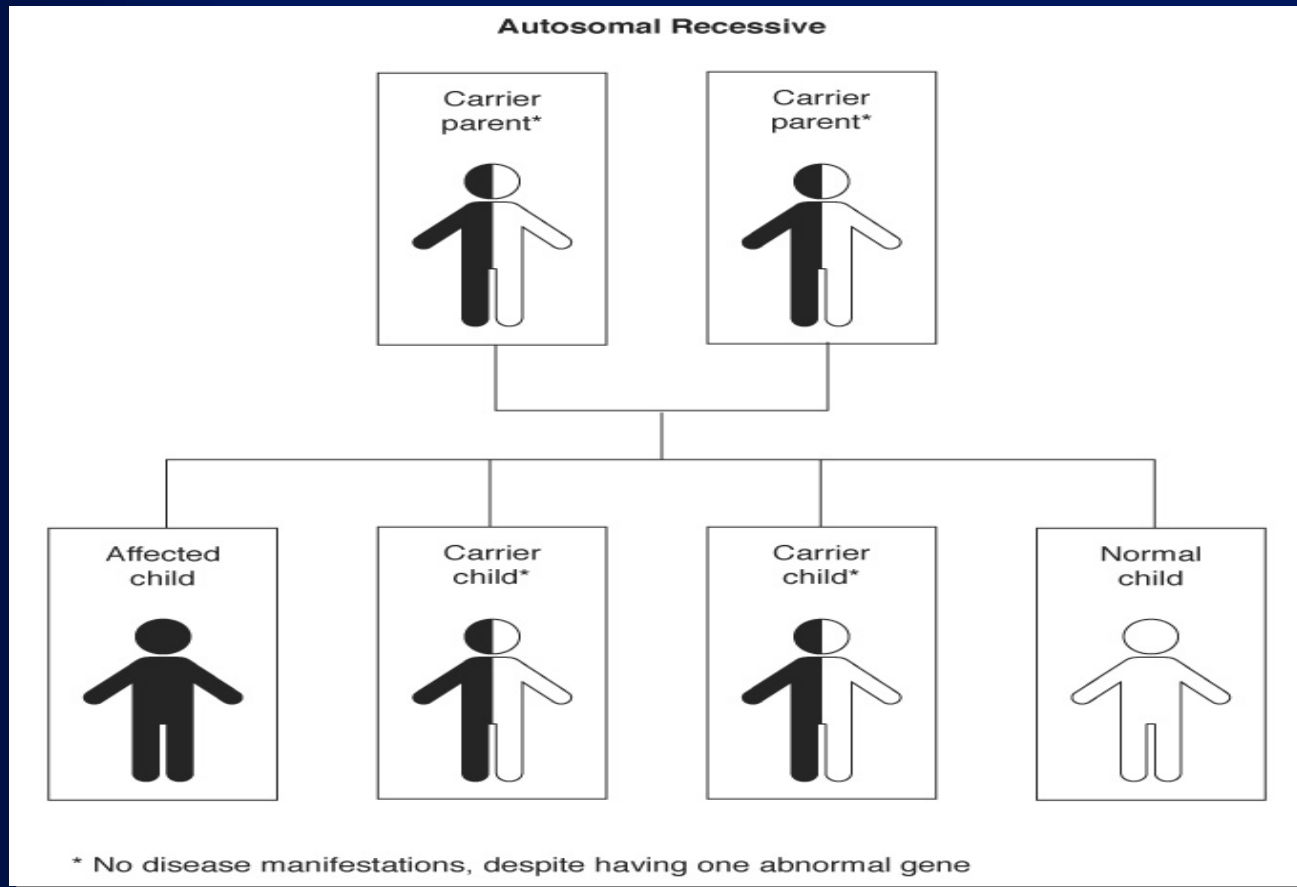
***Porfíria Eritropoiética Congênita e a
Porfíria por Deficiência de Ácido
Aminolevulinico-dehidratase tem herança
Autossômica Recessiva***



Critérios da Herança Autossômica Recessiva

- O fenótipo é encontrado tipicamente apenas na irmandade do probando e o fenótipo salta gerações.
- O risco de recorrência para cada irmão do probando é de 1 em 4.
- Os pais do indivíduo afetado em alguns casos são consangüíneos.
- Ambos os sexos têm a mesma probabilidade se serem afetados.

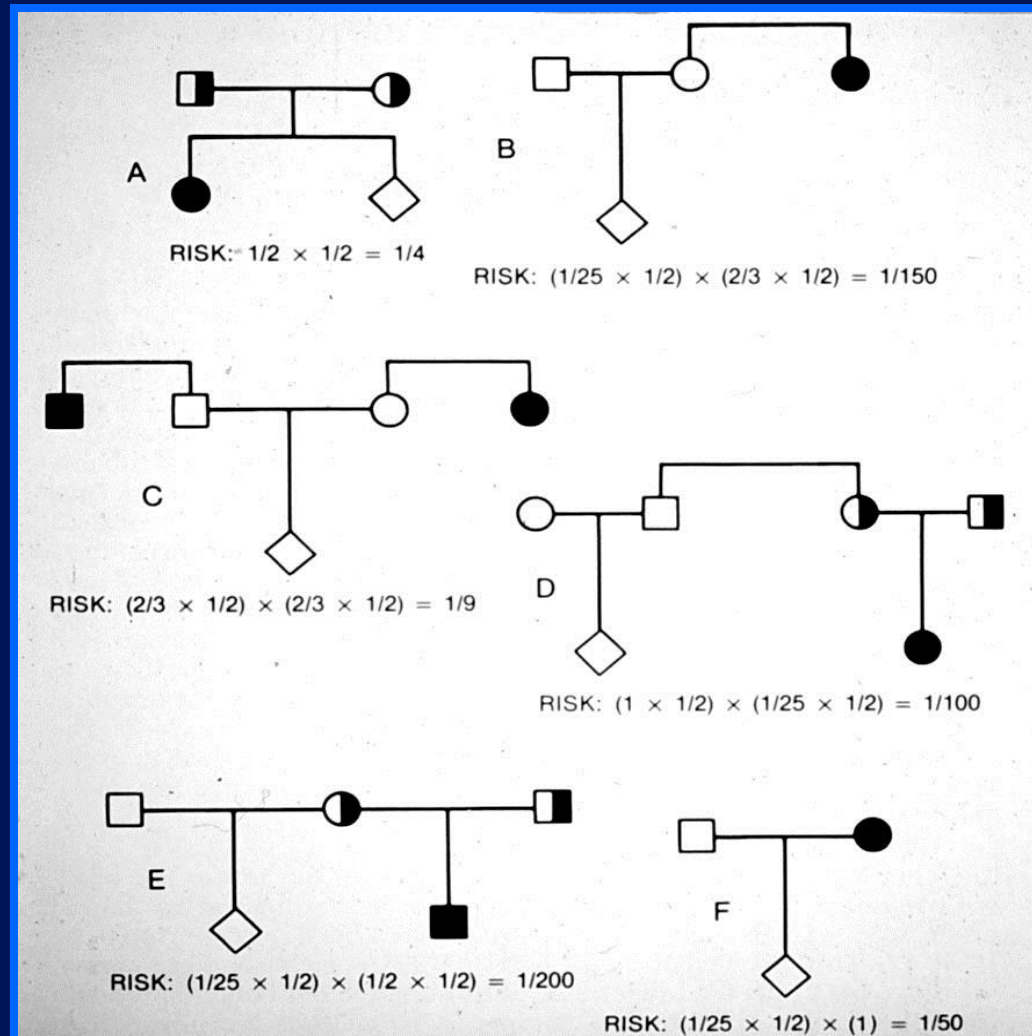
Aconselhamento Genético nas Porfirias de Herança Autossômica Recessiva



Images obtained from:

http://ghr.nlm.nih.gov/ghr/info/disorders/section/inheritance_patterns;jsessionid=7A08D6DF63D5412499CE7EBF695D1CD8

Risco de Recorrência das 2 Porfirias Autossômicas Recessivas



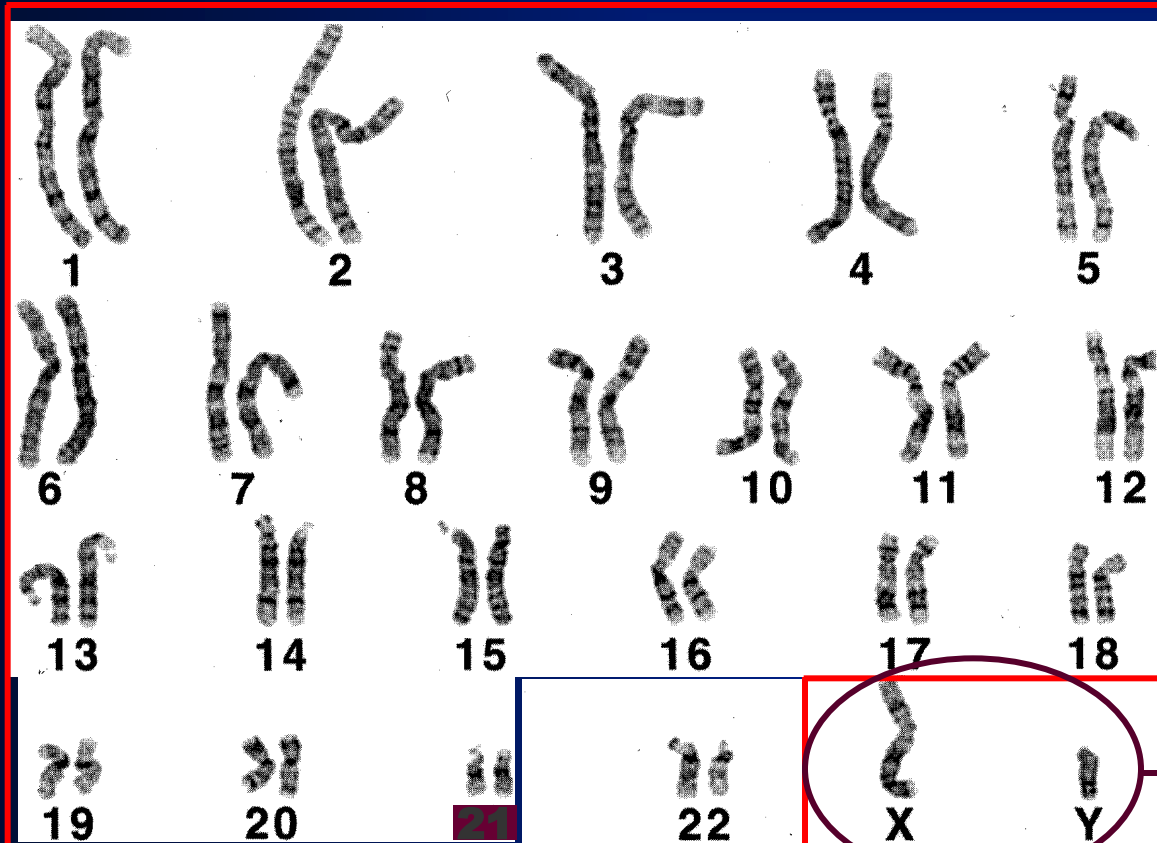
Conceitos Básicos

Distúrbios monogênicos

Padrões de Herança nas Populações Humanas

Herança Monogênica

É o tipo de herança determinada por um único gene



Autossômica

Ligada ao sexo

Conceitos Básicos

Distúrbios monogênicos

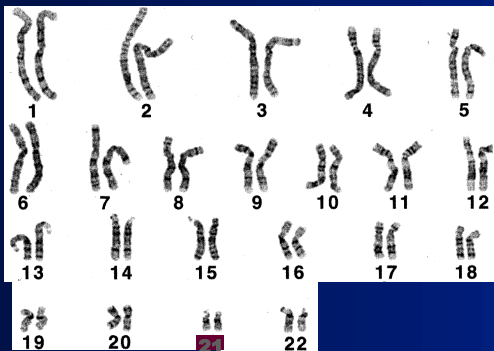
Padrões de Herança nas Populações Humanas

Herança Monogênica

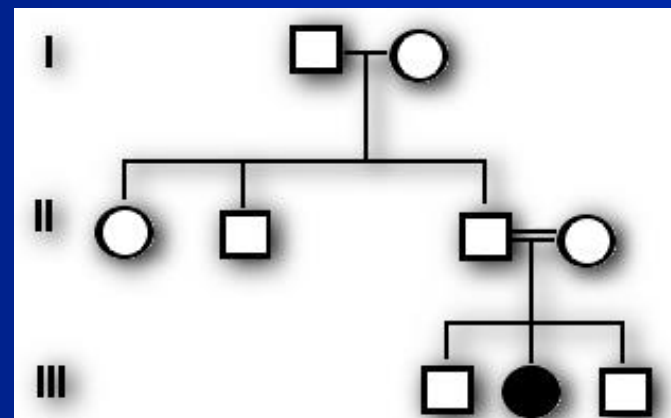
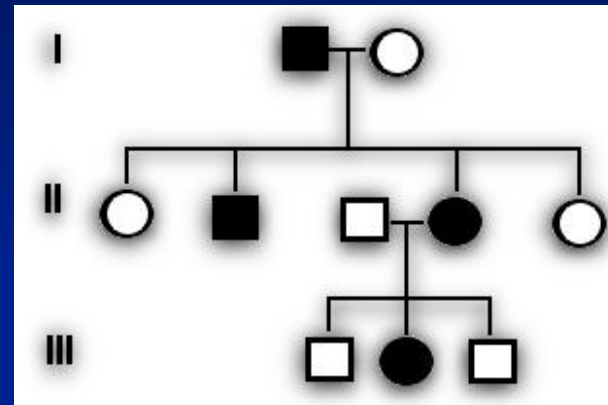
- Autossômica

- Ligada ao Sexo

Dominante



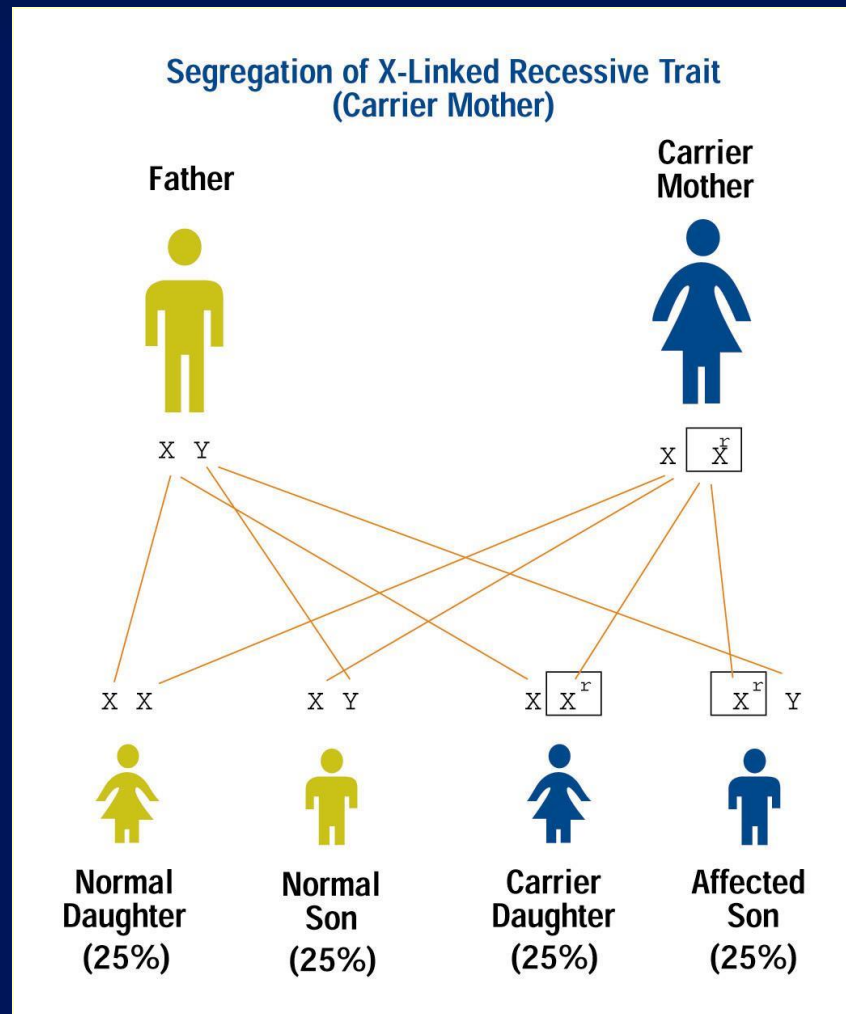
Recessiva



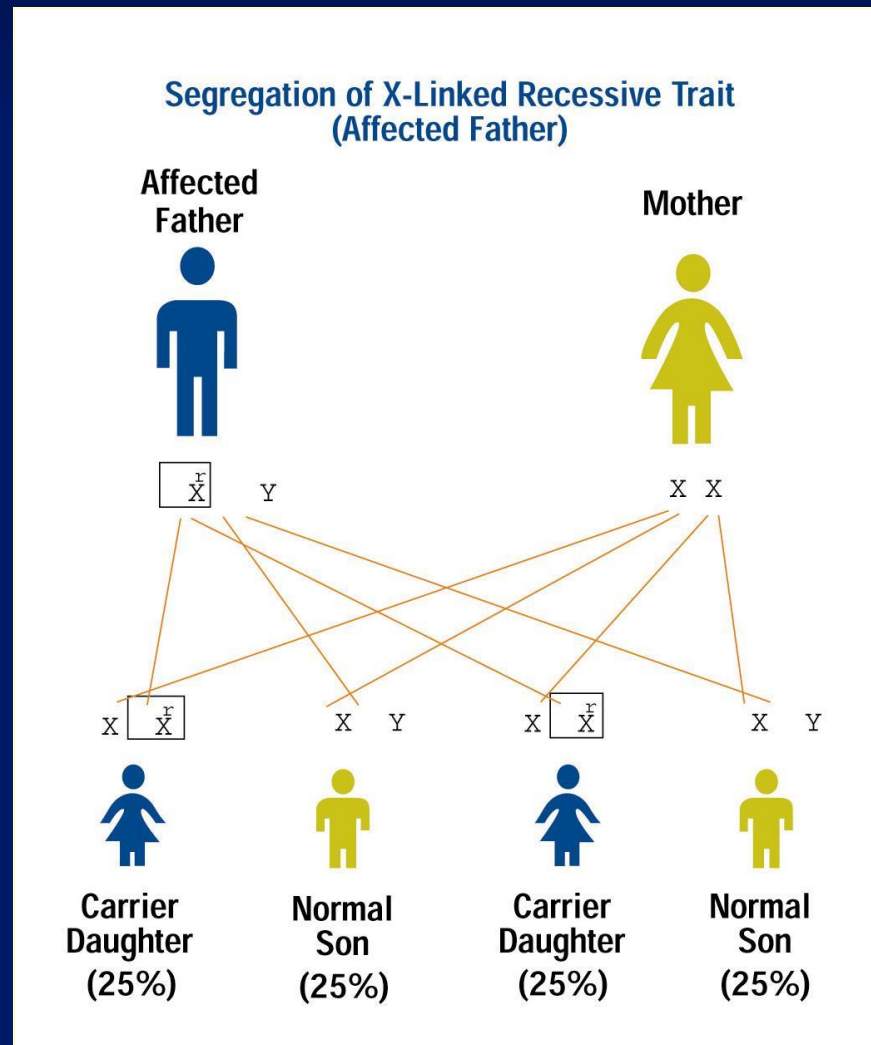
Recém identificada Protoporfiria Eritropoiética com padrão de herança ligada ao X

- **Protoporfiria Eritropoiética causada por mutações no gene ALA2 em Xp11.21**
- **Whatley e cols. C-terminal deletions in the ALAS2 gene lead to gain of function and cause X-linked dominant protoporphyria without anemia or iron overload. *Am. J. Hum. Genet.* 83: 408-414, 2008.**

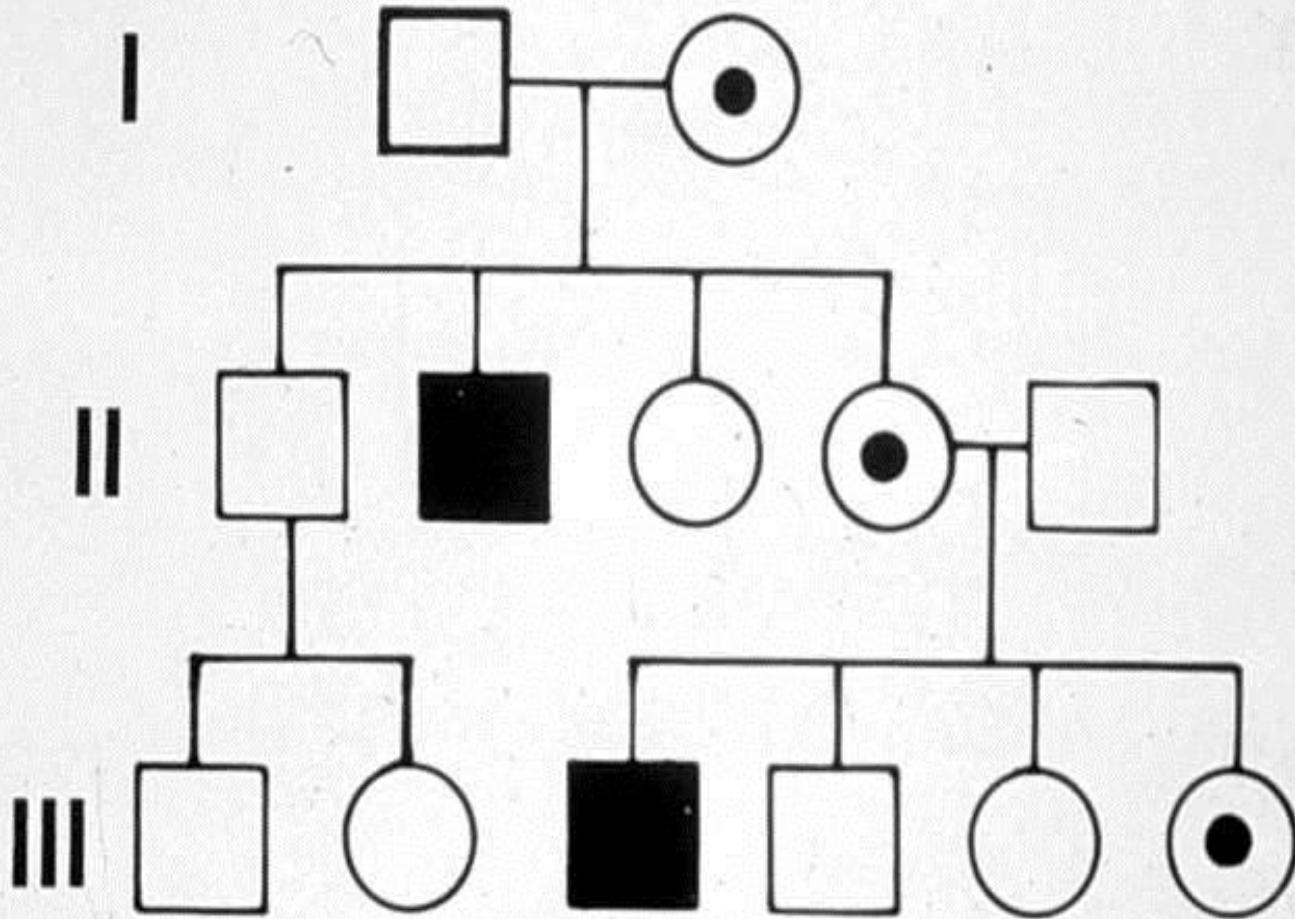
Aconselhamento Genético na Porfíria de Herança Ligada ao X

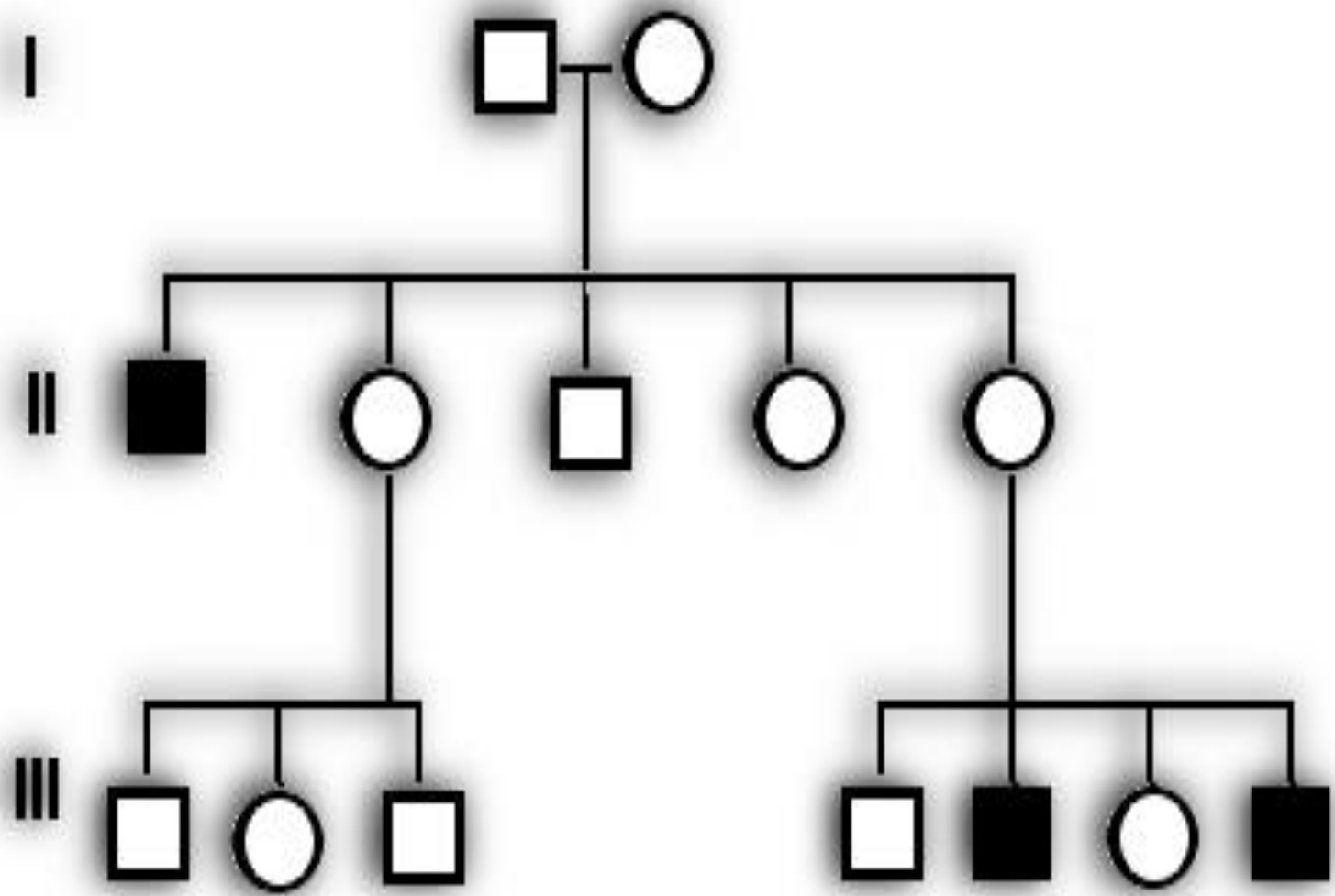


Aconselhamento Genético na Porfíria de Herança Ligada ao X



X-LINKED INHERITANCE





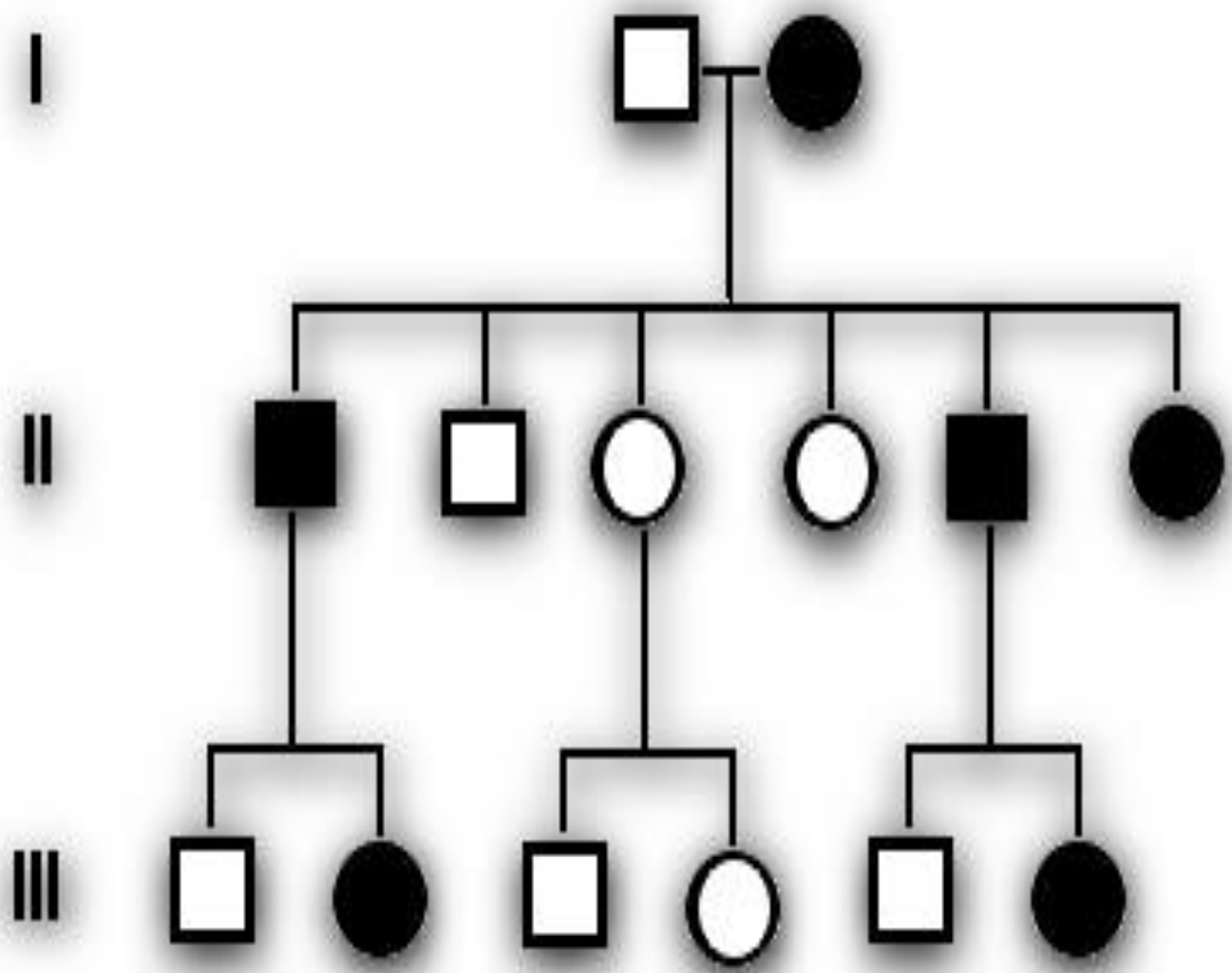
Critérios da Herança Recessiva Ligada ao X

- A incidência do fenótipo é muito mais alta em homens do que em mulheres.
- O gene responsável pela afecção é transmitido de um homem afetado para todas as suas filhas.
- O gene jamais se transmite diretamente do pai para o filho, mas sim de um homem afetado para todas as suas filhas.
- As mulheres heterozigóticas geralmente não são afetadas, mas algumas expressam a afecção com intensidade variável.

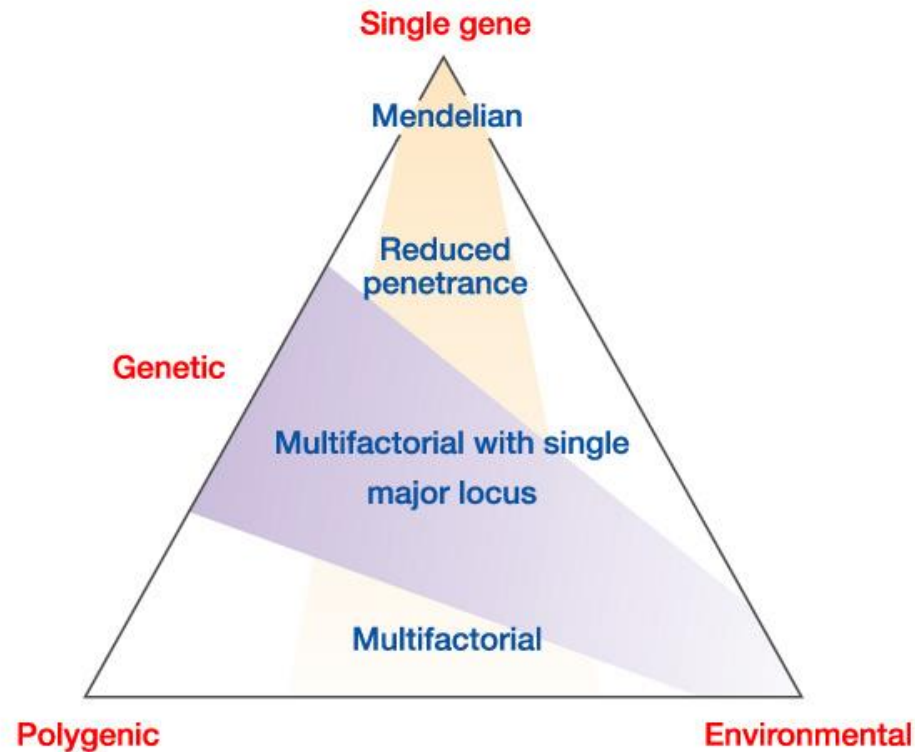
*Herança Dominante
Ligada ao X*

Critérios da Herança Dominante Ligada ao X

- Os homens afetados com companheiras normais não têm nenhum filho afetado e Nelma filha normal.
- Os filhos de ambos os sexos de portadores possuem um risco de 50% de herdar o fenótipo.



Seriam as Porfirias totalmente determinadas pela genética?



Seriam as Porfirias totalmente determinadas pela genética?

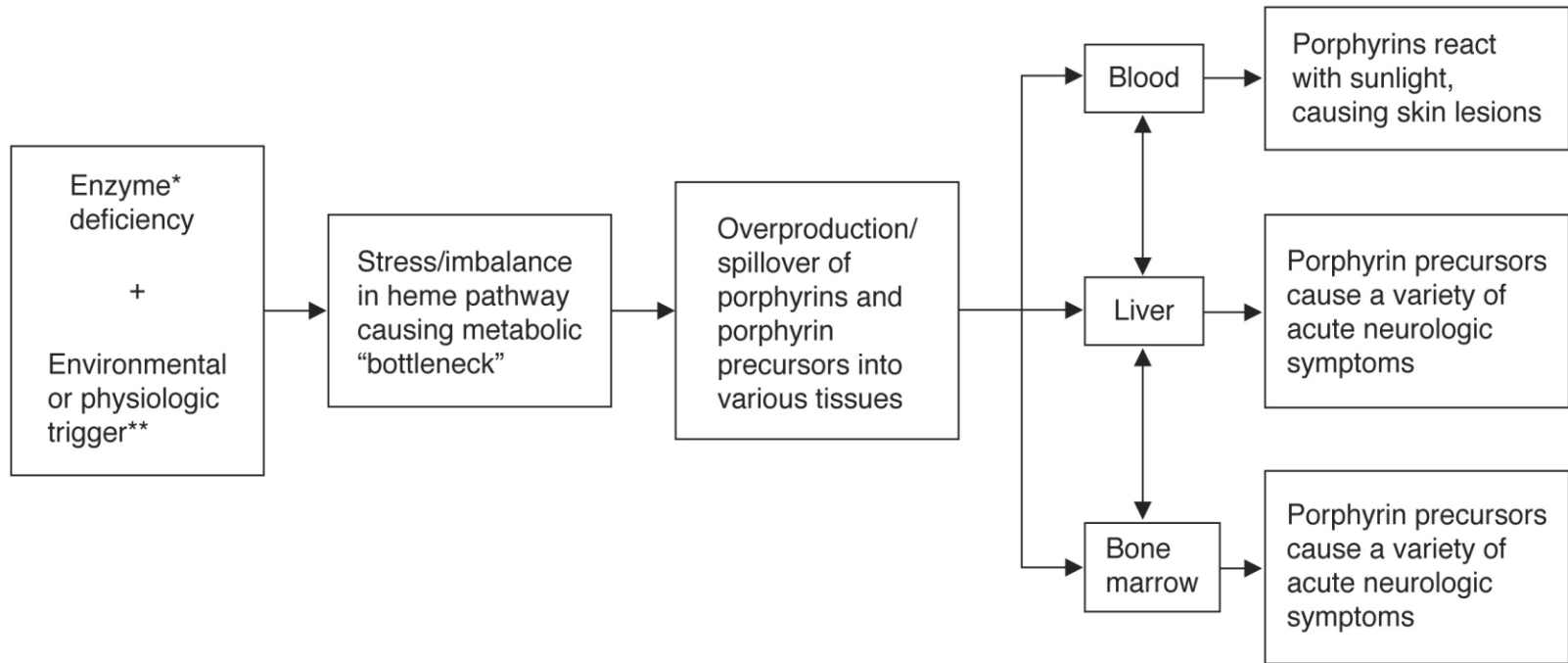
- **Deficiência enzimática + Outros fatores (drogas, dieta, etc.)= superprodução de intermediários do heme conhecidos como Porfirinas ou Precusores da Porfirina**
- **Em todas as formas herdadas de porfiria humana, os fatores ambientais e metabólicos têm importância vital na determinação da expressão clínica da anormalidade genética;**
- **O defeito enzimático é necessário, porém não suficiente, para que a doença se manifeste clinicamente, já que a produção fisiológica de heme não se altera se não houver uma demanda maior, como na presença de fatores que induzam o Citocromo P450.**

Fatores Precipitantes

Table 1-2: Potential precipitating factors for acute porphyria

Factor	Comment
Numerous classes of drugs	Most notably barbiturates, sulfonamide antibiotics, many anti-convulsant drugs, and antihistamines. See Table 2-1 and www.porphyrifoundation.com for a more complete listing. Note that the status of newer drugs may not be established and that there is no universally accepted list of safe, unsafe, or potentially unsafe drugs in porphyria. ²
Endogenous hormone levels	Some women are vulnerable to acute attacks during luteal phase of their menstrual cycle and/or during pregnancy because of normal changes in hormone levels.
Drop in caloric or carbohydrate intake	Patients with porphyria must keep to a balanced diet and should avoid crash dieting and fasting.
Illicit drugs	Marijuana, ecstasy, cocaine, and amphetamines can all trigger acute porphyria in some patients.
Smoking	Smoking causes exposure to certain chemicals that induce heme-containing enzymes and thus may stimulate heme synthesis. ²
Alcohol use	Ethanol can induce ALA synthase, the first enzyme in the heme biosynthetic pathway.
Stress, infection	Can result in metabolic stress, impaired nutrition.

Fisiopatologia da PORFIRIA



* Any of seven enzymes involved in the biosynthesis of heme

** Could be a particular medication, drop in nutritional intake, iron supplements, alcohol use, normal hormonal increase during menstrual cycle, etc.

Diagnóstico das Porfirias pelo Teste de DNA

- **Diagnóstico clínico é difícil;**
- **A análise de mutação já é feita há 19 anos, é agora é considerada o “Padrão Ouro” para o diagnóstico dos subtipos de Porfíria**
- **Permite também que qualquer membro da família do afetado saiba se herdou o gene mutado ou não**

DIAGNÓSTICO PRECISO

Exames são capazes de detectar mais de mil doenças do feto

Amniocentese

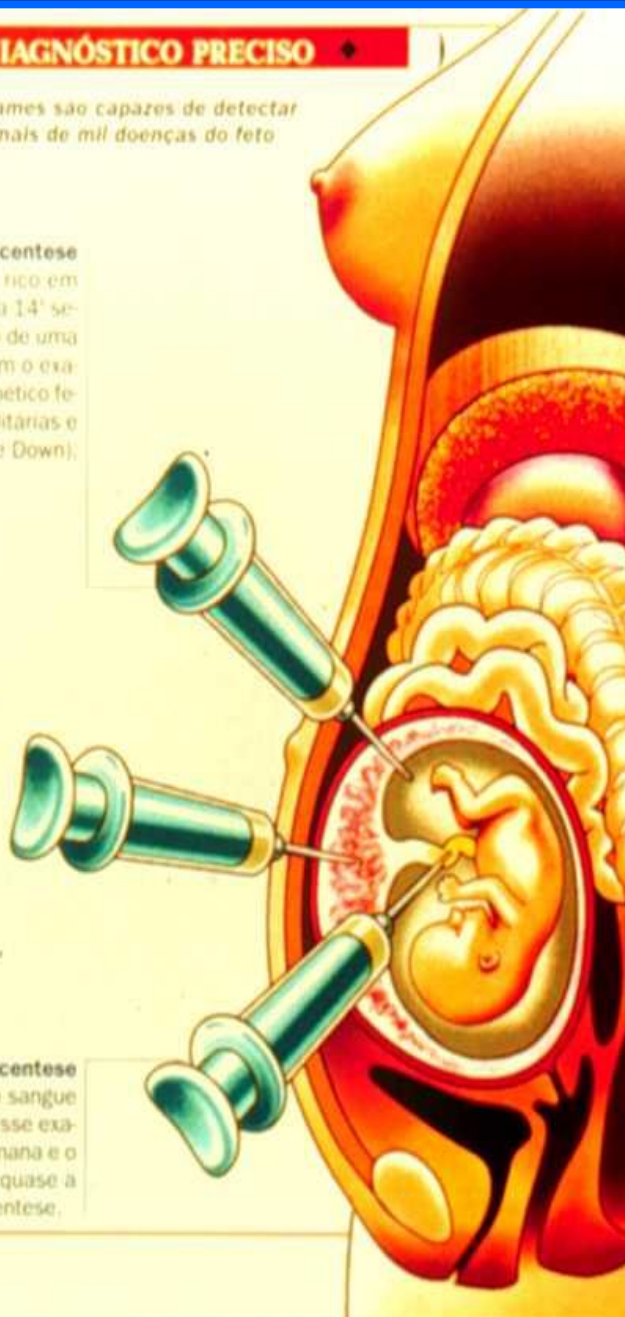
Coleta do líquido amniótico, rico em células fetais. Feito a partir da 14ª semana por meio da introdução de uma agulha no ventre da mãe. Com o exame, faz-se o mapeamento genético fetal, que revela doenças hereditárias e cromossômicas (síndrome de Down). Risco de aborto: 0,5%.

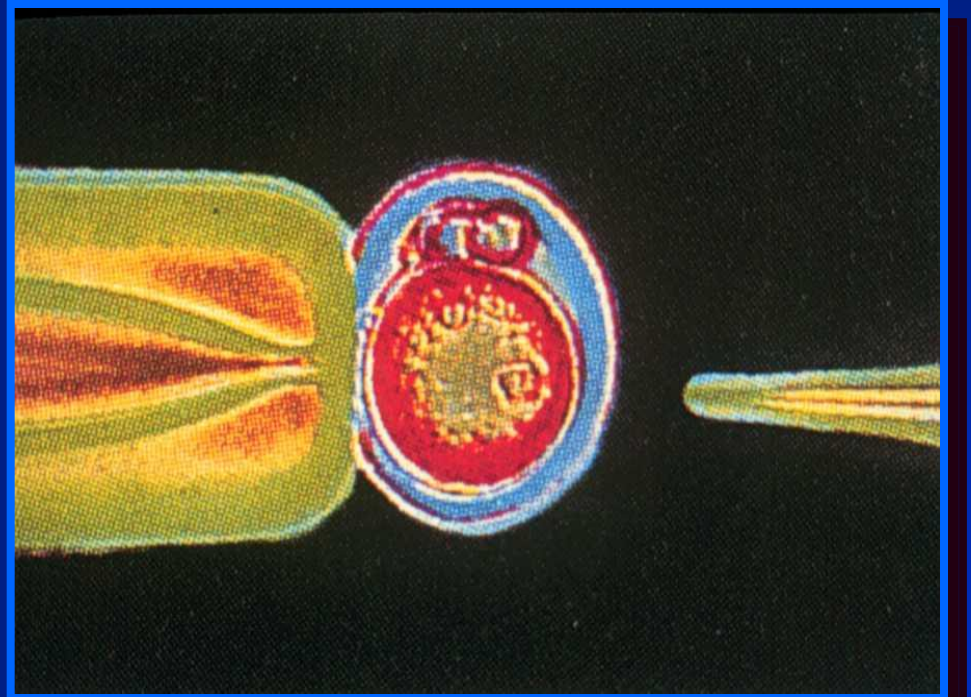
Biópsia de vilos coriônicas

Com a ajuda de um aparelho de ultra-som, coleta-se um fragmento da placenta para análise genética fetal. Pode ser feito após a 11ª semana introduzindo-se uma agulha na barriga ou um cateter na vagina da mãe. O perigo de perda do feto chega a 2%.

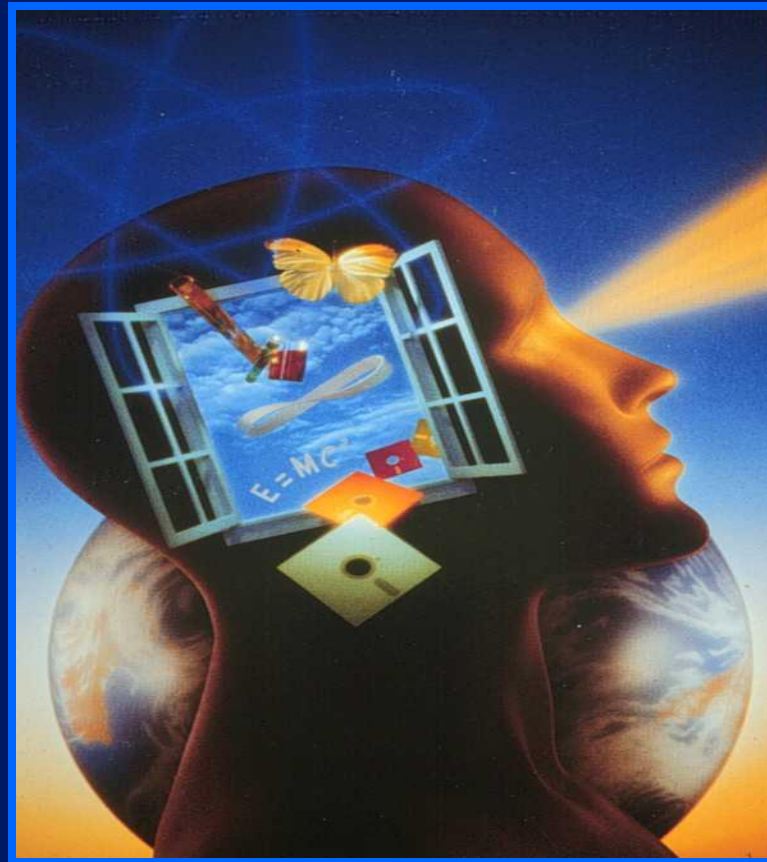
Cordocentese

Através de punção, é retirado sangue da veia do cordão umbilical. Esse exame é realizado após a 20ª semana e o risco de aborto é de 1%. Faz quase a mesma avaliação da amniocentese.

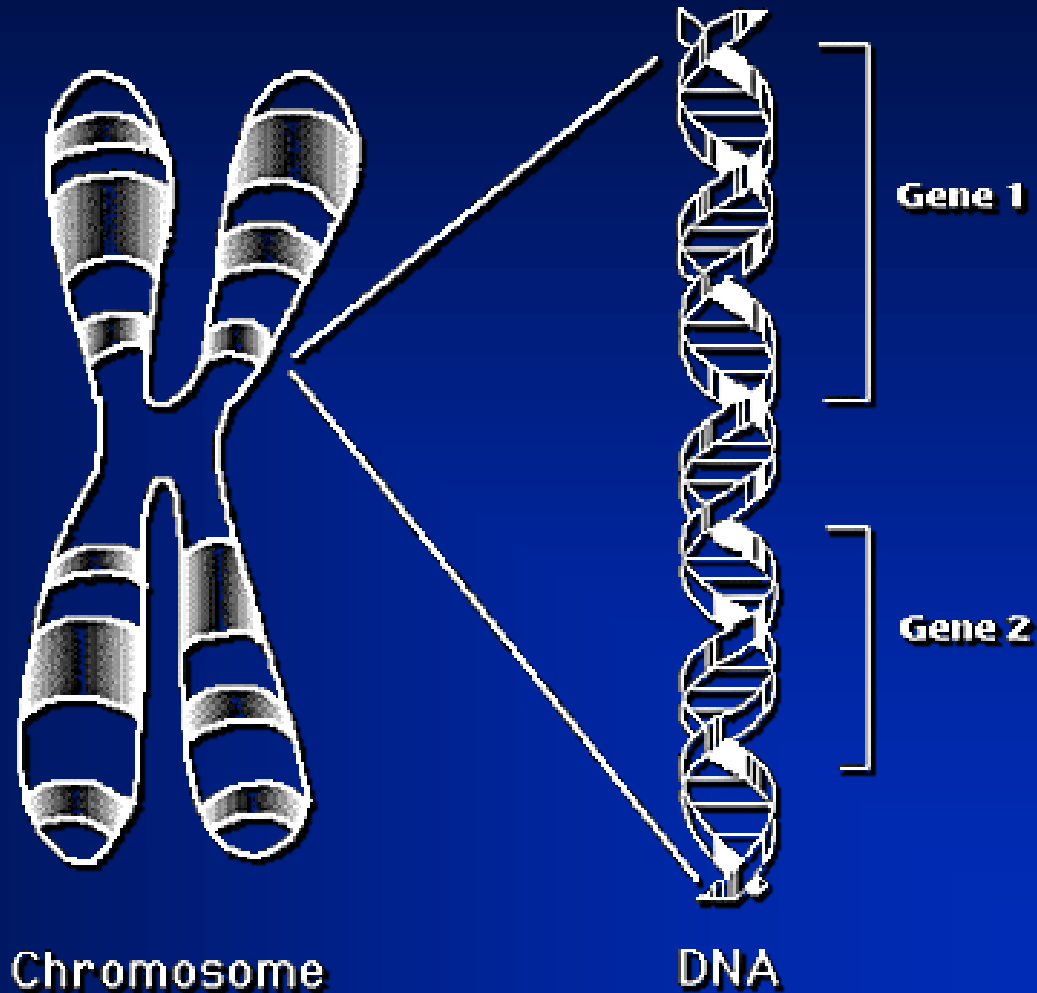
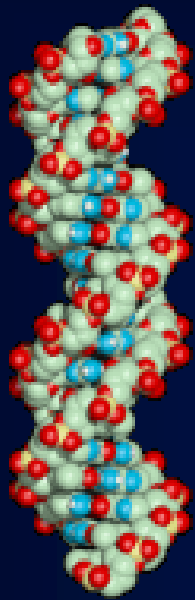




A Genética como esperança para tratamento e cura das Porfirias



As Porfirias são doenças gênicas



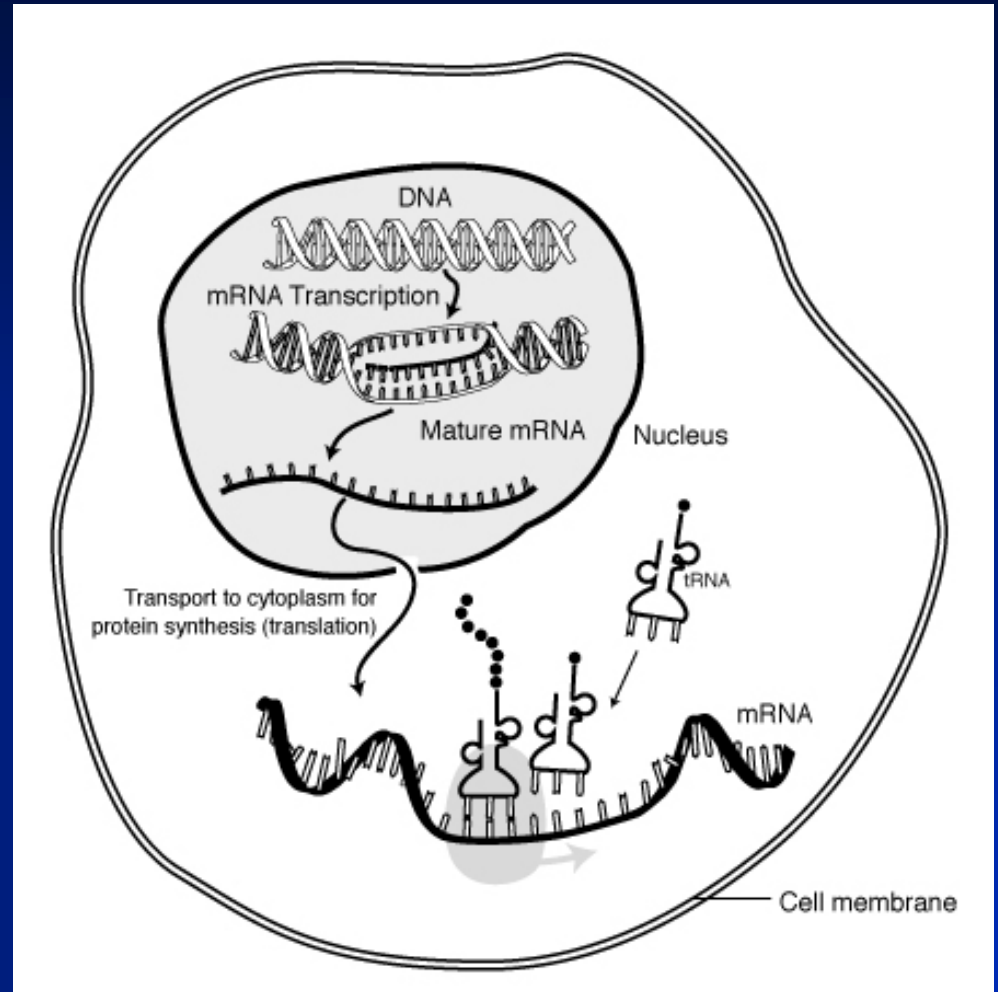
Genes

DNA

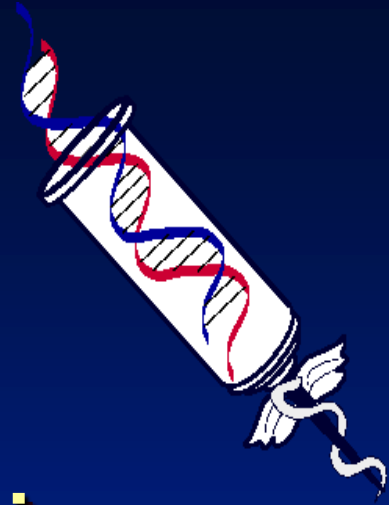
RNA

Proteína

Função celular

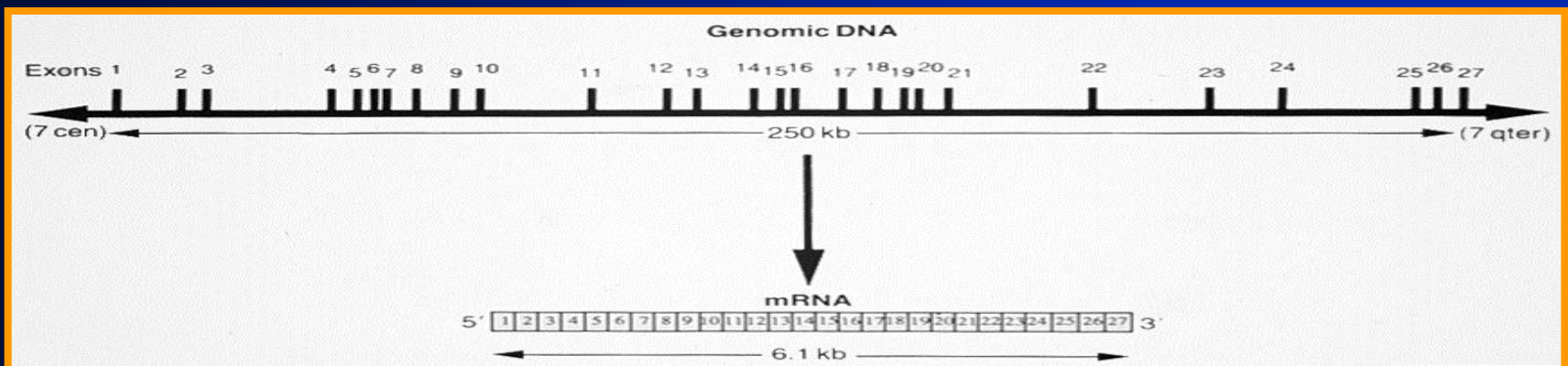


Terapia Gênica

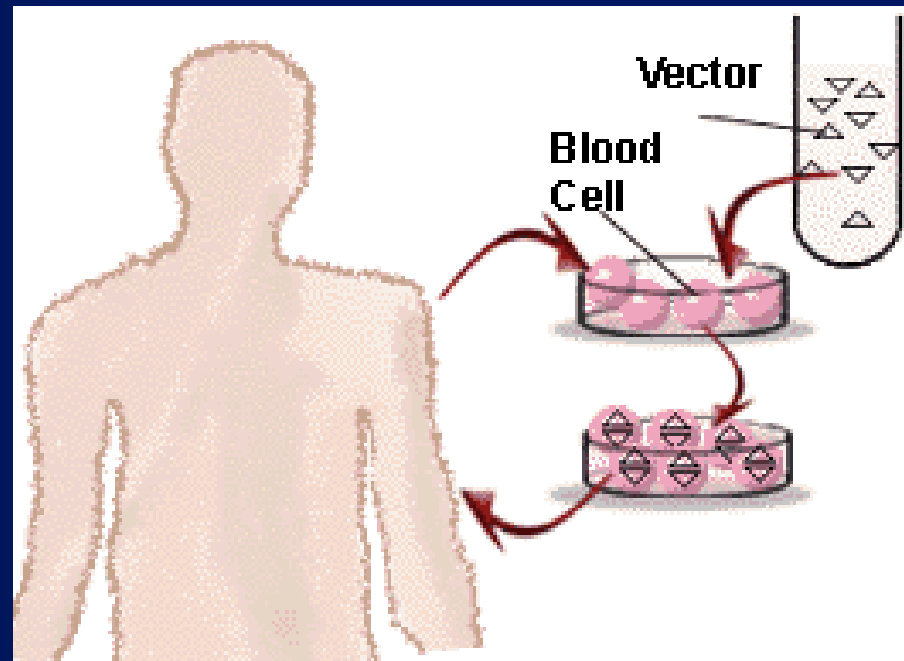


➤ O que é?

- ◆ Método para tentar colocar cópias normais do DNA de um gene em uma célula-alvo

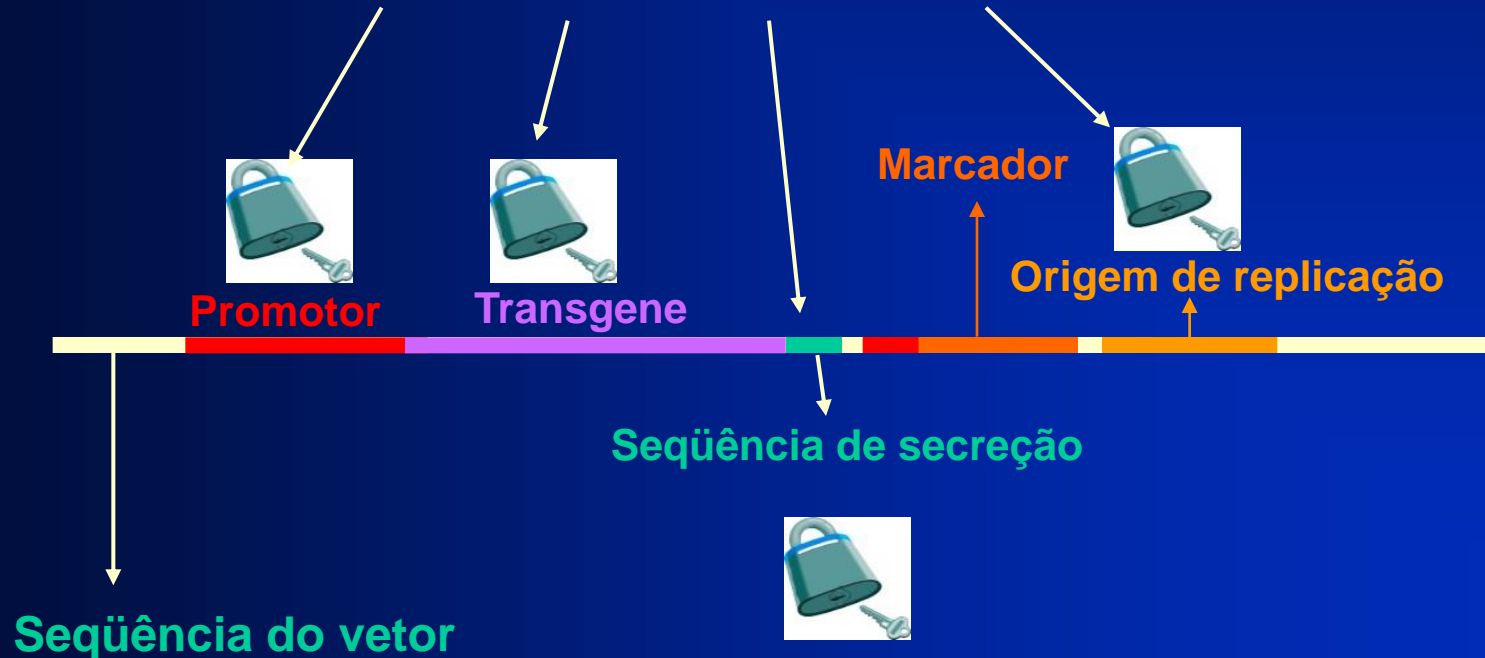


Ex vivo



Engenharia Genética

```
AACNAAGCTCTAATACGACTCACTATAGGAAAAGCTGGTAGCCCTGCAGGTACCGGTCCGG  
AATTCCC GGTCGACCCACGCGTCCGAGCGCAATGTACAATCCTCTGACCTAAATCCGGC  
GCCGGGACAAAGTTCTCCGGCCATTCCAAAACGGCATCAGCTTGTAACATAAGTAATCGCTT  
CCGCATCCGTCATTATATCGATCTGGATTAAACTTCTCTGGCTCCTCCAAAATCTCTGGATC  
TCTATGTATAGCCCAAGCGTTAACCATCACTATCGTATCTCGCGGGACGTCGTAACCTCCG  
AATTTTCATGTCGTCCGTCG GTGATCGAGG GATTAGAAAACGGCGCCACCGGAAATAGCCGGA  
ATGTTTCGGAGACGACGTTTTGAGGTAAGGAAGCACTGCGATGTCTGATTCTGCGATTAG  
TCGATCTTTTCCGATCTTCTCATCGATCTCCGATCTCGCCTTCTCCAGTACTTCTGGATTTC  
TCAGTAGATTCCGCATCGCCACTCTAATGTCA CAGCGGAGGTCTCAGTTCGGCCGAGCAT  
CATCGACTTCACAATTTCAAAAACAATCAGATAAGAGCGGTTCTAGCTCGATGTGAGTGAA  
ATCGTTGCTTTCGTTG GAGGTTTG TGTGTAACGTGAGAGGCGTGTGAGCATCCGTAAGATC  
TCGTCTTTGCGGATGTGTTGGAAGTTGATGAGACGGTGAGAGGAGAGAATCTCTTTGGGAG  
CAAATGCCGCGGGAGGTTACGCCAGTGGTCGCCCGTAAGGAGCTGTACCAACG GTTGTGN  
GGGTTGTATGC GACGTATTG GCGGTGAGTTGGAGCGGCCGGCTGGAGAGAACGATGTCG  
TTTTGGCCGGTGAAGGC
```



Engenharia Genética + Embriologia



*Desenvolvimento de Animais
Transgênicos*

Animais Transgênicos

➤ São animais cujo genoma é artificialmente manipulados pela inserção, modificação ou inativação de genes

➤ O gene de interesse exógeno inserido deve estar presente nas células germinativas do animal fundador de modo que a modificação genética seja transmitidas aos seus descendentes

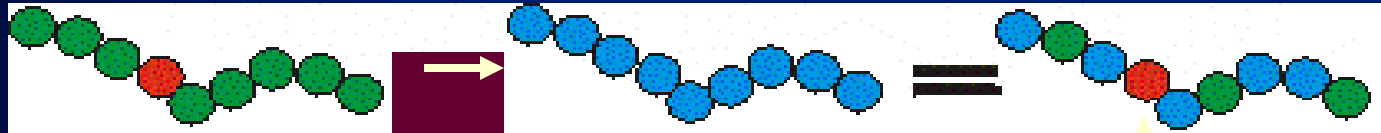
Metodologia Animais Transgênicos

✓ **microinjeção de DNA**

✓ **transferência gênica mediada por células troncos embrionárias**

✓ **transferência gênica mediada por retrovírus**

DNA receptor



Gene desejado

Gene desejado

Camundongo MRL/lpr IFN- γ ^{-/-}



- Atraso da enfermidade
- Atraso na glomerulonefrite
- Câmbio de IgG2a para IgG1
- Reduzida linfadenopatia
- Baixos níveis de MHC-I e II
- Baixos níveis de MHC-II nos túbulos proximais dos rins

(Balomenos *et al.*, 1998)

Camundongo Tg GH



- Estuda-se interferência do hormônio do crescimento nos diferentes sistemas do organismo*

**MUITOS VÊM APENAS UM
RATO...**



**NÓS VEMOS A CURA DE MUITAS
DOENÇAS !!!**

