

PATOLOGIAS METABÓLICAS E A MEDICINA DE PRECISÃO: UMA ABORDAGEM INTEGRADA

Data de aceite: 03/04/2023

Benedito Rodrigues da Silva Neto

Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás
Goiânia – GO
<http://lattes.cnpq.br/5082780010357040>

RESUMO: Os erros inatos do metabolismo representam um grupo de cerca de 500 doenças genéticas raras com uma incidência global estimada de 1/800-2500. A diversidade de vias metabólicas envolvidas explica as dificuldades em estabelecer seu diagnóstico. A Medicina de Precisão é uma abordagem emergente para tratamento e prevenção de doenças que leva em conta a variabilidade individual em genes, ambiente e estilo de vida. A investigação diagnóstica padrão dos erros inatos do metabolismo ocorrem primeiramente pela suspeita clínica da doença; detecção de biomarcadores presentes em amostras biológicas e a medição direta da atividade enzimática em estruturas celulares. Novas estratégias são necessárias para um diagnóstico mais efetivo das patologias metabólicas. Uma parte da resposta pode ser encontrada no novo campo da Medicina de Precisão que engloba o uso de ferramentas

avançadas de diagnóstico, como análises genômicas por meio do sequenciamento do exoma ou genoma; outras ômicas, como metabolômica e proteômica; informações de saúde pessoais e populacionais e análise de dados através do *big data*. Através de uma revisão bibliográfica integrada da literatura o presente estudo tem por objetivo descrever os avanços no diagnóstico de erros inatos do metabolismo.

PALAVRAS-CHAVE: Patologias metabólicas. Medicina de precisão. Erros inatos do metabolismo. Diagnóstico.

ABSTRACT: Inborn errors of metabolism represent a group of about 500 rare genetic diseases with an estimated global incidence of 1/800-2500. The diversity of metabolic pathways involved explains the difficulties in establishing its diagnosis. Precision Medicine is an emerging approach to disease treatment and prevention that takes into account individual variability in genes, environment and lifestyle. The standard diagnostic investigation of inborn errors of metabolism occurs primarily due to clinical suspicion of the disease; detection of biomarkers present in biological samples and the direct measurement of enzymatic activity in cellular structures. New strategies

are needed for a more effective diagnosis of metabolic pathologies. Part of the answer can be found in the new field of Precision Medicine, which encompasses the use of advanced diagnostic tools, such as genomic analysis through exome or genome sequencing; other omics, such as metabolomics and proteomics; personal and population health information and data analysis through big data. Through an integrated literature review, this study aims to describe advances in the diagnosis of inborn errors of metabolism.

KEYWORDS: Metabolic pathologies. Precision medicine. Inborn errors of metabolism. Diagnosis.

INTRODUÇÃO

Desde o ano de 2015 o termo Medicina de Precisão (MP) passou a ser amplamente utilizado a partir de um programa nos Estados Unidos denominado Iniciativa de Medicina de Precisão (IMP)¹. Trata-se de um esforço de pesquisa financiado pelos Institutos Nacionais de Saúde (INS) com o objetivo de entender como a variabilidade individual em genes, as exposições ambientais e o estilo de vida podem determinar a melhor abordagem para prevenir ou tratar doenças².

Sabe-se que através de uma identificação das características genéticas do paciente será, em um futuro próximo, possível oferecer o medicamento preciso, na dose certa e no momento exato, tornando assim, a medicina mais eficiente e diminuindo os custos de assistência médica. Essa abordagem permite que médicos e pesquisadores estabeleçam com maior precisão quais estratégias de tratamento e prevenção funcionarão para uma determinada doença e um determinado grupo de pessoas³.

Isso contrasta com a atuação médica tradicional, a qual se caracteriza pelo enfoque no tratamento da doença somente após o aparecimento dos sintomas, com métodos de diagnóstico, prevenção e tratamento baseados em médias populacionais, também denominadas modelo único, sem levar em conta as diferenças entre os indivíduos⁴.

A ciência passou por um grande avanço em relação às pesquisas, após a conclusão do Projeto Genoma Humano principalmente na área da biologia molecular, o que possibilitou o sequenciamento completo do genoma humano. Entretanto, apenas o conhecimento do mapeamento genético e sua identificação dos genes (genômica estrutural) não eram suficientes para desvendar, de maneira definitiva, as causas das doenças e suas formas de prevenção⁵.

A Era Pós Genômica se iniciou há duas décadas e, a partir de então, o sequenciamento genômico expandiu consideravelmente. Com o lançamento do sequenciamento de nova geração (*Next Generation Sequencing*, NGS), foi possível produzir e processar um enorme volume de dados, de maneira cada vez mais rápida e precisa, permitindo a compreensão da doença a nível molecular, aumentando a efetividade do diagnóstico e o tratamento de diversas doenças. Esta tecnologia, associada à ênfase pós-genômica em novas áreas como proteômica e metabolômica, tem contribuído para o aumento na identificação de

marcadores biológicos e o desenvolvimento de medicações alvo⁶.

Conhecer a etiologia da doença para condições previamente não diagnosticáveis, identificar variantes de genes que impactam na compreensão da fisiopatologia de muitas doenças, pode contribuir em muitas áreas da saúde, como por exemplo o diagnóstico clínico e até mesmo o tratamento das patologias metabólicas, exemplificadas aqui pelos Erros Inatos do Metabolismo (EIM)

MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa trata-se de uma revisão integrativa, método este que tem como finalidade sintetizar e incorporar a busca da melhor e mais recente evidência e resultados obtidos em pesquisas sobre um tema ou questão, de maneira sistemática e abrangente.

Para a localização dos materiais foram acessadas as seguintes bases de dados: Google acadêmico, *Scielo*, *PubMed*, plataforma Minha Biblioteca, *NCBI (National Center for Biotechnology Information)*, *Wiley Online Library*. Os critérios de seleção, foram baseados no conteúdo voltado para patologia molecular, utilizando-se de palavras chave tais como erros inatos do metabolismo, medicina personalizada e diagnóstico. Após uma leitura seletiva e objetiva, foram selecionados os artigos e livros, tomando-se o cuidado com o ano de publicação, local publicado, bem como, resultados e conclusões.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cerca de 8 milhões de bebês ao redor do mundo nascem com defeitos congênitos de origem genética ou parcialmente genética⁷. Doenças hereditárias, especialmente doenças congênitas presentes ao nascimento, são alterações genéticas causadas por uma ou mais anormalidades no genoma. Essas doenças incluem várias patologias, dentre elas os erros inatos do metabolismo (EIM). Temos o entendimento que os EIM compreendem doenças genéticas heterogêneas e raras com uma variedade de fenótipos clínicos sobrepostos ou inespecíficos.

Os EIM são distúrbios de herança autossômica, geralmente recessiva, resultantes de defeitos em uma determinada via bioquímica devido à deficiência ou anormalidade de uma enzima, seu cofator ou um transportador, levando ao acúmulo de um substrato ou à falta do produto. A diversidade de vias metabólicas envolvidas explica as dificuldades no estabelecimento de um diagnóstico. Há atualmente mais de 500 desordens (10% de todas as doenças genéticas) com incidência de 1/800-2500 nascidos vivos e, dentre as quais, 6% dessas desordens conseguem ser diagnosticadas, o que representa uma causa significativa de morbidade e mortalidade infantil global. A investigação diagnóstica padrão dos EIM ocorre primeiramente pela suspeita clínica da doença; detecção de biomarcadores presentes em amostras biológicas e a medição direta da atividade enzimática em estruturas

celulares⁸.

De acordo com Saudubray & Garcia-Cazorla pode-se classificar dos erros inatos do metabolismo com base na sua fisiopatologia: (1) distúrbios intermediários que culminam em intoxicação aguda ou crônica devido ao acúmulo de moléculas (defeitos no metabolismo de carboidratos e aminoácidos, acidemias orgânicas, e outros); (2) distúrbios do metabolismo energético, com deficiência na produção ou utilização de energia (defeitos mitocondriais e citoplasmáticos) e (3) desordens que envolvem moléculas complexas, causadas por danos em organelas celulares e doenças que perturbam as vias metabólicas de moléculas complexas (distúrbios do armazenamento lisossomal, distúrbios peroxissomais, deficiência de alfa-1-antitripsina e distúrbios congênitos da glicosilação)⁹.

Os métodos enzimáticos tem sido considerados o diagnóstico padrão ouro para EIM. No entanto, essa abordagem é lenta, diversificada, possui baixo rendimento e requisitos de amostragem. Os testes genéticos são utilizados geralmente para confirmar ou documentar o diagnóstico bioquímico, mas dependendo da doença, pode ser a única abordagem diagnóstica disponível.¹⁰

Alguns EIM são doenças genéticas complexas, por exemplo, um gene pode estar associado a diferentes fenótipos e, assim, fenótipos semelhantes podem ser causados por mutações em diferentes genes. Além disso, os padrões de herança de algumas dessas doenças nem sempre são completamente caracterizados. Para uma triagem e diagnóstico de EIM mais rápidos e eficazes, é urgentemente necessária uma mudança nas estratégias de investigação. Uma parte da resposta pode ser encontrada no novo campo da medicina de precisão¹¹.

Sanger na década de 70 desenvolveu uma metodologia de sequenciamento de DNA por terminação de cadeia e fragmentação, também chamados de sequenciamento “convencional” ou “tradicional”. Essa metodologia proposta por Sanger prevaleceu durante os próximos 30 anos, pelo menor custo e facilidade de automatização, sendo ainda hoje utilizada, como quando a sequência de um gene específico está sendo testada¹³. No caso dos EIM, ele pode ser solicitado quando o paciente possui um fenótipo específico, com achados bioquímicos sugestivos; quando há alguma limitação na realização do NGS, devido à região gênica afetada e casos nos quais há variantes familiares conhecidas.

A MP engloba o uso de ferramentas avançadas de diagnóstico, como análises genômicas por meio do sequenciamento do exoma (WES) ou genoma (WGS); outras ômicas, como metabolômica e proteômica; imagem avançada; informações de saúde pessoais e populacionais e análise de dados através do big data¹².

Dentre os avanços tecnológicos da MP, os métodos de sequenciamento de nova geração (NGS) têm o maior efeito no diagnóstico de EIM, pois são capazes de gerar informações maiores, mais baratas e em menor tempo do que o sequenciamento de Sanger. As aplicações do NGS incluem o sequenciamento de um conjunto de regiões genômicas específicas (painel NGS direcionado), WES e WGS. O NGS utiliza o sequenciamento de

múltiplos fragmentos de DNA, sendo apropriado para diagnosticar distúrbios genéticos suspeitos quando é improvável que o sequenciamento de um único gene forneça um diagnóstico¹⁴.

Essas tecnologias são abordagens poderosas para superar a ampla heterogeneidade clínica e genética dos EIM, permitindo a triagem simultânea de vários genes, identificando alterações genômicas clinicamente relevantes e auxiliando no diagnóstico mais rápido e preciso dessas condições. No painel direcionado ao NGS, os genes investigados estão relacionados ao fenótipo do paciente. Esse método é dependente de uma hipótese diagnóstica que determina qual conjunto de genes será analisado para cada paciente, o que se mostra desvantajoso quando são analisados pacientes com fenótipos mais leves ou atípicos. Nesse caso, um painel genético abrangente traria maiores benefícios, permitindo a expansão do espectro fenotípico desses distúrbios¹⁰.

O sequenciamento de exomas inteiros (WES) é um procedimento de diagnóstico padrão em muitos lugares e, da mesma forma, é usado para encontrar novos genes associados a condições raras. Além disso, vários EIM permanecem sem diagnóstico após extensas investigações genéticas e bioquímicas devido a um amplo espectro fenotípico de manifestações inespecíficas ou falta de testes clínicos disponíveis, de modo que o WES pode ser usado para identificar pacientes não diagnosticados¹⁰. Esse método possui algumas limitações, pois não identifica regiões não codificantes, alterações estruturais como inversões e translocações.

A WGS ainda não faça parte de um diagnóstico clínico de rotina, todavia tem sido frequentemente utilizada em contexto de pesquisa para auxiliar na caracterização de alterações complexas. Entretanto, seu custo é mais alto e necessita de técnicas mais avançadas para sua realização. É notável também que os aspectos éticos são um dos desafios do WES e WGS devido à possibilidade de identificar variantes em genes não relacionados ao fenótipo principal¹⁵.

O conteúdo desses painéis normalmente inclui amplas versões das condições e genes listados nas recomendações do Colégio Americano de Genética Médica e Genômica (ACMG) para o relato de achados secundários no exoma clínico e no sequenciamento do genoma¹⁴.

No ano de 2013, o *ClinGen*, recurso financiado pelo *National Institutes of Health* (NIH), foi criado com a proposta de ser dedicado à construção de um recurso central que define a relevância clínica de genes e variantes para uso em medicina de precisão e pesquisa em diversas áreas, dentre elas, os EIM. Trata-se de um esforço colaborativo crescente, envolvendo três bolsas, sete pesquisadores principais e mais de 1.800 colaboradores de mais de 45 países¹⁶.

As classificações genéticas de doenças estão agora bem estabelecidas, devido às modernas ferramentas genômicas que podem fornecer informações ricas sobre grandes números de pacientes. Entretanto, outras abordagens altamente complementares baseadas

em informações proteicas e metabólicas podem ajudar os pesquisadores a contextualizar bioquimicamente ou fisiologicamente a informação genética subjacente, ajudando assim a se aproximar do fenótipo e permitindo a estratificação do paciente¹⁷.

A nova era denominada ômica representa uma oportunidade para fornecer novas ferramentas inovadoras para o diagnóstico rápido de EIM. Além disso, abordagens metabolômicas são relevantes para EIM porque sua fisiopatologia básica está intimamente relacionada ao metabolismo. Essas doenças apresentam sintomas clínicos inespecíficos e exames laboratoriais apropriados são cruciais para o diagnóstico. No entanto, os procedimentos convencionais de diagnóstico biológico são baseados em uma série de testes bioquímicos sequenciais e segmentados em várias plataformas analíticas separadas. Essa abordagem é lenta, demorada e complexa, enquanto o gerenciamento ideal do paciente requer maior velocidade dos testes bioquímicos para permitir o diagnóstico precoce e melhor monitoramento do EIM. Para atender a essa necessidade de estratégias mais rápidas de triagem e diagnóstico, o perfil metabólico é um candidato promissor. Assim, a metabolômica é uma das tecnologias “ômicas” baseadas nas caracterizações bioquímicas e moleculares do metaboloma e nas mudanças nos metabólitos relacionadas a fatores genéticos, ambientais, medicamentosos ou dietéticos, entre outros¹⁸.

O Projeto Metaboloma Humano, lançado em 2006, teve como objetivo de identificar conexões entre genes, doenças e metabólitos para auxiliar a investigação de metabólitos associados a erros inatos do metabolismo que são relatados no banco de dados do metaboloma humano (HMDB). O HMDB é atualmente o maior banco de dados de metabolômica e pode ser usado para esclarecer qual via metabólica é perturbada para cada distúrbio, permitindo a identificação e estudo de metabólitos-chave¹⁹. A metabolômica direcionada compreende a análise de metabólitos específicos que geralmente são quantificados e comparados, levando ao estabelecimento de intervalos de referência. Essa abordagem baseada em painel pode reduzir o tempo de diagnóstico de vários distúrbios; já a abordagem não direcionada consiste em analisar todos os metabólitos detectáveis, conhecidos ou não, em qualquer forma de amostra biológica para elucidar se há alguma anormalidade que possa ser correlacionada com distúrbios. Metabolômica não direcionada pode aprofundar a compreensão dos mecanismos da doença, permitindo descobertas de melhores biomarcadores, novas opções de tratamento e terapias personalizadas, podendo ajudar a decidir qual tratamento é mais adequado para cada paciente²⁰.

Em relação às ômicas baseadas em EIM, ainda há grandes desafios em relação à sua ampla utilização no ambiente clínico. Para metabolômica, a grande desvantagem ainda é a identificação de metabólitos, particularmente para abordagens não direcionadas²⁰. Além disso, diferentemente do genoma, a utilização do metaboloma sofre grande influência do ambiente, como uso de fármacos, dieta e horário em que a coleta foi obtida no paciente.

A precisão do teste NGS é melhor quando a variante considerada em um determinado gene foi previamente associada à condição do paciente e quando um teste funcional

conclusivo revelou as anormalidades da função do gene. Além disso, poucos estudos funcionais estão disponíveis sobre o efeito biológico de variantes individuais. Isso impede em grande parte a interpretação eficaz e abrangente dos dados do NGS. Nesse sentido, a MP combinando informações moleculares multicamadas e fenótipos clínicos específicos para um determinado paciente pode ser uma resposta a esse limite.²¹

CONCLUSÕES

A Medicina de precisão ou personalizada tem buscado utilizar o conhecimento biológico e as informações de saúde para prever o risco de doenças, entender sua fisiopatologia, identificar subcategorias de patologias, melhorar diagnósticos e fornecer estratégias de tratamento personalizadas para alcançar os melhores resultados possíveis. No campo dos estudos das patologias metabólicas, embora a MP tenha o potencial de melhorar profundamente o manejo, os avanços necessários levarão algum tempo para se tornarem rotineiros. Por exemplo, a coleta e análise de dados de pacientes serão de grande importância para que a MP atinja seu potencial neste campo. Laboratórios clínicos e de pesquisa costumam criar biorepositórios, cujo poder depende do número e dos tipos de amostras. É um grande desafio desenvolver biorepositórios para EIM, pois há um número limitado de indivíduos relatados devido à raridade ou subdiagnósticos. No entanto, esse desafio pode ser superado por esforços colaborativos nacionais e internacionais e compartilhamento de dados multicêntricos, padronização de coleta de dados e educação do paciente sobre os benefícios do compartilhamento de experiências e amostras.

Avanços recentes em ômicas já estão sendo utilizados e têm sido fundamentais para direcionar a tomada de decisão clínica. É possível que o futuro do diagnóstico de EIM possa ser encontrado na área em desenvolvimento da metabolômica, fazendo perfis metabólicos quantitativos simultâneos de muitos metabólitos em fluidos biológicos.

A atualização dos conjuntos de habilidades dos médicos, tanto no lado clínico quanto no laboratorial, é necessária para atingir todo o potencial da medicina sistêmica. Essas habilidades integram biologia, computação e análise de dados para desenvolver canais de comunicação comuns para interações médicas mais eficazes. Essa alta digitalização contínua das informações biológicas e clínicas individuais oferece uma grande oportunidade para incorporar totalmente a era promissora da MP.

REFERÊNCIAS

1 Collins FS, Varmus H. A new initiative on precision medicine. *N Engl J Med* 2015; 372:793-5 DOI: 10.1056/NEJMp1500523

2 Pinto, E.V.F.; Lazaridis, K.N. Individualized medicine comes to the liver clinic. *J. Hepatol.* 2019, 70, 1057–1059

3 Instituto Nacional de Saúde. O que é medicina de precisão? <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/precisionmedicine/definition>. Acesso em 29 de agosto de 2022

4 Iriart JAB. Precision medicine/personalized medicine: a critical analysis of movements in the transformation of biomedicine in the early 21st century. *Cad Saude Publica*. 2019;35(3):e00153118. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00153118>

5 Lopes, Jr LC. The era of precision medicine and its impact on nursing: paradigm shifts? *Rev Bras Enferm*. 2021;74(5): e 740501. <https://doi.org/10.1590/0034-7167.2021740501>

6 De Negri, Fernanda; Uziel, Daniela (2020): O que é medicina de precisão e como ela pode impactar o setor de saúde? Texto para Discussão, No. 2557, Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA), Brasília

7 Christianson A, Howson CP, Modell B. March of Dimes. Global report on birth defects: the hidden toll of dying and disabled children. New York, 2006

8 Ghosh, A. Diagnosing childhood-onset inborn errors of metabolism by next-generation sequencing. *Archives of Disease in Childhood*, v. 102, p. 1019-1029, 2017

9 Saudubray, J.M.; Garcia-Cazorla, A. Clinical Approach to Inborn Errors of Metabolism in Pediatrics. *Inborn Metabolic Diseases*, 6th. p. 3–70, Springer, 2016

10 Pinto e Vairo, F.; Rojas Málaga, D.; Kubaski, F.; Fischinger Moura de Souza, C.; de Oliveira Poswar, F.; Baldo, G.; Giugliani, R. Medicina de Precisão para Distúrbios Lisossomais. *Biomoléculas* 2020, 10, 1110. <https://doi.org/10.3390/biom10081110>

11 Ombrone D, Gicaliere E, Forni G, Malvagia S, la Marca G. Triagem neonatal expandida por espectrometria de massa: Novos testes, perspectivas futuras. *Espectro de Massa Rev*. 2016; 35:71-84

12 Hou, Y.C.; Yu, H.C.; Martin, R.; Cirulli, E.T.; Schenker-Ahmed, N.M.; Hicks, M.; Cohen, I.V.; Jönsson, T.J.; Heister, R.; Napier, L.; et al. Precision medicine integrating whole-genome sequencing, comprehensive metabolomics, and advanced imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2020, 117, 3053–3062

13 VII Botânica no Inverno 2017 / Org. Carlos Eduardo Valério Raymundo [et al.]. – São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, 2017. p332

14 Moura, B B C; Guimarães, B C S; Latorre F G; Nascimento I N; Fagundes L M, Moraes L R S; Souza J H K; Diagnosis: A future field of medical activity. Vol.26,n.3,pp.103-108 (Mar – Mai 2019) *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR*

15 Ashton-Prolla, P.; Goldim, JR; Vairo, FP; da Silveira Matte, U.; Sequeiros, J. Análise genômica na clínica: benefícios e desafios para profissionais de saúde e pacientes no Brasil. *J. Comunidade Genet*. 2015, 6, 275-283. [CrossRef]

16 Instituto Nacional de Pesquisa do Genoma Humano. <https://clinicalgenome.org> Parte superior do formulário Gene Parte inferior do formulário

17 Nicholson, JK; Holmes, E.; Kinross, JM; Darzi, AW; Takats, Z.; Lindon, JC Fenotipagem metabólica em ambientes clínicos e cirúrgicos. *Natureza* 2012, 491, 384-392

18 Tebani, A.; Abily-Donval, L.; Afonso, C.; Marret, S.; Bekri, S. Clinical Metabolomics: The New Metabolic Window for Inborn Errors of Metabolism Investigations in the Post-Genomic Era. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17, 1167. <https://doi.org/10.3390/ijms17071167>

19 Mandal, R.; Chamot, D.; Wishart, D.S. The role of the Human Metabolome Database in inborn errors of metabolism. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2018, 41, 329–336

20 Vinaixa, M.; Schymanski, E.L.; Neumann, S.; Navarro, M.; Salek, R.M.; Yanes, O. Mass spectral databases for LC/MS- and GC/MS-based metabolomics: State of the field and future prospects. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2016, 78, 23–35

21 Tebani, A.; Afonso, C.; Marret, S.; Bekri, S. Omics-Based Strategies in Precision Medicine: Toward a Paradigm Shift in Inborn Errors of Metabolism Investigations. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17, 1555. <https://doi.org/10.3390/ijms17091555>