



O PAPEL DOS TESTES GENÉTICOS NA FARMACOGENÉTICA

The role of genetic tests on pharmacogenetics

*Isabela Ferreira Stragliotto, Thiago Martins Pais**

Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop-MT, Brasil.

*Autor para Correspondência: tmpais@yahoo.com.br

RESUMO

A ocorrência ou predisposição à diversas patologias podem ter causas genéticas. Atualmente, os estudos genéticos tem contribuído significativamente para a saúde humana, sendo capazes de oferecer diagnósticos, prever riscos e susceptibilidades, avaliar prognósticos e até mesmo definir o melhor tratamento farmacológico, especialmente na área oncológica. Esta revisão bibliográfica tem o objetivo de descrever os principais testes genéticos, suas metodologias, os genes alvos em análise e suas implicações para a farmacoterapia, uma vez que a escolha terapêutica adequada é crucial para possibilitar o sucesso na intervenção farmacológica. Quanto a metodologia deste trabalho, foram utilizados artigos científicos indexados e revisados por pares, publicados desde 2018, encontrados na base de dados *Science Direct*, utilizando-se as palavras chaves: *genetic testing*, *cancer genetics*, *pharmacogenetics* e *next-generation sequencing*. Entre os testes genéticos analisados destacamos os testes que analisam biomarcadores para os cânceres de mama, ovário, gástrico, colorretal e pulmonar. A detecção ocorre por sequenciamento de nova geração, PCR, imuno-histoquímica e hibridização por fluorescência *in situ*. A partir destes testes genéticos, indivíduos com histórico



familiar conseguem identificar precocemente os biomarcadores e avaliar a relação entre as variações gênicas e a eficácia de determinado fármaco. Como exemplo, destacamos a análise do gene *EGFR* e sua influência na eficácia do fármaco Gefitinib. Pacientes com baixa expressão do gene *EGFR* são pouco beneficiados com essa farmacoterapia. Dessa forma, a utilização rotineira dos testes genéticos na farmacogenética, tem o potencial de otimizar o diagnóstico e terapia.

Palavras-chave: Testes genéticos. Farmacoterapia. Genética do câncer. Sequenciamento de nova geração.

ABSTRACT

The occurrence and predisposition to several pathologies can bear genetic causes. Currently, genetic tests significantly contributes to human health, being able to offer diagnosis, risk prevention, evaluation of susceptibilities and prognosis, even defining the best pharmacological treatment, especially on oncology. The present review has the aim of describing the genetic tests, their methodologies, the target genes and their implications to pharmacotherapy, once the therapeutical choice is crucial for the pharmaceutical intervention success. For the methodology applied, we analyzed peer-reviewed scientific articles, published since 2018, available at Science Direct database, using the key words: genetic testing, cancer genetics, pharmacogenetics and next-generation sequencing. Among the genetic tests evaluated, we highlight the ones that analyze biomarkers for breast, ovarian, gastric, colorectal and lung cancers. The biomarkers detection used next-generation sequencing, PCR, immunohistochemistry and fluorescence *in situ* hybridization. Using those genetic tests, patients with familial cancer history can early identify the biomarkers and evaluate the relation between the genetic variations and the efficacy of certain drugs. As an example, we can analyze the gene *EGFR* and its influence for the drug Gefitinib. Patients with low *EGFR* gene expression hardly benefit with



its pharmacotherapy. In this way, the regular use of genetic tests on pharmacogenetics can potentially optimize diagnosis and therapy.

Keywords: Genetic tests. Pharmacotherapy. Cancer genetics. Next-generation sequencing.

INTRODUÇÃO

A farmacogenética é a área do conhecimento que estuda como as variações genéticas influenciam a ação e as respostas dos medicamentos. Na oncologia, pequenas variações genéticas dos pacientes podem ser suficientes para causar uma grande diferença na resposta aos fármacos utilizados na terapia. Isso ocorre pois geralmente a janela terapêutica, distância entre a dose eficaz e tóxica, é muito estreita. Conhecendo-se melhor os elementos genéticos que determinam as respostas terapêuticas variadas, em tipos de câncer específicos, poderemos eventualmente obter uma farmacoterapia oncológica mais individualizada e eficaz (BUKOWSKI, 2020; FANGYOU MIN, 2021).

O funcionamento harmônico de todas as moléculas funcionais do organismo humano se deve ao correto funcionamento dos genes presentes em nosso material genético, responsáveis por carregarem as sequências de nucleotídeos que codificam as mensagens que resultam em ácidos ribonucléicos (RNAs) e proteínas funcionais. O surgimento de variações gênicas ou erros nos nucleotídeos são capazes de levar a manifestação de diversas doenças genéticas. Essas últimas podem ser investigadas e identificadas através de diferentes testes genéticos (BISHOP, 2018; SMITH, 2019).

Os testes genéticos têm, entre suas diversas funcionalidades, a importante aplicação de identificar genes causadores ou associados a formas de câncer. A capacidade de realizar diagnósticos precoces e eficientes, prevenir o avanço ou até mesmo a manifestação da doença, além de indicar o melhor tratamento terapêutico, são alguns dos motivos pelos quais os testes são solicitados por profissionais,



especialmente para pacientes com histórico familiar desta doença (MORGANTI, 2019). Atualmente, o sequenciamento de ácido desoxirribonucleico (DNA) é a principal forma de identificação de variações gênicas.

Durante décadas, o método de Sanger foi o principal modelo de sequenciamento de DNA. Entretanto, nos últimos anos, o Sequenciamento de Nova Geração (NGS = *next-generation sequencing*) ganhou destaque, com o desenvolvimento de várias plataformas capazes de sequenciar paralelamente todo o genoma ou exoma humano, produzindo mais de 100 vezes o quantitativo de dados quando comparado a outros métodos de sequenciamento de DNA, além de oferecer maior velocidade e sensibilidade para detecção de variantes (KARAMPERIS, 2020).

De maneira geral, o NGS funciona com a fragmentação do genoma em pequenas partes que serão sequenciadas e posteriormente remontadas com programas de bioinformática, fornecendo dados que serão finalmente analisados de acordo com o funcionamento da plataforma utilizada (SLATKO, 2018).

O desenvolvimento de tecnologias NGS trouxe grandes benefícios para área oncológica. O câncer é uma das principais causas de morte nos países industrializados. Entre os diferentes tipos de câncer, o câncer de mama é o mais frequente e o que apresenta a maior taxa de mortalidade, apesar dos avanços no diagnóstico e tratamento (BRAY, 2018).

Esta revisão bibliográfica tem o objetivo de descrever os principais testes genéticos, suas metodologias, os genes alvos em análise e suas implicações para a farmacoterapia oncológica, uma vez que a escolha terapêutica adequada é crucial para possibilitar o sucesso na intervenção farmacológica.

METODOLOGIA

Quanto à metodologia deste trabalho, realizamos uma revisão bibliográfica avaliando artigos científicos indexados e revisados por pares, publicados entre



janeiro de 2018 até agosto de 2021, encontrados na base de dados *Science Direct* (<https://www.sciencedirect.com>), utilizando-se as palavras chaves: *genetic testing*, *cancer genetics*, *pharmacogenetics* e *next-generation sequencing*. A busca resultou em 264 arquivos, compreendendo artigos de revisão e pesquisa, enciclopédias, capítulos de livro, resumos de conferências, editoriais, mini revisões, comunicações, entre outros. Filtramos a busca para analisarmos somente artigos de revisão e pesquisa, capítulos de livros e enciclopédias. Dessa forma, restringimos nossos resultados de busca para 194 arquivos. Dentre esses, avaliamos aqueles que buscavam correlacionar os estudos das variações genéticas e os impactos na farmacoterapia. Dessa forma, utilizamos um total de 23 artigos de revisão e pesquisa, capítulos de livros e enciclopédias para elaboração deste trabalho.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos que correlacionam os cânceres de mama, ovário, gástrico, colorretal e pulmonar, com seus respectivos genes/biomarcadores, métodos diagnóstico e terapias estão resumidos no Quadro 1.

O câncer de mama é considerado o mais recorrente entre mulheres, atingindo ductos, lóbulos, linfonodos, entre outras partes da mama, a partir da multiplicação celular desordenada (HARWANSH, 2020). O câncer de mama é o tipo de câncer mais reportado nos estudos oncológicos (VAN COTT, 2020). Apesar de diversos fatores externos contribuírem para a manifestação da doença, estima-se que até 10% da sua causalidade está relacionada a fatores genéticos hereditários, com destaque para as mutações herdadas de maneira autossômica dominante, especialmente mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2* (PETERSON, 2020).

Quadro 1 - Tipos de câncer, genes/biomarcadores, métodos de diagnóstico molecular, terapias e referências bibliográficas.

Câncer	Genes/ Biomarcadores	Método diagnóstico	Terapia	Referências bibliográficas
Mama e ovário	<i>BRCA1/2, ATM, CDH1, CHECK2, PALB2, PTEN, STK11, TP53, HER2, ESR1, PR</i>	NGS FISH IHQ	Trastuzumab Exemestane Gefitinib	HODGSON, 2020; PETER, 2020; VAN COTT, 2020.
CGDH (Câncer Gástrico Difuso Hereditário)	<i>CDH1, CTNNA1</i>	NGS	Imatinib	BENUSIGLIO, 2019; CORSO, 2020; GULLO, 2019; VAN COTT, 2020.
CCR (Câncer colorretal)	<i>MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, APC, MUTYH</i>	PCR NGS IHQ	5- Fluorouracil Cetuximab Irinitecan Panitumumab	BOSMAN, 2019; HODGSON, 2020; MA, 2018; SUTCLIFFE, 2019; VAN COTT, 2020.
Pulmão	<i>EGFR, ALK, KRAS</i>	NGS IHQ	Crizotinib Erlotinib	LAM, 2019

NGS: *next-generation sequencing* (sequenciamento de nova geração). FISH: *fluorescent in situ hybridization* (hibridização por fluorescência *in situ*). IHQ: imuno-histoquímica. PCR: *polymerase chain reaction* (reação de polimerase em cadeia).

Apesar dos genes *BRCA1* e *BRCA2* serem os causadores mais comuns, os genes *ATM*, *CDH1*, *CHEK2*, *PALB2*, *PTEN*, *STK11* e *TP53* são frequentemente verificados por testes de painel multigenes, por também serem capazes de contribuir para o desenvolvimento de câncer de mama e ovário (PETERSON, 2020; VAN COTT, 2020). Estes genes estão relacionados ao sistema de reparo de incompatibilidades na dupla fita do DNA para evitar rearranjos cromossomais,



sendo *BRCA1/2* e *TP53* genes de alta penetrância, portanto mais suscetíveis, enquanto que os genes *ATM*, *CHEK2* e *PALB2* possuem penetrância moderada.

Os genes *CDH1*, *PTEN* e *STK11* possuem alta penetrância, porém com a funcionalidade de supressores de tumor (HODGSON, 2020). O rastreamento genético a partir do sequenciamento é muito importante para que o melhor encaminhamento profilático ou terapêutico possa ser realizado, incluindo a retirada das mamas ou ovários, se necessário.

Além disso, nos estudos de câncer de mama existem biomarcadores de importância terapêutica que ajudam no prognóstico e avaliação de reincidência da doença. Os biomarcadores ER (*estrogen receptor*), PR (*progesterone receptor*) e HER2 (*human epidermal growth factor receptor 2*) orientam as escolhas terapêuticas. Esses biomarcadores podem ser identificados por técnicas de imunohistoquímica e hibridização por fluorescência *in situ* (FISH) (MOHANTY, 2021).

Além de contribuir para o diagnóstico de câncer de mama lobular, o gene *CDH1* está fortemente relacionado ao Câncer Gástrico Difuso Hereditário (CGDH), patologia autossômica dominante responsável por até 3% dos casos de carcinoma gástrico (GULLO, 2019; VAN COTT, 2020). Este gene supressor de tumor está localizado no cromossomo 16q22.1 e codifica uma E-caderina, glicoproteína transmembrana que desempenha um papel crucial na formação da adesão célula-célula, de forma que seu funcionamento quando comprometido facilita o processo de metastização (CORSO, 2020; GULLO, 2019).

Estudos recentes demonstraram que alterações no gene *CTNNA1*, que codifica proteína tipo alfa-catenina, envolvida na adesão intracelular juntamente com E-caderina, como um segundo gene de predisposição ao CGDH, apesar de raro (BENUSIGLIO, 2019). Em diversos casos de CGDH, observou-se mutações em genes associados a outros tipos de cânceres hereditários: *BRCA2*, *TP53*, *STK11*, *SDHB*, *PRSS1*, *ATM*, *MSR1*, *PALB2*, *INSR*, *FBXO24* e *DOT1L* (GULLO, 2019). Como forma de diagnóstico, endoscopias e testes genéticos de



sequenciamento dos genes *CTNNA1* e *CDH1* são realizados. Como forma profilática, gastrectomia pode ser realizada em alguns casos (GULLO, 2019).

Estima-se que cerca de 5% dos casos de Câncer Colorretal (CCR) são desenvolvidos a partir da manifestação de síndromes hereditárias causadas por mutações em genes responsáveis pela estabilidade genética ou crescimento celular (MA *et al.*, 2018). Além do Câncer Colorretal, estas síndromes também são capazes de evoluir a cânceres no duodeno, intestino delgado, endométrio, ovários, pâncreas, entre outros (BOSMAN, 2019; HODGSON, 2020; MA, 2018; VAN COTT, 2020).

Conhecida como a mais recorrente e predisposta ao CCR, a Síndrome de Lynch, ou Câncer Colorretal Hereditário Não-Poliposo (HNPCC), é uma síndrome autossômica dominante causada por mutação na linha germinativa de algum gene *Mismatch Repair* (MMR) de DNA: *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, onde pólipos adenomatosos causam possíveis lesões precursoras (BOSMAN, 2019; HODGSON, 2020; MA, 2018; VAN COTT, 2020).

Os genes MMR possuem a função de reparar erros durante a replicação do material genético, portanto, o funcionamento comprometido leva a instabilidade de microsatélites (MSI), que podem ser identificados por meio de PCR, NGS ou imuno-histoquímica (BOSMAN, 2019; MA, 2018).

Por outro lado, a Polipose Adenomatosa Familiar (PAF), de origem autossômica dominante, ocorre devido a mutações em diferentes exons e códons do gene supressor tumoral *APC* (*Adenomatous Polyposis Coli*) (VAN COTT, 2020). Esse gene é essencial em vias de sinalização celular, auxiliando a beta-catenina na regulação da adesão celular e transcrição genética, de maneira que o funcionamento anormal leva ao acúmulo de beta-catenina e conseqüentemente a formação de adenoma (BOSMAN, 2019; MA, 2018).

O desenvolvimento de centenas a milhares de pólipos na região colorretal, que se inicia ainda na infância, pode progredir ao CCR em média até os 35 anos de idade. Desta forma, a construção de um heredograma, o sequenciamento



genético, a realização de colonoscopia e sigmoidoscopia são indicados para diagnóstico e prevenção dessa patologia (VAN COTT, 2020).

Além disso, o gene *APC* também está relacionado a Polipose Adenomatosa Familiar Atenuada (PAFA), sendo considerada uma variante menos agressiva da PAF. Pacientes com esta síndrome apresentam um número muito menor de pólipos, até 100, localizados especialmente na região direita do cólon, com manifestação de sintomas e diagnóstico tardio, quando comparado com a PAF (MA, 2018). Os métodos de diagnóstico e prevenção são semelhantes para as duas síndromes, recomendando-se a realização de teste genético para pacientes com histórico pessoal ou familiar de síndrome de polipose (VAN COTT, 2020).

Diferentemente das outras poliposes citadas anteriormente, a Polipose Associada a *MUTYH* (PAM) é uma desordem autossômica recessiva, com características fenotípicas semelhantes a PAFA, porém sem manifestação de mutação no gene *APC*, e sim no gene *MUTYH*. Esse gene está envolvido no reparo por excisão de base do DNA. Mutações bialélicas neste gene levam ao desenvolvimento de pólipos adenomatosos e câncer colorretal.

Estudos relacionaram esta mutação a outros cânceres: duodenal, endometrial, mama e ovários, pele e bexiga. Levando em consideração o histórico familiar do paciente, recomenda-se a realização de testes genéticos por sequenciamento e colonoscopia anuais como maneira de prevenção (BOSMAN, 2019; SUTCLIFFE, 2019).

A partir de testes genéticos, indivíduos com histórico familiar conseguem identificar precocemente a possibilidade da manifestação de mutações genéticas que estão envolvidas nas patologias citadas. Além disso, estudando a correlação da influência de variações genéticas a respostas farmacológicas, o sequenciamento genético pode prever a relação entre variações gênicas, que funcionam como biomarcadores, e a eficácia de determinado fármaco. Como exemplo, destacamos a análise do gene *EGFR* e sua influência na eficácia do fármaco Gefitinib, um inibidor da enzima tirosina quinase usado em pacientes com



câncer. Pacientes com baixa expressão do gene *EGFR* são pouco beneficiados com essa farmacoterapia.

Em uma outra farmacoterapia para o câncer de mama, utilizando-se o fármaco Tamoxifeno, observou-se que indivíduos que carregam o gene *CYP2C19*2* respondem melhor ao tratamento. O gene *CYP2C19*, localizado no cromossomo 10, faz parte da superfamília de enzimas citocromo P450. Ele codifica uma enzima mitocondrial muito importante na metabolização de vários medicamentos, incluindo antidepressivos, beta bloqueadores e opióides. Esse gene é altamente polimórfico na população, o que resulta em níveis de atividade enzimática variáveis, que afetam a metabolização de medicamentos, alterando a resposta farmacológica. Uma variante desse gene, denominada *CYP2C19*2*, que apresenta uma mutação no exon 5, causa o *splicing* anormal do mesmo, inativando a enzima produzida (PRATT, 2018).

Dessa forma, a utilização mais rotineira dos testes genéticos como ferramenta na área de farmacogenética, tem o potencial de alavancar o diagnóstico e terapia de diversas patologias.

Em busca da melhor terapia para o paciente, a farmacogenética, com auxílio do sequenciamento de DNA, pode ajudar a prever a relação entre variações gênicas, que funcionam como biomarcadores, e a eficácia ou toxicidade de determinado fármaco. Desta forma, correlacionando características genéticas com a resposta de fármacos ao organismo, o paciente é beneficiado, adotando-se a melhor resposta ao tratamento (CHEN, 2020)

As descobertas na área da farmacogenética tem revolucionado as abordagens terapêuticas na oncologia. Com o intuito de reunir os diferentes modelos genéticos que podem prever a eficácia terapêutica de drogas anticâncer, existem bancos de dados e ferramentas computacionais gratuitas como a iGMDR (*investigating genetic model of drug response*), que permitem analisar modelos integrados de estudos farmacogenéticos *in vitro* e *in vivo* (CHEN, 2020). Essa ferramenta pode ser acessada em <https://igmdr.modellab.cn>.



CONCLUSÕES

A literatura recente demonstra como cânceres podem ser identificados precocemente a partir de testes genéticos, possibilitando o melhor aconselhamento para prevenção, acompanhamento e adoção de tratamentos terapêuticos mais eficientes. Com a redução dos custos dos testes genéticos, a tendência é que eles se tornem cada vez mais acessíveis nas análises clínicas. Dessa forma, o campo da farmacogenética proporcionará alternativas terapêuticas mais individualizadas e específicas, levando-se em consideração o *background* genético de cada paciente.

REFERÊNCIAS

- BENUSIGLIO, P. R. *et al.* *Clinical implications of CTNNA1 germline mutations in asymptomatic carriers.* **Gastric Cancer**, v.22, p. 899–903, 2019.
- BISHOP J. R. *Pharmacogenetics.* **Handb Clin Neurol.**, v.147, p. 59-73, 2018.
- BOSMAN, F. T. *Colorectal Cancer: Pathology and Genetics.* **Encyclopedia of Cancer**. 3. ed. San Diego: Elsevier Inc., p. 428-443, 2019.
- BRAY, F. *et al.* *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries.* **CA Cancer J. Clin.**, v.68, p.394-4, 2018.
- BUKOWSKI K., KCIUK M., KONTEK R. *Mechanisms of Multidrug Resistance in Cancer Chemotherapy.* **Int J Mol Sci.**, v.21, n.9, p. 3233, 2020.
- CHEN X., GUO Y., CHEN X. *iGMDR: Integrated Pharmacogenetic Resource Guide to Cancer Therapy and Research.* **Genomics Proteomics Bioinformatics**, v.18, 150-160, 2020.
- CORSO, G.; ROVIELLO, F. *Germline mutations of the E-cadherin gene (CDH1) in early onset gastric cancer.* **Seminars in Oncology**, v. 47, n. 1, p. 125-126, 2020.
- FANGYOU MIN F. *et al.* *Large-scale pharmacogenomic studies and drug response prediction for personalized cancer medicine.* **Journal of Genetics and Genomics**. V.34, p.67-74, 2021.



- GULLO, I.; CARNEIRO, F. *Gastric Cancer: Pathology and Genetics*. **Encyclopedia of Cancer**. 3. ed. San Diego: Elsevier Inc., p. 77-98, 2019.
- HARWANSH, R. K.; DESHMUKH, R. *Breast cancer: An insight into its inflammatory, molecular, pathological and targeted facets with update on investigational drugs*. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 154, n.1, p. 1-10, 2020.
- HODGSON, S.V. *Molecular mechanisms in cancer susceptibility—lessons from inherited cancers*. **Clinical Molecular Medicine**, v.2, cap. 24, p. 423-436, 2020.
- KAMPS R. *et al. Next-Generation Sequencing in Oncology: Genetic Diagnosis, Risk Prediction and Cancer Classification*. **Int J Mol Sci.**, v.18, n.2, p. 308, 2017.
- KARAMPERIS, K. *et al. Genetic testing*. **Applied Genomics and Public Health**. 1. ed. San Diego: Elsevier Inc., p. 189-207, 2020.
- LAM Y. W. F.; SCOTT S. A. *Pharmacogenomics in Cancer Therapeutics*. **Pharmacogenomics**, 2 ed., 2019.
- MA, H. *et al. Pathology and genetics of hereditary colorectal cancer*. **Pathology**, v.50, p. 49-59, 2018.
- MOHANTY, S. S.; SAHOO, C. R.; PADHY, R. N. *Role of hormone receptors and HER2 as prospective molecular markers for breast cancer: An update*. **Genes & Diseases** v.17, p. 45-54, 2021.
- MORGANTI S. *et al. Next Generation Sequencing (NGS): A Revolutionary Technology in Pharmacogenomics and Personalized Medicine in Cancer*. **Adv Exp Med Biol.**; v. 1168, p. 9-30, 2019.
- PETERSON, H. J.; NOSS, R. *Updates in hereditary breast cancer genetic testing and practical high risk breast management in gene carriers*. **Seminars in Oncology**, v. 47, n. 1, p. 182-186, 2020.
- PRATT, V. M.; TREDICI, A. L. D.; HACHAD, H. *et al. Recommendations for clinical CYP2C19 genotyping allele selection*. **Journal of Molecular Diagnostics**, v. 20, n.3, 2018.
- SMITH, L. P. *The Spectrum of Genetic Testing*. **Seminars in Oncology Nursing**, v..35, n. 1, p. 11-21, 2019.
- SLATKO B. E.; GARDNER A. F.; AUSUBEL F. M. *Overview of Next-Generation Sequencing Technologies*. **Curr Protoc Mol Biol.**, v.122, n.1, p. 59, 2018.



Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management

ISSN 1983-4209

Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management, v. 17, n. 4, out/dez 2021

revista.uepb.edu.br/index.php/biofarm

SUTCLIFFE, E. G. *et al.* *Multi-gene panel testing confirms phenotypic variability in MUTYH-Associated Polyposis. **Familial Cancer***, v.18, p. 209-209, 2019.

VAN COTT, C. *Cancer Genetics. **Surgical Clinics of North America***, v. 100, n. 1, p. 483-498, 2020.