

INVESTIGAÇÃO BÁSICA E APLICADA NA ÁREA DOS ERROS HEREDITÁRIOS DE METABOLISMO

A investigação é a atividade do homem que está orientada para a obtenção de novos conhecimentos que permitem encontrar explicações para questões e resolver problemas utilizando métodos científicos.

Segundo os objetivos da investigação, distingue-se a investigação básica e a aplicada:

- **Investigação básica:** tem por objetivo aumentar o conhecimento científico fundamental, criando novas teorias ou modificando as existentes. É também designada por investigação pura.
- **Investigação aplicada:** utiliza os conhecimentos adquiridos através da investigação básica aplicando-os na resolução de problemas existentes na sociedade.

Investigação básica

- Conhecimento fundamental
- Tipos:
 - Diagnóstico → Tecnologia
 - Fisiopatologia
 - Tratamento



QUE ÁREAS SE INVESTIGAM EM EHM?

Investigação aplicada

- Investigação orientada para o doente
- Tipos:
 - Diagnóstico
 - Fisiopatologia
 - Tratamento



A investigação realiza-se principalmente a nível de **diagnóstico, de fisiopatologia e de tratamento de EHM.**

Os investigadores tentam resolver os problemas e questões levantadas nesta e em outras áreas, e aplicam os conhecimentos obtidos através da investigação básica à prática clínica, bioquímica e desenvolvimento de novas terapias.

PORQUE É NECESSÁRIA A INVESTIGAÇÃO EM EHM?

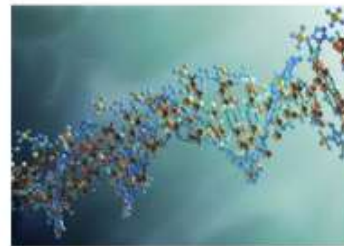
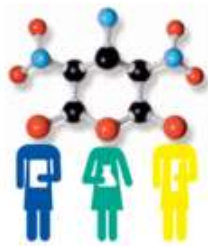
Os EHM constituem um grupo de doenças pouco frequentes (ou raras) e muito pouco conhecidas.

Todos os anos são descritos novos EHM e isso permite diagnosticar doentes que tinham permanecido sem diagnóstico durante anos. **Os fenótipos clínicos** (características clínicas) **são geralmente heterogéneos** e difíceis de explicar.

É muito importante descrever a **história natural** de uma doença a partir de um número suficiente de casos diagnosticados e não tratados, não só para melhorar o diagnóstico de novos doentes e entender a fisiopatologia dos EHM, mas também para avaliar a eficácia de novos tratamentos.

Por que é necessária a investigação em EHM?

- Fenótipos clínicos variados e inexplicados → Sem diagnóstico
- Diagnóstico bioquímico
- Bases fisiopatológicas
- Medicamentos orfãos → EHM Orfãos de tratamento
- Genética em plena expansão → Avanços tecnológicos promovem o conhecimento



A aplicação de novas tecnologias ao diagnóstico ou seguimento dos doentes permite revelar novas evidências e conduzir ao desenvolvimento de novos testes de diagnóstico ou de monitorização de doentes em tratamento.

O conhecimento das bases fisiopatológicas EHM permite desenvolver novos medicamentos que atuam mais especificamente sobre as causas ou consequências de EHM.

O enorme desenvolvimento atual da genética permite obter uma grande quantidade de dados que, uma vez seleccionados, podem ser usados para o conhecimento do EHM e o diagnóstico de novos doentes.

COMO É QUE A INVESTIGAÇÃO BÁSICA CONTRIBUI PARA O DIAGNÓSTICO DE EHM?

A investigação básica ocupa-se do estudo de:

- **Metaboloma:** conjunto de pequenas moléculas, ou metabolitos, como intermediários metabólicos, hormonas e outras moléculas sinalizadoras, etc., que podem ser encontrados num organismo completo.
- **Genoma:** conjunto de genes de um indivíduo.
- **Exoma:** parte do genoma que consiste em exões, zonas codificantes dos genes.
- **Transcriptoma:** perfis de expressão de todos os genes.
- **Proteoma:** conjunto de proteínas codificadas por um genoma.
- **Interactoma:** interação dos produtos do genoma, etc.

1) Diagnóstico

Investigação básica

- Básica → aplicada (metaboloma, metaboloma, exoma, genoma, transcriptoma, proteoma, celoma, interactoma...)



Todo este conhecimento origina uma enorme quantidade de dados que devem ser tratados através da **bioinformática** (aplicação de tecnologia informática à gestão e análise de dados biológicos), de forma a poder retirar conclusões sobre os mesmos.

Os avanços na área da física têm permitido melhorar as técnicas de neuroimagem, como a ressonância magnética, espectroscopia e tomografia computadorizada por emissão de positrões, entre muitos outros, o que facilita o estudo de alterações morfológicas e metabólicas que ocorrem no cérebro e outros órgãos.

As **tecnologias de nova geração**, por exemplo a sequenciação massiva e a espectrometria de massa, entre outras, permitem empreender a identificação de genes e a separação e identificação de proteínas em tempo muito curto e com grande eficiência.

E QUAL É O PAPEL DA INVESTIGAÇÃO APLICADA NO DIAGNÓSTICO DE EHM?

O desenvolvimento de novas tecnologias, uma vez adaptados à prática clínica ou bioquímica/genética, permite melhorar os métodos de diagnóstico.

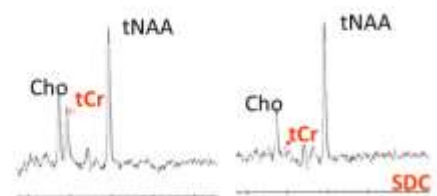
Por exemplo, o desenvolvimento da cromatografia gasosa (1969) e a sua subsequente aplicação ao estudo da urina de doentes com suspeita de EHM sem diagnóstico, permitiu identificar as acidúrias orgânicas.

A espectrometria de massa é uma técnica analítica utilizada para identificar compostos, verificar a identidade dos compostos esperados, (aprofundando estudos de propriedades químicas e estruturais) e quantificar os já conhecidos.

Convenientemente modificada e adaptada (espectrometria de massa em tandem) permite ampliar o rastreio neonatal procedendo à deteção de mais de 20 doenças metabólicas em tempo muito curto e utilizando uma única amostra.

A imagem de ressonância magnética com espectroscopia permitiu o estudo de áreas específicas do cérebro e a identificação de novas doenças metabólicas, como por exemplo a deficiência cerebral de creatina.

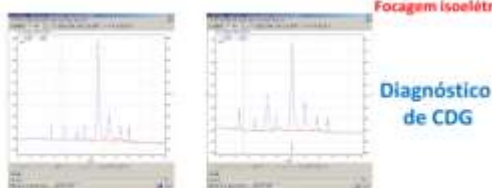
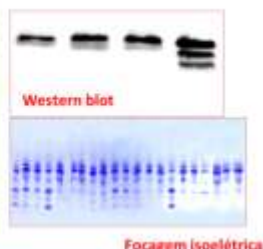
Neuroimagem



1) Diagnóstico

Investigação aplicada

- Clínica, bioquímica, radiológica, genética, ...
- Colaborativa
- Dependente da inovação
- Diagnóstico precoce



Electroforese capilar

Outro exemplo, poderá ser o do diagnóstico de defeitos congénitos de glicosilação (CDG) onde são usados procedimentos (focagem isoeétrica ou western blot de isoformas da transferrina) que requerem no mínimo dois dias para obter resultados. Atualmente, a eletroforese capilar permite obter resultados ainda mais precisos em apenas 10 minutos.

Outras tecnologias de nova geração possibilitam melhorar o diagnóstico de doenças, de forma a permitir que perante uma suspeita clínica de um EHM se possa passar aos testes genéticos por sequenciação de determinados genes.

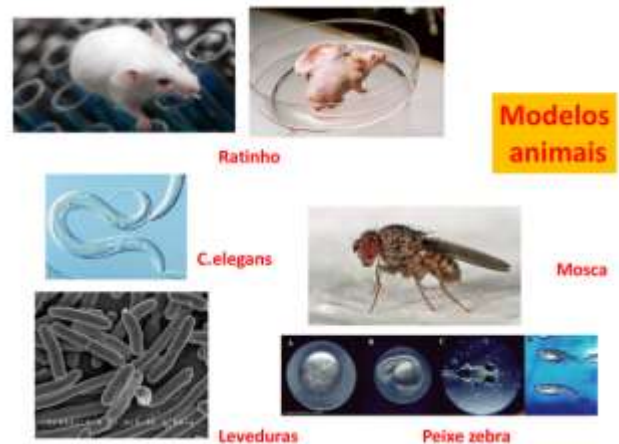
Perante a descoberta de uma nova mutação, é possível

comparar a sequência desse gene em espécies diferentes de animais e deprender o efeito e a potencial patogenicidade da nova mutação.

COMO É QUE A INVESTIGAÇÃO BÁSICA E APLICADA CONTRIBUI PARA O ESTUDO DA FISIOPATOLOGIA DE EHM?

A investigação básica em bioquímica, biologia molecular e celular proporciona uma infinidade de dados de conhecimento elementar. Através de investigação aplicada usamos parte desses dados para entender a fisiopatologia de doentes com EHM.

O desenvolvimento de modelos animais de várias doenças metabólicas é muito útil no conhecimento da fisiopatologia destas alterações. Os animais mais frequentemente utilizados são o ratinho, a mosca *Drosophyla melanogaster*, o peixe Zebra *Danio rerio*, o verme *Caenorhabditis elegans*, a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, etc.



Adicionalmente, a cultura de **fibroblastos**, tanto em células normais como nas provenientes de doentes com EHM, permite realizar numerosos estudos funcionais que são essenciais para interpretar os mecanismos de patogénese dos EHM.

Por outro lado, o estudo dos efeitos de EHM sobre o fenótipo clínico e bioquímico dos doentes fornece dados fundamentais para o conhecimento destas doenças.

COMO CONTRIBUI A INVESTIGAÇÃO PARA O TRATAMENTO DE EHM?



A investigação básica permite desenvolver novos tratamentos potencialmente eficazes, por exemplo: terapias genicas ou terapias genómicas.

O estudo de opções terapêuticas em modelos animais de doenças é um passo indispensável para verificar a sua eficácia e descartar a sua toxicidade antes de avançar para os ensaios em humanos.

Finalmente, em ensaios clínicos com novas terapias em determinados grupos de doentes, é necessário aplicar o conhecimento, adquirido pela investigação básica, na prática clínica.

COMO SE REFLETE, ATUALMENTE, O DESENVOLVIMENTO DE NOVAS TECNOLOGIAS NO DIAGNÓSTICO DE EHM?



O diagnóstico seletivo de EHM baseia-se, tradicionalmente, na análise das alterações do metabolismo apresentadas pelos doentes, previamente selecionados através de suspeita clínica.

Estas alterações são geralmente traduzidas em anomalias dos perfis bioquímicos em fluidos biológicos (sangue, urina e, se necessário, líquido cefalorraquidiano), que indicam vias metabólicas afetadas e pontos específicos de bloqueio.

Isso permite confirmar as alterações por análise enzimática ou caracterização de proteínas mutantes e, finalmente, análise mutacional dos genes mutantes.

Atualmente, o avanço das técnicas genéticas de alto rendimento, por exemplo, a sequenciação maciça (análise de milhões de fragmentos de DNA em um único processo de sequenciação) ou painéis de genes (detecção simultânea de mutações em diversos genes) diminui o tempo de resposta e o custo por doente em comparação com as análises genéticas tradicionais.

Isso indica que pode ser um processo mais rápido e mais eficiente a passagem direta da suspeita clínica para a análise genética, com a subsequente confirmação bioquímica, sendo esta mais difícil e complexa (enzima, histoquímica).



REFLEXÕES SOBRE A PESQUISA EM EHM

Apesar dos grandes avanços na ciência e na tecnologia, nem tudo está resolvido. A produção massiva de dados torna essencial a sua respetiva gestão por técnicas de bioinformática e a análise por especialistas que possam proceder à seleção dos pontos de interesse de cada caso de forma a poder retirar conclusões que possam conduzir à resolução dos problemas colocados pelos EHM.

Projeto: As Doenças Metabólicas Raras em Português, um projeto APCDG & Guia Metabólica.

Apoio económico: "Para ti, sempre: um CD de música, uma vida CDG", coordenado pela APCDG em 2014 e realizado em conjunto com famílias, amigos e profissionais CDG.

Coordenação da tradução: Vanessa Ferreira (Associação Portuguesa CDG e outras Doenças Metabólicas Raras, APCDG, Portugal), Mercedes Serrano e Maria Antónia Vilaseca (Guia Metabólica).

Tradução: Olga Amaral, Department of Human Genetics, INSA, IP, 4000-Porto, Portugal.



Passeig Sant Joan de Déu, 2 08950
Esplugues de Llobregat
Barcelona, Spain
Tel: +34 93 203 39 59
www.hsjdbcn.org /
www.guiametabolica.org

© Hospital Sant Joan de Déu. All rights reserved.