

ANA RITA TAVARES MONTEIRO MADAIL

**TESTES GENÉTICOS NO DIAGNÓSTICO E
MONITORIZAÇÃO DE DOENÇAS HUMANAS**

Orientador: Professor Doutor João Guilherme Costa

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias de Lisboa

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2020

ANA RITA TAVARES MONTEIRO MADAIL

TESTES GENÉTICOS NO DIAGNÓSTICO E MONITORIZAÇÃO DE DOENÇAS HUMANAS

Dissertação defendida em provas públicas na
Universidade Lusófona de Humanidades e
Tecnologias, no dia 26 de março de 2021, perante
o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação
Nº265/2020 de 10 de Novembro de 2020, com a
seguinte a composição:

Presidente: Prof. Doutor Luís Monteiro Rodrigues
Arguente: Prof. Doutor Nuno Saraiva
Orientador: Prof. Doutor João Guilherme Costa
Vogais: Prof. Doutora Ana Mirco (Especialista ULHT)
e Prof. Doutora Dulce Santos (Especialista ULHT)

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias de Lisboa

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2020

Dedicatória

Dedico esta dissertação e todo o meu percurso académico ao meu irmão, aos meus pais e aos meus avós, sobretudo a ti, minha querida avó. Sem o vosso apoio e motivação não teria sido possível alcançar a conquista, deste grande e desafiante objetivo.

Obrigada por todo o vosso esforço e pelas forças, que eram vossas e se tornaram minhas; por terem amparado todas as minhas quedas; por tornarem possíveis todas as minhas conquistas.

Agradecimentos

O meu sincero agradecimento e reconhecimento ao Professor Doutor João Guilherme Costa por ter proporcionado a oportunidade de aprofundar este tema, e por toda a sua disponibilidade, sabedoria, motivação, que foram imprescindíveis para desenvolver as competências necessárias em todas as fases do trabalho.

Às minha amigas, um enorme agradecimento pela força e carinho, e por terem estado sempre ao meu lado, desde o início do percurso, e sem as quais não teria sido o mesmo.

Agradeço aos meus avós Cidália e António pela oportunidade de formação, paciência e apoio incondicional em todas as dificuldades. Obrigado, pai, mãe, maninho, avó e avô, por todo o carinho, compreensão, preocupação e, sobretudo, por terem acreditado sempre em mim.

Resumo

Os avanços na área genética, permitiram que os testes genéticos se tornassem numa ferramenta clínica com enorme potencial no diagnóstico e monitorização de doenças, sendo expectável, que estes constituam o futuro da medicina personalizada. A realização do presente trabalho pretende, demonstrar a importância dos testes genéticos na prática clínica, bem como, a contribuição da profissão farmacêutica na sua aplicação, e ainda aferir a literacia relativamente aos testes genéticos na população portuguesa sobre este tema.

No que respeita à metodologia, realizou-se uma análise da literatura científica, recorrendo ao PubMed e ao Google Scholar. Posteriormente, realizou-se um questionário anónimo e confidencial, a fim de determinar o grau de literacia da população em genética.

Os resultados mostraram que as habilitações académicas estão diretamente relacionadas com o conhecimento revelado. Verificou-se ainda, que a maioria dos inquiridos revelou conhecimentos razoavelmente elevados, demonstrando maior interesse na sua utilização. Os participantes consideraram a possibilidade de a interpretação dos resultados ser falível, e evidenciaram ainda preocupações deontológicas.

Esta dissertação destacou, inequivocamente, o impacto da componente genética nas doenças humanas, como as demais inovadoras aplicações no diagnóstico e monitorização. Em suma, a aplicação do conhecimento, relativo às tecnologias de diagnóstico genéticas pode oferecer melhorias na saúde pública e na inclusão do farmacêutico na medicina personalizada.

Palavras-chave: Testes Genéticos, Medicina Personalizada, Diagnóstico, Monitorização, Farmacêutico.

Abstract

Advances in the genetic field have allowed genetic tests to become a clinical tool with enormous potential in the diagnosis and monitoring of diseases, and it is expected that these will constitute the future of personalised medicine. This study aims to demonstrate the importance of genetic tests in clinical practice, as well as the contribution of the pharmaceutical profession in their application, and also to assess literacy in relation to genetic tests in the Portuguese population on this subject.

Regarding the methodology, an analysis of the scientific literature was carried out using PubMed and Google Scholar. Subsequently, an anonymous and confidential questionnaire was performed in order to determine the degree of literacy of the population in genetics.

The results showed that academic qualifications are directly related to the knowledge revealed. It was also found that the majority of respondents showed reasonably high knowledge, showing greater interest in its use. The participants considered the possibility that the interpretation of the results was fallible and also demonstrated deontological concerns.

This dissertation clearly contrasts the impact of the genetic component on human diseases, like the other innovative applications in diagnosis and monitoring. In short, the application of knowledge on genetic diagnostic technologies can offer improvements in public health and in the inclusion of the pharmacist in personalized medicine.

Keywords: Genetic Tests, Personalized Medicine, Diagnosis, Monitoring, Pharmacist.

Abreviaturas, Siglas e Símbolos

17- OHP - Alfa-hidroxiprogesterona 17

AACP - Associação Americana de Faculdades de Farmácia

ADRB2 - Gene que codifica o recetor Adrenérgico Beta 2

APC - Gene que codifica a polipose coli adenomatosa

APOE - Gene que codifica a proteína apolipoproteína E

AR - Gene que codifica o recetor de androgénio

bp - Par de bases

BRCA1 - Gene que codifica a proteína BRCA1

BRCA1 - Gene supressor tumoral que codifica a proteína BRCA1

BRCA2 - Gene supressor tumoral que codifica a proteína BRCA2

BRIP1 - Gene que codifica a proteína do grupo J da anemia de Fanconi

BTK - Gene que codifica a proteína Bruton Tirosina Quinase

CAP - Colégio Americano de Patologia

CAPN10 - Gene que codifica a proteína Calpain-10

CCR - Cancro Colorretal

CDH1 - Gene que codifica a caderina-1 (CAM 120/80)

CE - Certificado de conformidade obrigatória para produtos comercializados no Espaço Económico Europeu

CfDNA - DNA livre circulante

CFTR - Gene que codifica a proteína do canal iónico da classe transportadora ABC

CFTR - Gene que codifica o regulador transmembranar condutor da fibrose quística

CH - Hipotireoidismo congénito primário

CLIA - *Clinical Laboratory Improvement Amendments*

CLU - Gene que codifica a proteína Clusterin

CNBP - Gene que codifica a proteína de ligação celular ao ácido nucleico

COL4A5 - Gene que codifica o colagénio tipo IV

CR1 - Gene que codifica o recetor de complemento tipo 1

CTC - Células tumorais circulantes

CtDNA - DNA tumoral circulante

CTNNB1 - Gene que codifica a Beta-Catenina

DGPI - Diagnóstico Genético pré-implantacional

DGS - Direção Geral de Saúde

DM1 - Gene que codifica a Distrofia Miotónica tipo 1

DMD - Gene que codifica a proteína Distrofina

DMPK - Gene que codifica a miotonina proteína quinase

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

dNTPs - Desoxirribonucleotídeos Fosfatados

DPOC - Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica

DTC - Testes diretos ao consumidor
E. Coli - Bactéria Escherichia Coli
EGFR - Recetor do fator de crescimento epidérmico
EPCAM - Molécula de adesão celular epitelial
ESR1 - Recetor de estrogénio 1
EUA - Estados Unidos da América
F8 - Gene que codifica o fator de coagulação VII
F9 - Gene que codifica o fator de coagulação IX
FQ - Fibrose Quística
FDA - *Food and Drug Administration*
FGFR3 - Gene que codifica o recetor 3 do fator de crescimento dos fibroblastos
FHIT - Gene que codifica a proteína tríade histidina frágil
FMR1 – Gene que codifica a proteína humana FMRP
GALE - Gene que codifica a epimerase
GALK1 - Gene que codifica a enzima galactoquinase
GALT - Gene que codifica a enzima galacto-1-fosfato uridiltransferase
GALT - Gene que codifica a enzima galactose-1-fosfato uridiltransferase
GCGR - Gene que codifica o recetor Glucagon, GLR
HAC - Hiperplasia adrenal congénita
HBA - Gene que codifica a hemoglobina alfa
HER2 - Gene do receptor-2 do fator de crescimento epidérmico humano
HTT - Gene que codifica a proteína Huntingtina
IL13 - Gene que codifica a proteína interleucina IL-13
IL4 - Gene que codifica a proteína interleucina IL4
ISCTE - Instituto Universitário de Lisboa
ISEL - Instituto Superior de Engenharia de Lisboa
KB - Kilo Byte
LEPR - Gene que codifica o recetor da leptina LEP-R
MB - Mega byte
MCC - Gene que codifica a proteína do cancro mutante colorretal
MLH1 - Gene que codifica a proteína multL homolog 1
MLH1 - Gene que codifica a proteína Mutl homólogo 1
MLH2 - Gene que codifica a proteína MutS Homolog 2
MSH2 - Gene que codifica a proteína de reparo de incompatibilidade de DNA Msh2
MSH6 - Gene que codifica a proteína Msh6
MSI - Instabilidade de Microsatélites
NA - Não aplicável
NGS - Sequenciação de Segunda Geração
NIC - Instabilidade cromossômica
NIH - *National Institutes of Health*

NOWO - Empresa de telecomunicações portuguesa
ORMDL3 - Gene que codifica a proteína ORML3
PAH - Gene que codifica a enzima fenilalanina hidroxilase
PAH - Gene que codifica a enzima fenilalanina hidroxilase
PCR - Reação em cadeia da polimerase
pH - Potencial de Hidrogénio
PICALM - Gene que codifica a proteína PICAL
PKU - Fenilcetonúria
PMS2 - Gene que codifica a endonuclease de reparo incompatível PMS2
PPAR - Gene que codifica os recetores ativados de peroxissoma
PS1 - Gene que codifica a proteína S182
PTEN - Gene que codifica a homofosfatase e tensina
PwC - *PricewaterhouseCoopers*
RAD51C - Gene que codifica a proteína RAD51C
RAD51D - Gene que codifica a proteína RAD51D
RCF - Força centrífuga relativa
RE - Recetor de estrogénio
RE - Recetor de estrogénio
RET - Gene que codifica o recetor tirosina quinase
RP - Recetor de progesterona
RTP - Rádio e Televisão de Portugal
SERPINA 1 - Gene que codifica a alfa 1 antitripsina
SLC2A2 - Gene que codifica a proteína GTR2
SMA1 - Gene que codifica a proteína SMN
SMN1 e *SMN2* - Gene que codifica a proteína SMN
SMRT - *Single Molecule Real -Time Sequencing*
SNP- Polimorfismo de Nucleotídeo Único
STK11 - Gene que codifica a enzima tirosina quinase
T790M - Mutação no recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR)
Tb - Terabyte
TCF7L2 - Gene que codifica o fator de transcrição 7
TERT - Transcriptase reversa de telomerase
TKIS - Inibidor de tirosina-quinase
TP53 - Gene que codifica a proteína tumoral p53
TRC8 - Gene que codifica a *Ring Finger Protein* (RNF139)
TSH - Hormona estimulante da tiroide
TUR - Ressecção Transuretral
UCP2 - Gene que codifica a proteína de desacoplamento mitocondrial 2 UCP2
UCP3 - Gene que codifica a proteína de desacoplamento mitocondrial 3 UCP3
USD - Dólar dos Estados Unidos da América

Índice Geral

Introdução.....	12
1. Aspectos gerais dos testes genéticos.....	15
1.1. Sequenciação do genoma humano e o aparecimento dos testes genéticos.....	15
1.2. Evolução das técnicas laboratoriais de análise genética.....	16
1.3. Patologias que recorrem aos testes genéticos no seu diagnóstico e monitorização.....	22
1.3.1. Doenças genéticas associadas a anomalias cromossómicas.....	22
1.3.2. Doenças genéticas mendelianas ou monogénicas.....	24
1.3.3. Doenças genéticas multifatoriais ou multigénicas.....	26
1.4. Categorias dos testes genéticos.....	28
1.4.1. Teste de rastreio pré-natal	28
1.4.2. Testes de rastreio neonatal	29
1.4.3. Testes de diagnóstico.....	30
1.4.4. Testes tipo portador	32
1.4.5. Testes de diagnóstico pré-implantacional.....	33
1.4.6. Teste preditivo ou pré-sintomático	34
1.5. Vantagens e limitações da utilização dos testes genéticos na prática clínica.....	35
1.6. Condições clínicas com elegibilidade para a realização de testes genéticos.....	37
1.7. Questões éticas e legais.....	39
2. Inovação dos testes genéticos e o seu contributo na prática clínica.....	44
2.1. Teste genético de diagnóstico precoce Septina 9.....	44
2.2. Teste genético de suscetibilidade Guardant 360	53
2.3. Teste genético de monitorização Uromonitor.....	62
2.4. Contributo dos testes genéticos na prática farmacêutica.....	68
3. Questionário sobre o conhecimento populacional acerca dos testes genéticos.....	73
3.1. Objetivos do estudo experimental.....	73
3.2. Metodologia do estudo	74
3.2.1. Identificação da população alvo em estudo.....	74
3.2.2. Procedimento aplicado na recolha de dados.....	74
3.2.2. Composição do questionário.....	75
3.2.2. Tratamento dos dados.....	76
3.3. Apresentação dos resultados.....	77
3.4. Discussão dos resultados.....	84
Conclusão e perspetivas futuras.....	87
Referências bibliográficas.....	89
Apêndices.....	97
Apêndice I	97

Índice de Tabelas

Tabela 1. Acontecimentos mais relevantes do projeto de sequenciação do genoma humano.....	16
Tabela 2. Resumo das principais características das três gerações de sequenciação.....	21
Tabela 3. Exemplos de doenças cromossômicas diagnosticadas por testes genéticos.....	23
Tabela 4. Exemplos de doenças mendelianas diagnosticadas por testes genéticos.....	25
Tabela 5. Exemplos de doenças multifatoriais diagnosticadas por testes genéticos.....	27
Tabela 6. Principais patologias genéticas pertencentes ao plano de rastreio neonatal.....	30
Tabela 7. Critérios que justificam a elegibilidade para a prescrição do teste genético diagnóstico.....	31
Tabela 8. Aplicações clínicas da realização de testes tipo diagnóstico.....	31
Tabela 9. Exemplos de patologias usualmente testadas na realização do teste de portador.....	32
Tabela 10. Etapas do procedimento de diagnóstico genético pré-implantacional.....	33
Tabela 11. Critérios de elegibilidade no diagnóstico genético pré-implantacional.....	34
Tabela 12. Exemplos de doenças testadas em testes preditivos.....	34
Tabela 13. Principais limitações dos métodos convencionais de rastreio ao cancro do cólon-retal.....	49
Tabela 14. Etapas laboratoriais do teste SEPTINA9.....	51
Tabela 15. Interpretação dos resultados do teste SEPTINA9.....	52
Tabela 16. Etapas laboratoriais do teste Guardant360.....	59
Tabela 17. Etapas laboratoriais do teste Uromonitor.....	66
Tabela 18. Resumo das principais diferenças entre os três testes genéticos.....	67

Índice de Figuras

Figura 1 - Sequência de DNA.....	15
Figura 2 - Diagrama das fases evolutivas do cancro do cólon- retal.....	44
Figura 3 - Incidência e mortalidade do cancro em Portugal e no Mundo.....	45
Figura 4 - Localização cromossômica do gene SEPT9 no cromossoma 17.....	46
Figura 5 - Esquema resumo do procedimento daSeptina9.....	52
Figura 6 - Imagem relativa à listagem das alterações genômicas detetadas pelo Guardant360.....	56
Figura 7 - Base científica do Guardant 360.....	58
Figura 8 - Resumo esquemático do procedimento de realização do Guardant360.....	60
Figura 9 - Exemplo de relatório clínico do Guardant360.....	61
Figura 10 - Diagrama das fases do cancro da bexiga.....	62
Figura 11 - Imagem ilustrativa da realização de uma cistoscopia.....	63
Figura 12 - Procedimento de filtração da amostra.....	66
Figura 13 - Acondicionamento dos filtros recolhidos.....	66
Figura 14 - Procedimento clínico da realização do Uromonitor.....	67
Figura 15 - Conteúdo do kit do UNODNAtrust.....	70
Figura 16 - Representação gráfica da distribuição da amostra entre o género feminino masculino...77	77
Figura 17 - Representação gráfica da distribuição da amostra por faixa etária dos 15-85 anos.....77	77
Figura 18 - Representação gráfica da distribuição da amostra por habilitações académicas superiores e não superiores.....78	78
Figura 19 - Representação gráfica da distribuição da amostra por área de estudo em três grupos; área da saúde farmácia, área de saúde outras áreas e ainda outras áreas de estudo.....78	78
Figura 20 - Frequências de respostas.....79	79
Figura 21 - Percentagem de respostas corretas às questões 7.,8.,9. e 11. relativas ao conhecimento científico em genética.....80	80
Figura 22 - Relação entre os inquiridos que responderam corretamente a todas as questões de conhecimento com as habilitações académicas e área de estudo.....81	81
Figura 23 - Representação gráfica dos inquiridos que possuíam uma perceção real do custo do custo dos testes genéticos demonstrada na questão 10. com as suas habilitações académicas e a área de estudo.....81	81
Figura 24 - Relação entre os inquiridos que responderam corretamente a todas as questões de conhecimento com as respostas à questão 12. relativa à falibilidade dos testes genéticos.....82	82
Figura 25 - Relação entre as habilitações académicas e a área de estudo dos inquiridos que na questão 13. concordaram com a aquisição de testes genéticos pela internet.....83	83
Figura 26 - Correlação entre os inquiridos que responderam corretamente a todas as questões de conhecimento com a sua opinião na questão 14. relativamente à realização de testes genéticos como forma de diagnóstico precoce.....83	83

Introdução

A presente dissertação, intitulada 'Os testes genéticos no diagnóstico e monitorização de doenças', insere-se no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias de Lisboa. A sua elaboração teve como objetivo, demonstrar a importância dos testes genéticos na prática clínica, bem como a sua contribuição para a profissão farmacêutica, assim como aferir o grau de conhecimento da população portuguesa quanto ao tema, tendo em conta a sua opinião e posição deontológica. A literacia, neste âmbito, constitui uma ferramenta essencial para ultrapassar alguns dos entraves da implementação dos referidos testes na prática clínica, para a sua aceitação, e ainda para que exista uma procura responsável por parte da comunidade. Apenas, deste modo, poderemos refletir sobre a possível implementação dos testes genéticos, no contexto das farmácias comunitárias em Portugal.

A definição de testes genéticos não é universalmente consensual. Estes podem ser definidos, como testes que identificam os indivíduos com ou em risco de desenvolver um distúrbio genético (Pagon, Hanson, Neufeld-Kaiser, & Covington, 2001). Os testes genéticos podem ser úteis em diferentes fases da vida e permitem detetar inúmeros distúrbios: anomalias cromossómicas; mutações monogénicas; mutações multifactoriais, com base genética, que estão na etiologia de múltiplas doenças humanas, como por exemplo doenças mentais degenerativas, diabetes e o cancro (Meng, 2005).

A realização dos testes genéticos, depende da utilização de técnicas laboratoriais para analisar o RNA, o DNA ou os cromossomas da amostra recolhida. A descoberta do impacto da componente genética na etiologia de múltiplas doenças, originou o aumento da procura e da realização de sequenciações genómicas. Esse impacto desencadeou a implementação de novas técnicas de sequenciação na área da genómica, o que, por sua vez, levou à procura de novas técnicas mais rápidas, económicas, e com maior capacidade de análise, visando-se assim uma sequenciação com alta taxa de rendimento. Em resposta a essa necessidade, surgiram as novas técnicas de sequenciação de segunda geração e, posteriormente, de terceira geração, que têm a capacidade de sequenciar milhares de milhões de fragmentos simultaneamente (Kremer, 2019; Neosprospecta microbiome technologies, 2016; Rohde et al., 2005).

O surgimento do projeto do Genoma Humano, possibilitou a sequenciação completa do genoma humano e, conseqüentemente, introduziu a realização dos testes genéticos, que vieram facilitar o diagnóstico de certas patologias, bem como a realização de planos de monitorização e tratamento personalizados para cada doente. A sua aplicação tem tido um grande impacto na prática clínica para o diagnóstico e monitorização de doenças, contribuindo

cada vez mais para o futuro da medicina personalizada (Goldfeder, Wall, Khouury, Ioannidis, & Ashley, 2017; Kremer, 2019; Rohde et al., 2005).

No setor farmacêutico, a formação em genética, e consequente aplicação dos testes genéticos, vão transformar a prática farmacêutica em diversos setores, permitindo assim uma maior diferenciação do papel do farmacêutico (Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018).

No que respeita à metodologia deste trabalho, procedeu-se primeiramente a uma revisão da literatura sobre o tema. A pesquisa bibliográfica teve a sua base, nos dados do PubMed, a consulta de alguns artigos do Google Scholar e várias páginas na web relacionados, com o assunto em estudo. Da metodologia, fez igualmente, parte a elaboração e a aplicação de um questionário na população portuguesa, cujos resultados foram analisados e tratados.

O interesse pessoal por esta temática surgiu desde cedo, com as unidades curriculares de Genética humana e de Farmacogenómica, que também forneceram as competências necessárias para abordá-la. Trata-se de um tema atual, inserido numa área da ciência em elevado crescimento exponencial, e que tem vindo a revelar o potencial contributo da sua aplicação para a melhoria da qualidade e da esperança de vida dos doentes, bem como para o futuro da medicina personalizada, sendo igualmente relevante a questão do impacto que poderá vir a ter na prática farmacêutica, no futuro.

Na presente dissertação, esta temática será desenvolvida em três capítulos. No primeiro, serão abordados alguns aspetos gerais dos testes genéticos, nomeadamente, o seu aparecimento, a evolução das técnicas de sequenciação, os tipos de alterações genéticas e doenças associadas, os critérios de elegibilidade à sua realização, bem como os fatores a considerar, antes da mesma, e todas as suas implicações éticas, morais e legais. Em seguida, no segundo capítulo, serão abordados três exemplos de testes genéticos inovadores, com diferentes aplicações clínicas na área da oncologia, e com enorme relevância para a evolução da medicina personalizada. Desenvolver-se-á, em primeiro lugar, o teste genético de rastreio precoce do cancro colorretal não invasivo, o Septina9, passando-se, de seguida, ao teste genético de suscetibilidade, o Guardant 360, que se trata de uma biópsia líquida que caracteriza o perfil genético do tumor sólido em análise (Circulante, 2016; Mathai et al., 2019). Seguidamente, como exemplo de um teste genético de monitorização, será abordado o Uromonitor, indicado como um inovador método complementar na monitorização de recidivas em doentes sob vigilância do cancro da bexiga não muscular invasivo (Alvi, Wilson, & Salto-Tellez, 2017; Ipatimup, 2018).

Por último, ainda no segundo capítulo, estabelecer-se-á o elo de ligação entre o tema e as ciências farmacêuticas, abordando-se ainda o papel que o farmacêutico assumirá nesta prática. Refletir-se-á assim acerca da contribuição dos testes genéticos na prática clínica farmacêutica, mais especificamente, da sua implementação no contexto da farmácia comunitária como um novo serviço farmacêutico. O último capítulo tem como finalidade apresentar e discutir os resultados obtidos, a partir da realização de um questionário para a avaliação do conhecimento populacional acerca de testes genéticos, bem como para aferir a sua opinião relativamente à utilidade da sua aplicação no diagnóstico e monitorização de doenças. Este foi o percurso escolhido, uma vez que, para uma utilização dos testes genéticos mais segura e eficaz na prática clínica, surge a necessidade da existência de uma população mais esclarecida e de profissionais de saúde mais preparados. A consciência da necessidade de acompanhamento e de aconselhamento profissional, para a sua realização e interpretação é igualmente importante. A relevância deste questionário reside, precisamente, na possibilidade de obter informações acerca do conhecimento evidenciado pela população, relacionando-o com as suas características sociodemográficas.

1. Aspetos Gerais dos Testes Genéticos

1.1. Sequenciação do Genoma Humano e o aparecimento dos testes genéticos

O Projeto Genoma Humano, foi iniciado em 1990, e teve como principais objetivos a identificação e sequenciação de todos os genes humanos (Green,E.D.,Watson,J.D.,&Collins, 2015).

Este projeto teve um custo total de cerca de 3 mil milhões de dólares, e foi coordenado pelo departamento de energia dos EUA e por vários institutos internacionais, como o *National Institutes of Health* (NIH). Os responsáveis acreditavam que a identificação das sequências genéticas iria ajudar no estudo de doenças humanas, bem como no desenvolvimento de novas tecnologias de pesquisa e métodos computacionais (Green,E.D.,Watson,J.D.,&Collins, 2015; U.S. Department of energy office of science, 2003).

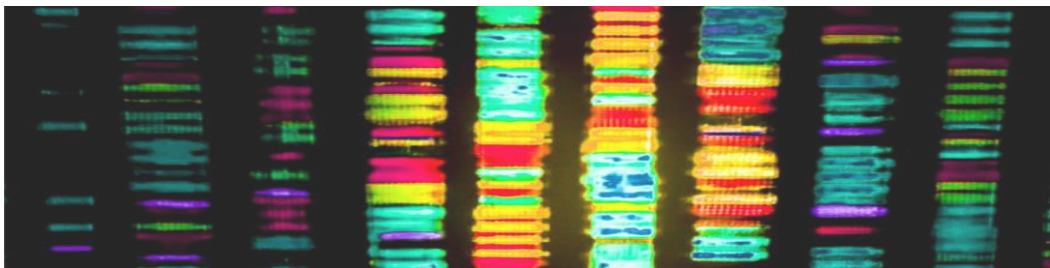


Figura 1 - Sequência de DNA, adaptado de (Giotto, 2003).

O primeiro rascunho da sequenciação do genoma humano foi publicado em 2001 e com ele surgiram centenas de artigos científicos com uma análise mais exata da sequência genómica final (U.S. Department of energy office of science, 2003).

Os objetivos mais relevantes, que permitiram a conclusão deste processo, incluíram a identificação de 25 000 genes do DNA humano, a descoberta de sequências nucleotídicas dos 3 mil milhões de pares de bases químicas que compõem o DNA humano, o armazenamento de dados de sequenciação obtidos, a melhoria das ferramentas de análise de dados, a abordagem das questões éticas e legais que surgiram ao longo de todo o projeto e a identificação das variações individuais do genoma humano (Green,E.D., Watson,J.D.,&Collins, 2015; U.S. Department of energy office of science, 2003).

A descoberta das variações no genoma humano originou a necessidade de delinear mais objetivos, dos quais se destacam: tecnologias de identificação em larga escala de polimorfismo de nucleotídeo único; identificação de variantes comuns nas regiões codificadoras para a maioria dos genes já identificados; criação de um mapa SNP com pelo menos 100 000 marcadores, assim como a criação de bases inteligentes para estudos futuros

de variação genética (Green,E.D.,Watson,J.D.,&Collins, 2015; U.S. Department of energy office of science, 2003).

Tabela 1. Acontecimentos mais relevantes do projeto de sequenciação do genoma (Goldfeder et al., 2017).

Área do Estudo do Projeto	Objetivo Inicial	Resultado alcançado	Data da ocorrência
<u>Sequenciamento do DNA</u>	95% do sequenciamento do genoma humano ser obtido com uma taxa de precisão de 99,99%	99%do sequenciamento do genoma humano foi obtido com uma taxa de precisão de 99,99%	Abril de 2003
<u>Capacidade e custo da sequenciação completa</u>	Sequenciar 500 mb/ano por menos de 0,25 dólares por base acabada	Sequenciaram -se mais de 1400 mb/ano por menos de 0,09 dólares por base acabada	Novembro de 2002
<u>Variações do genoma humano</u>	100.000 SNPs mapeados	3,7 milhões de SNPs foram mapeados	Fevereiro de 2003

Legenda: DNA – Ácido Desoxirribonucleico, mb - megabyte, SNPs – Polimorfismos de Nucleotídeo único

O impacto da componente genética na etiologia de múltiplas doenças desencadeou o aparecimento de uma investigação mais aprofundada, e a implementação de novas técnicas de sequenciação na área da genómica. Nessas múltiplas doenças, incluem-se o cancro, a diabetes e algumas doenças mentais degenerativas. A possibilidade de determinação das sequências de genes individuais ou da totalidade do genoma humano, veio facilitar o diagnóstico de certas patologias, bem como a realização de planos de tratamento e monitorização mais personalizados (Goldfeder et al., 2017).

1.2. Evolução das técnicas laboratoriais de análise genética

As tecnologias de sequenciação, que permitem um melhor entendimento do genoma de vários organismos, associadas às ferramentas computacionais para análise e interpretação de dados, constituem elementos imprescindíveis ao desenvolvimento de diversas áreas, como a genómica funcional, a transcriptómica, a oncologia, a biologia evolutiva e as ciências forenses (Kremer, 2019; Neosprospecta microbiome technologies, 2016; Rohde et al., 2005).

As técnicas de sequenciação têm permitido, atualmente, diversas alternativas de diagnóstico, e consequentemente a obtenção de tratamentos personalizados com resultados terapêuticos mais eficazes em doenças como o cancro, doenças infecciosas e algumas

desordens genéticas hereditárias (Kremer, 2019; Neosprospecta microbiome technologies, 2016; Rohde et al., 2005).

Sequenciação de 1.^a Geração

A primeira geração de métodos de sequenciação constitui o início da era das tecnologias de sequenciação e estabeleceu as bases, nas quais as gerações seguintes se desenvolveram. Nesta primeira geração, destacam-se o Método de Maxam-Gilbert e o Método de Sanger, mais conhecido, ambos descritos pela primeira vez em 1977 (Heather & Chain, 2016; Kremer, 2019; Neosprospecta microbiome technologies, 2016; Rohde et al., 2005).

O Método de Sanger foi desenvolvido pelo bioquímico britânico Frederick Sanger e foi amplamente utilizado no Projeto Genoma Humano. Esta técnica passou por diversas melhorias desde a sua criação, tendo sofrido um grande avanço devido ao uso da eletroforese capilar, na qual os fragmentos gerados durante a sequenciação são percorridos por capilares, facilitando a análise dos mesmos por detetores eletrónicos (Heather & Chain, 2016; Kremer, 2019; Neosprospecta microbiome technologies, 2016; Rohde et al., 2005).

Sequenciação de 2.^a Geração

O aumento do recurso à realização de sequenciações levou, consequentemente, à procura de novas técnicas mais rápidas, económicas e com maior capacidade de análise, visando-se assim uma sequenciação com alta taxa de rendimento. Em resposta a essa necessidade, surgiram, posteriormente, as novas técnicas de sequenciação de segunda geração; novas plataformas de sequenciação, que têm a capacidade de sequenciar milhares de milhões de fragmentos simultaneamente. Estas plataformas apresentam um alto rendimento face ao investimento económico versus tempo de resposta do sequenciamento (Goldfeder et al., 2017; Heather & Chain, 2016; Neosprospecta microbiome technologies, 2016).

O aparecimento da sequenciação de segunda geração, também conhecido por NGS foi decisivo para o cumprimento do prazo previamente estabelecido para a finalização do Projeto Genoma Humano. As principais vantagens da NGS face à 1.^a geração, incluem a redução no tamanho das leituras geradas, a redução no tempo e no custo de sequenciação por base, a possibilidade de gerar milhões de sequências de leitura em paralelo e ainda uma diminuição considerável do volume de reagentes por reação (Heather & Chain, 2016; Neosprospecta microbiome technologies, 2016).

Integram as técnicas de sequenciação de segunda geração a Heliscope, o Solid, a Ion Torrent e a Illumina/Solexa, cujos principais aspetos serão brevemente descritos de seguida.

1. Heliscope

A técnica de 'sequenciação fluorescente de molécula única' foi desenvolvida pela HelicesBiosciences (Heather & Chain, 2016; Neosprospecta microbiome technologies, 2016). O seu processamento engloba as seguintes etapas: fragmentação de DNA; ligação de sequências homopoliméricas nas suas extremidades para fixar os fragmentos em placa de vidro; processo de sequenciação por adição de dNTPs de base específicos e a enzima polimerase; deteção de cada molécula pela presença do sensor a partir da interação do laser com o fluoróforo adicionado (Heather & Chain, 2016; Neosprospecta microbiome technologies, 2016).

No entanto, a sua comercialização não vingou, devido ao custo elevado dos reagentes necessários para a sequenciação, à incapacidade de leitura de maiores dimensões, e ainda, ao facto de se tratar de uma metodologia de sequenciamento extremamente demorada (Heather & Chain, 2016; Neosprospecta microbiome technologies, 2016).

2. Solid

O ABI SOLiD surgiu em meados de 2005 e realiza um sequenciamento por síntese, ligação e deteção de oligonucleotídeos. Este pertence à empresa Applied Biosystems e tem uma metodologia, que se baseia na sequenciação por adição de enzima de ligação, para a identificação das bases presentes em cada fragmento de DNA por deteção da emissão da fluorescência (Heather & Chain, 2016; Kremer, 2019).

As etapas do processamento englobam: fragmentação de DNA e ligação dos adaptadores para ligação aos beads; realização do PCR; sequenciação por hibridização de sondas com incorporação da enzima ligase; clivagem com libertação do fluoróforo; deteção das bases por fluorescência (Heather & Chain, 2016; Kremer, 2019). O Solid produz uma velocidade de sequenciação bastante elevada, mas apresenta leituras de tamanho curto, sendo o seu processo de montagem, após a fragmentação, muito complexo (Kremer, 2019).

3. Ion Torrent

O Ion Torrent é a técnica de sequenciação de transição da segunda para a terceira geração. Surgiu em 2010, pela empresa Life Technologies, e a sua técnica de sequenciamento baseia-se na formação de ligações covalentes em cadeia de DNA em crescimento catalisada através da DNA polimerase (Kremer, 2019; Rohde et al., 2005).

A grande diferença desta técnica reside na amplificação que ocorre quando são inseridos os dNTPs. No caso de ocorrer ligação dos dNTPs, ocorre a libertação de iões H⁺, cuja variação de pH vai ser detetada a partir dos microsensores de pH. Estes sensores, por sua vez, vão registar qualquer alteração existente com o intuito de determinar a sequência genética final (Kremer, 2019; Rohde et al., 2005).

4. Illumina/Solexa

Esta tecnologia surgiu a meados dos anos 90 e foi desenvolvida pela empresa Illumina (Rohde et al., 2005). A técnica de sequenciação Illumina tem a capacidade de produzir até cerca de 60 milhões de leituras com um comprimento de leitura médio de aproximadamente 50 bases numa só execução. Assim, a sua enorme capacidade de gerar grandes quantidades de dados num menor tempo e com custo inferior constitui a sua grande vantagem, comparativamente às restantes técnicas de NGS (Kremer, 2019; Rohde et al., 2005).

No ano de 2006, foi lançado o primeiro sequenciador comercial. A sua metodologia de sequenciação abrangia diferentes valores de dados processados, com diferentes tamanhos de leitura, bem como divergentes modelos de equipamentos. De entre a diversidade de tipos de sequenciações com a tecnologia Illumina destacam-se os seguintes: Miseq, com uma utilização mais direcionada para o estudo de genomas microbianos que apresenta maior capacidade de leitura, mas uma menor velocidade de dados obtidos; e o Hiseq cuja utilização é mais direcionada para estudos do exoma e do RNA (Kremer, 2019; Rohde et al., 2005).

Atualmente, a Illumina, ainda domina o mercado da sequenciação de alta precisão a nível académico e na indústria do diagnóstico molecular, pela sua diversidade de ferramentas e protocolos gerados por este equipamento (Kremer, 2019; Rohde et al., 2005).

No entanto, a partir de 2007, a comercialização da tecnologia de segunda geração sofreu uma quebra considerável na sua comercialização, devido à sua considerável taxa de

erro e ao elevado tempo de resposta para a sequenciação de fragmentos de maiores dimensões (Heather & Chain, 2016; Neosprospecta microbiome technologies, 2016).

Sequenciação de 3.^a Geração

A terceira geração surge da necessidade de colmatar as principais limitações existentes nas tecnologias de sequenciação da geração anterior, procurando dar resposta às seguintes necessidades: a facilidade na execução de amostras, a diminuição no tempo do processo de sequenciação, a maior possibilidade de automação, a capacidade de maiores comprimentos de leitura, uma análise precisa de amostras de DNA mais complexas e ainda a diminuição no custo por base sequenciada para obtenção de uma sequenciação com melhor rendimento (Kremer, 2019; Rohde et al., 2005).

O PacBio – SMRT e a Oxford Nanopore são duas técnicas de sequenciação desta geração. Seguidamente, encontram-se descritos os principais aspetos que os caracterizam.

1. PacBio – SMRT

O sequenciamento por SMRT, *Single Molecule Real-Time Sequencing*, foi desenvolvido pela Pacific Biosciences, e posteriormente incorporado pela empresa Illumina (Heather & Chain, 2016; Neosprospecta microbiome technologies, 2016; Rohde et al., 2005).

Esta técnica engloba as seguintes etapas de sequenciação: a fragmentação do DNA; circularização do DNA; sequenciação em nano-poço; incorporação de nucleotídeos; deteção da luz emitida como resultado da incorporação de nucleotídeos com deteção em tempo real a reação da enzima, bem como a velocidade com que realiza a incorporação (Heather & Chain, 2016; Neosprospecta microbiome technologies, 2016; Rohde et al., 2005).

A grande inovação desta técnica de sequenciação, deve-se à sua capacidade de realizar sequenciação em tempo real com tamanho de leitura até aos 20 KB. E, devido aos seus sensores, é extremamente relevante a sua utilização na deteção de alterações epigenéticas, como metilações em bases específicas (Neosprospecta microbiome technologies, 2016; Rohde et al., 2005).

2. Oxford Nanopore

O Oxford Nanopore é o primeiro sequenciador portátil com uma tecnologia de sequenciação por nanoporos, e foi licenciado e comercializado pela empresa Oxford Nanopore, em 2008 (Heather & Chain, 2016; Kremer, 2019; Rohde et al., 2005).

A grande inovação desta tecnologia face às restantes está associada ao facto de não requerer a marcação, deteção de nucleotídeos ou amplificação por PCR (Heather & Chain, 2016; Kremer, 2019; Rohde et al., 2005). A sua tecnologia tem por base a leitura de variações

de corrente elétrica, conforme uma molécula de DNA atravessa o nanoporo, sendo possível identificar o tipo de nucleótico ligado com base nas diferentes resistências geradas (Heather & Chain, 2016; Kremer, 2019; Rohde et al., 2005).

Este equipamento já é considerado por muitos autores, como o princípio da 4.^a geração, devido às suas dimensões, portabilidade, mas também à robustez dos resultados gerados, tendo apenas como principal desvantagem, o seu custo, comparativamente às outras tecnologias de sequenciação (Heather & Chain, 2016; Kremer, 2019; Rohde et al., 2005).

O seu contributo em termos de aplicação na prática clínica é evidente, por exemplo, no estudo de alguns agentes patológicos, com especial destaque para a sequenciação do genoma do vírus Zika (Heather & Chain, 2016; Kremer, 2019; Rohde et al., 2005).

A Tabela 2., abaixo apresentada, resume as principais características dos diferentes métodos de sequenciação a ter em conta aquando da escolha da tecnologia de sequenciação mais adequada para uma determinada aplicação (Kremer, 2019; Rohde et al., 2005).

Tabela 2. Resumo das principais características das três gerações de sequenciação (Rohde et al., 2005).

Gera- ção	Técnica de sequenciação	Empresa	Custo por megaba- se (USD)	Custo de material de sequenciação (USD)	Comprimen- to de leitura (bp)	Tempo de execução	Rendimento	Precisão
1. ^a	Maxam Gilbert	NA	-	-	-	2 horas	Baixo	-
	Sanger	Applied Biosystem s	2400	95.000	800	3 horas	Baixo	99.99 %
2. ^a	SOLiD	Life Technologi es	~0.13	495.000	35	8-14 dias	Muito alto	99.94 %
	Genome Analyzer	Solexa, Illumina	~0.07	690.000	36	10 dias	Muito alto	+98.5 %
	Polonator	Dover	~1.00	155.000	13	8-10 dias	Alto	99,7 %
	HeliScope	Helicos Bioscience s	~1.00	1.350.000	30	7 dias	Alto	+ 99%
	Ion Torrent	DNA Electronics Ltd.	1.00	80.000	200-400	3 horas	Moderado	99.2 %
3. ^a	Pacific Bio RS	Pacific Bioscience s	0.13-0.6	695.000	1400	0,5- 2horas	Moderado	88.0 %
	Oxford Nanopore	Oxford Technologi es	-	750.000	Mais de 4 Tb	~48 horas	Muito alto	99.99 %

Legenda: NA- Não aplicável; USD – Dólar dos Estados Unidos da América; bp – Par de bases; Tb - Terabyte

1.3. Patologias que recorrem aos testes genéticos no seu diagnóstico e monitorização

O surgimento de doenças genéticas constitui um grave problema de saúde pública com elevado impacto social, devido à sua diversidade e complexidade. Estima-se que cerca de 5% da população europeia seja afetada e que, em Portugal, existam cerca de 500 000 mil pessoas portadoras de uma doença genética, embora desconheçam a sua condição («Serviço nacional de saúde», 2017).

Deste modo, torna-se indispensável a elucidação da população sobre a existência de doenças genéticas, permitindo assim uma maior procura de consultas de aconselhamento genético, nas quais se pode avaliar a extensão da doença, a sua etiologia genética, bem como permitir a realização de ações de rastreio de diagnóstico ou a prevenção precoce da patologia genética em questão («Serviço nacional de saúde», 2017).

As patologias genéticas, quanto à sua diversidade e etiologia genética, podem dividir-se em três principais categorias, a seguir tratadas.

1.3.1. Doenças genéticas associadas a anomalias cromossómicas

As anomalias cromossômicas podem afetar o número ou a estrutura dos cromossomas e representam um terço das anomalias congénitas mais comuns que ocorrem, ainda durante a fase inicial da gravidez. Estas podem ocorrer por falha do processo de divisão celular e são, na maior parte dos casos, responsáveis por abortos espontâneos (Alliance, 2009; Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018; Santos, Botelho, 2018).

As principais causas destas anomalias são os fatores ambientais e a idade da mãe. Contudo, existem casos em que as mesmas não se manifestam e podem ser transmitidas à descendência (Alliance, 2009; Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018; Santos, Botelho, 2018).

As anomalias cromossómicas podem ser resultantes de alterações a nível estrutural ou numérica, tal como é possível observar em seguida.

Anomalias Estruturais

Este tipo de anomalias causa uma alteração na morfologia do cromossoma e pode ser classificada em:

- deleções, em que parte do cromossoma é perdida;
- duplicações, em que há uma porção do cromossoma repetida;

- inversões, quando uma porção do cromossoma se separa, mas se une novamente de forma invertida;
- translocações, quando uma porção do cromossoma é transferida para um cromossoma não homólogo (Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018).

De um modo geral, as anomalias estruturais mais prejudiciais para a saúde humana são as deleções e as duplicações, porque envolvem perda de material genético, com consequente perda de funções fisiológicas, resultando, na grande maioria das situações, em manifestações clínicas severas (Alliance, 2009; Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018; Santos, Botelho, 2018).

Anomalias Numéricas – Aneuploidias

Estas anomalias são caracterizadas por um número anormal de cromossomas. Verifica-se, com mais frequência, neste grupo de anomalias a ocorrência de trissomia, ou seja, três cópias de um cromossoma, em comparação com a monossomia, na qual ocorre apenas uma cópia de um cromossoma (Alliance, 2009; Santos, Botelho, 2018).

A Tabela 3. reúne exemplos de doenças cromossómicas diagnosticadas por testes genéticos.

Tabela 3. Exemplos de doenças cromossómicas diagnosticadas por testes genéticos (Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018; Santos, Botelho, 2018).

Doença cromossómica	Mutação genética	Manifestações clínicas
<u>Síndrome de Down</u>	Cópia extra do cromossoma 21	Atraso mental e feições faciais características
<u>Síndrome de Patau</u>	Cópia extra do cromossoma 13	Malformações graves do sistema nervoso central, coração e alterações físicas nos olhos, palato e no tônus muscular
<u>Síndrome de Edwards</u>	Cópia extra do cromossoma 18	Atraso no crescimento fetal, anomalias cardíacas e noutros órgãos, e alterações físicas (pescoço curto, cabeça pequena, alongada e estreita) e incapacidade intelectual
<u>Síndrome do 'miado de gato'</u>	Deleção parcial do cromossoma 5	Desenvolvimento mental anormal, microcefalia e características físicas limitantes (mandíbula pequena, nariz largo, estrabismo)
<u>Síndrome de Prader-Willi</u>	Deleção parcial cromossoma 15	Deficiência intelectual leve a moderada, problemas comportamentais e obesidade

<u>Síndrome de Turner</u>	Monossomia do cromossoma X	As raparigas afetadas apresentam normalmente baixa estatura, amenorreia, atraso da puberdade e escoliose
<u>Síndrome do X frágil</u>	Mutação do gene <i>FMR1</i> no cromossoma X	Desenvolvimento retardado da linguagem, função motora, tônus muscular, alterações físicas (face mais alongada, testa larga, orelhas grandes e salientes) e características de autismo
<u>Síndrome de Klinefelter</u>	Cópia extra do cromossoma X (XXY)	Atrofia testicular, baixos níveis de testosterona, infertilidade, aumento de peso, aumento do risco do cancro da mama, discurso retardado e do desenvolvimento da linguagem

Legenda: *FMR1* – Codifica a proteína humana FMRP

1.3.2. Doenças Genéticas Mendelianas ou Monogénicas

Contrariamente às doenças cromossômicas, as monogénicas são caracterizadas por uma mutação num único gene, sendo estas de mais fácil identificação e interpretação. Estas doenças são transmitidas à descendência segundo as leis de Mendel, sendo por isso conhecidas por doenças Mendelianas (Finegold, David, 2017; Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018).

Dentro desta categoria, existem diversas subcategorias de anomalias genéticas com base nas variações da expressividade do gene em questão, isto é, se o gene precisa da expressão dos seus dois alelos, trata-se de uma doença autossómica recessiva; no caso de necessitar apenas de um alelo para se manifestar, estamos perante uma doença autossómica dominante (Finegold, David, 2017; Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018).

As subcategorias de doenças mendelianas classificam – se da seguinte forma:

Doenças Autossómicas Recessivas

Torna-se necessário que existam dois alelos mutados herdados pelos progenitores para se manifestar o fenótipo da doença. Em termos de hereditariedade, se ambos os progenitores forem heterozigóticos para a condição genética. Isto é, não manifestam fenotipicamente a doença, mas são portadores, um quarto dos seus descendentes poderá ser afetado (Finegold, David, 2017).

Doenças Autossómicas Dominantes

Torna-se apenas necessário herdar um alelo do gene mutante para se expressar fenotipicamente. Cada pessoa afetada geralmente tem um dos pais afetados caso, a probabilidade de um descendente herdar o gene mutante é de 50% (Finegold, David, 2017).

Doenças ligadas ao cromossoma X

Ocorrem quando o gene mutado se encontra no cromossoma X e, por sua vez, pode ser transmitido de forma recessiva ou dominante. De um modo geral, os homens são afetados com maior gravidade do que as mulheres (Finegold, David, 2017).

A tabela 4. demonstra, em seguida, alguns exemplos de doenças mendelianas representativas dos três subtipos de transmissão mendeliana abordados anteriormente.

Tabela 4. Exemplos de doenças mendelianas diagnosticadas por testes genéticos (Goldberg, Anne, 2018; Hamilton, Nina, 2018; Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018; Jaipaul, Navin, 2018b; Rubin, Michael, 2018)

	Mutação	Manifestação Clínica		Mutação	Manifestação Clínica
	<u>Hipercolesterolemia Familiar</u>	Gene <i>LDLR</i> Aumento dos níveis de colesterol total (CT) e (LDL), risco de aterosclerose e doenças coronárias		<u>Fibrose Quística</u>	Gene <i>CFTR</i> Doença pulmonar crónica, insuficiência pancreática crónica
	<u>Doença Poliquística renal</u>	Gene <i>PKD1</i> e <i>PKD2</i> Cistos renais, cálculos renais, insuficiência renal		<u>Deficiência de alfa1-antitripsina</u>	Gene <i>SERPINA 1</i> Cirrose, Carcinoma Hepatobiliar, DPOC
Doenças Autosómicas Dominantes	<u>Polipose Cólica Familiar</u>	Gene <i>APC</i> Hipertrofia congénita do epitélio pigmentado, quistos epidermóides, osteomas, adenomas suprarrenais, cancro do cólon-retal	Doenças Autosómicas Recessivas	<u>Fenilcetonúria</u>	Gene <i>PAH</i> Deficiência intelectual, perturbações cognitivas
	<u>Distrofia Miotónica</u>	Gene <i>DMPK</i> (DM1) e <i>CNBP</i> (DM2) Miotonia, fraqueza e atrofia muscular cardiomiopatia, deficiência intelectual		<u>Atrofia músculo-espinhal</u>	Gene <i>SMN1</i> e <i>SMN2</i> Hipotonia
	<u>Acondroplasia</u>	Gene <i>FGFR3</i> Nanismo (membros de reduzidas dimensões, macrocefalia, hipoplasia facial)		<u>Galactosemia</u>	Genes <i>GALT</i> , <i>GALK1</i> e <i>GALE</i> Disfunções hepáticas e renais, deficiências cognitivas
		Gene <i>HTT</i> Movimentos involuntários (coreia)		<u>Anemia Falciforme</u>	Gene <i>HBA</i> Anemia, infeções

Doenças ligadas ao Cromossoma X	<u>Doença de Huntington</u>		e atetose), deterioração das funções cognitivas e morte	bacterianas, acidente vascular cerebral
	<u>Síndrome de Marfan</u>	Gene <i>FMR1</i>	Alterações músculo-esqueléticas, cifoescoliose, endocardite infecciosa, pneumotórax	
	<u>Síndrome X frágil</u>	Gene <i>FMR1</i>	Défice intelectual, alterações físicas, perturbações cognitivas e comportamentais	
	<u>Distrofia muscular de Duchenne e Becker</u>	Gene <i>DMD</i>	Fraqueza muscular, problemas cardíacos, escoliose, défice intelectual	
	<u>Hemofilia A e B</u>	Gene <i>F8</i> e <i>F9</i>	Hemorragias severas	
	<u>Nefrite Hereditária</u>	Gene <i>COL4AS</i>	Hematúria, hipertensão, insuficiência renal	

Legenda: *APC* – Gene que codifica a polipose coli adenomatosa; *DMPK* – Gene que codifica a miotonina proteína quinase; *DM1* – Distrofia Miotónica tipo 1; *CNBP* – Gene que codifica a proteína de ligação celular ao ácido nucleico; *FGFR3* – Gene que codifica o recetor 3 do fator de crescimento de fibroblastos; *HTT* – Gene que codifica a proteína Huntingtina; *FMR1* – Gene que codifica a proteína FMRP; *DMD* – Gene que codifica a proteína Distrofina; *F8* – Gene que codifica o fator de coagulação VII; *F9* – Gene que codifica o fator de coagulação IX; *COL4AS* – Gene que codifica o colagénio tipo IV; *CFTR* – Gene que codifica a proteína do canal iónico da classe transportadora ABC; *SERPINA 1* – Gene que codifica a alfa 1 antitripsina; *PAH* – Gene que codifica a enzima fenilalanina hidroxilase; *SMN1* e *SMN2* – Gene que codifica a proteína SMN; *GALT* – Gene que codifica a enzima galactose-1-fosfato uridiltransferase; *GALK1* – Gene que codifica a enzima galactokinase; *GALE* – Gene que codifica a epimerase; *HBA* – Gene que codifica a hemoglobina alfa; *DPOC* – Abreviatura de Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica.

1.3.3. Doenças Genéticas Multifatoriais ou Multigénicas

Este grupo de doenças resulta, muitas vezes, de alterações em mais do que um gene, em combinação com fatores ambientais. A interferência dos fatores ambientais pode atenuar o desenvolvimento das manifestações clínicas de uma doença genética, mas também pode provocar um avanço no seu desenvolvimento, sendo extremamente complexo quantificar a contribuição dos fatores genéticos e ambientais no aparecimento de uma doença genética multifatorial (*Contribuição Dos Fatores Genéticos No Desencadeamento*, 2009; Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018; Santos, Botelho, 2018).

De um modo geral, o seu aparecimento não deixa de estar relacionado com a hereditariedade, continuando a haver maior susceptibilidade em agregados familiares com historial familiar de mais do que um caso com essa mesma condição genética. Apesar dos fatores ambientais terem grande influência no seu aparecimento, a realização de um diagnóstico precoce pode permitir corrigir o estilo de vida e assim atenuar possíveis manifestações clínicas (*Contribuição Dos Fatores Genéticos No Desencadeamento*, 2009; Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018; Santos, Botelho, 2018).

A Tabela 5., abaixo apresentada, evidencia algumas doenças multifatoriais passíveis de diagnóstico e/monitorização por meio de testes genéticos.

Tabela 5. Exemplos de doenças multifatoriais diagnosticadas por testes genéticos (Dossus & Benusiglio, 2015; Rebbeck, 2017; Sigala-Robles, Aguayo-Patrón, & Calderón de la Barca, 2018; Taliento, Dallio, Federico, Prati, & Valenti, 2019; Van Cauwenberghe, Van Broeckhoven, & Sleegers, 2016; Yusefi, Lankarani, Bastani, Radinmanesh, & Kavosi, 2018).

Doenças multifatoriais	Genes alvo de mutações	Outros fatores de risco
<u>Alzheimer</u>	<i>APOE4, PS1, CLU, PICALM, CR1</i>	Idade avançada, colesterol, trauma craniano, exposição a chumbo e alumínio
<u>Cancro da mama</u>	<i>BRCA1, BRCA2, PTEN, STK11, MLH1, MLH2</i>	Idade >60 anos, fatores hormonais, alimentação e exposição a radiações ionizantes
<u>Cancro do ovário</u>	<i>BRCA1, BRCA2, BTK</i>	Idade >60 anos, obesidade, terapêutica hormonal de substituição e antecedentes pessoais de cancro da mama
<u>Cancro tireoidiano</u>	<i>PTEN, APC, RET</i>	Idade entre 25-65 anos, sexo feminino, bócio e exposição a radiação
<u>Cancro renal</u>	<i>FHIT, TRC8</i>	Tabagismo, hipertensão arterial, obesidade e uso inadequado/prolongado de analgésicos
<u>Cancro do estômago</u>	<i>CDH1, APC, MCC</i>	Gastrite crónica, pólipos, alimentação, sexo masculino, tabagismo
<u>Cancro da próstata</u>	<i>TP53, PTEN, CDKN2, AR, CTNNB1, MSH2, PMS2</i>	Localização geográfica (Europa e EUA), idade >65 anos, obesidade
<u>Cancro do cólon</u>	<i>APC, TP53, MLH1, MSH2</i>	Idade >50 anos, doença inflamatória intestinal, alimentação e tabagismo
<u>Diabetes tipo 2</u>	<i>TCF7L2, CAPN10, SLC2A2, GCGR</i>	Sedentarismo, hipertensão arterial, tabagismo, níveis sanguíneos elevados de colesterol e triglicéridos

<u>Asma</u>	<i>ADRB2, IL13, IL4, ORMDL3</i>	Infeções respiratórias, rinite alérgica, exposição a alérgenos e poluição
<u>Obesidade</u>	<i>LEPR, UCP2, UCP3, PPAR</i>	Diabetes tipo 2, hipertensão arterial, depressão, sistema imunológico deprimido e doenças cardíacas

Legenda: *APOE4* – Gene que codifica a proteína apolipoproteína E; *PS1* – Gene que codifica a proteína S182; *CLU* – Gene que codifica a proteína Clusterin; *PICALM* – Gene que codifica a proteína PICAL; *CR1* – Gene que codifica o recetor de complemento tipo 1; *BRCA1* – Gene que codifica a proteína BRCA1; *BRCA2* – Gene que codifica a proteína BRCA2; *PTEN* – Gene que codifica a homofosfatase e tensina; *STK11* – Gene que codifica a enzima tirosina quinase; *MLH1* – Gene que codifica a proteína multL homolog 1; *MLH2* – Gene que codifica a proteína MutS Homolog 2; *BTK* – Gene que codifica a proteína Bruton Tirosina Quinase; *APC* – Gene que codifica a proteína polipose coli adenomatosa; *RET* – Gene que codifica o recetor tirosina quinase; *FHIT* – Gene que codifica a proteína tríade histidina frágil; *TRC8* – Gene que codifica a *Ring Finger Protein* (RNF139); *CDH1* – Gene que codifica a caderina-1 (CAM 120/80); *MCC* – Gene que codifica a proteína do cancro mutante cólon-retal; *TP53* – Gene que codifica a proteína tumoral p53; *AR* – Gene que codifica o recetor de androgénio; *CTNGB1* – Gene que codifica a Beta-Catenina; *MSH2* – Gene que codifica a proteína de reparo de incompatibilidade de DNA Msh2; *PMS2* – Gene que codifica a endonuclease de reparo incompatível PMS2; *MLH1* – Gene que codifica a proteína Mutl homólogo 1; *TCF7L2* – Gene que codifica o *fator de transcrição 7*; *CAPN10* – Gene que codifica a proteína Calpain-10; *SLC2A2* – Codifica a proteína GTR2; *GCGR* – Gene que codifica o recetor Glucagon (GLR); *ADRB2* – Gene que codifica o recetor Adrenérgico Beta 2; *IL13* – Gene que codifica a proteína interleucina (IL-13); *IL4* – Gene que codifica a proteína interleucina (IL4); *ORMDL3* – Gene que codifica a proteína ORML3; *LEPR* – Gene que codifica o recetor da leptina (LEP-R); *UCP2* – Gene que codifica a proteína de desacoplamento mitocondrial 2 (UCP2); *UCP3* – Gene que codifica a proteína de desacoplamento mitocondrial 3 (UCP3); *PPAR* – Gene que codifica os recetores ativados de peroxissoma.

1.4. Categorias dos Testes Genéticos

Os testes genéticos são habitualmente utilizados para detetar possíveis alterações, não só nos genes e nos cromossomas, mas também em proteínas específicas (Pagon et al., 2001). Estes podem realizar-se num contexto clínico e os seus resultados podem ser divulgados para benefício do doente. No entanto, também existe a possibilidade de serem única e exclusivamente usados em contexto de investigação, pelo que, nesse caso, os seus resultados são utilizados apenas no estudo em questão (Pagon et al., 2001).

Existem diversos tipos de testes genéticos e a sua utilização pode ser muito útil nas diferentes fases da vida e em inúmeras situações clínicas, quer para um simples rastreio, para o diagnóstico de uma doença genética, ou até mesmo para o cálculo da probabilidade de portabilidade genética à descendência direta (Pagon et al., 2001).

1.4.1. Teste de rastreio pré-natal

A realização dos testes de rastreio pré-natal ocorre durante a gravidez, de forma a detetar precocemente possíveis alterações nos genes ou cromossomas do feto e são normalmente solicitados, quando existe um risco aumentado de o bebé vir a ter um distúrbio genético (Stoler, 2017).

Na maioria dos casos, existem fatores de risco, tais como a idade materna avançada, trissomia identificada na gravidez anterior, histórico familiar, etnia ou sono pré-natal anormal, que justificam a realização destes testes. Apesar de terem uma capacidade de identificação limitada, estes testes genéticos podem ser cruciais na decisão sobre o curso da gravidez (Stoler, 2017). Contudo, o foco atual é tornar as terapias neonatais, cada vez mais direcionadas, evitando o aumento crescente de interrupções da gravidez, como resposta a certos resultados positivos (Stoler, 2017; Vaz-de-macedo, 2018).

A aminiocentese, a análise às vilosidades coriônicas e a recolha percutânea de sangue umbilical são os procedimentos mais comuns para detetar anomalias antes do nascimento. No entanto, estes procedimentos podem causar problemas à mulher e ao feto, podendo levar ao aborto espontâneo (Stoler, 2017; Vaz-de-macedo, 2018).

Atualmente, no mercado, tem sido exponencial o aparecimento de testes não-invasivos que analisam DNA de origem fetal presente em circulação no sangue materno e para sua realização é apenas necessária uma amostra de sangue materno (Stoler, 2017; Vaz-de-macedo, 2018). Entre os testes de rastreio pré natal, destacam-se o rastreio das principais trissomias 21,18 e 13 e aneuploidias dos cromossomas sexuais XO, XXY, XXX, XYY e XXYY (Stoler, 2017).

1.4.2. Testes de rastreio neonatal

Este tipo de teste consiste na deteção pré-sintomática de doenças genéticas graves em recém-nascidos, permitindo assim a prevenção o mais precocemente possível ou o seu tratamento (DeTolve, 2016). O rastreio inclui normalmente doenças que afetam a capacidade auditiva e o metabolismo, como a fenilcetonúria ou o hipotireoidismo congénito. Contudo, através deste rastreio é possível referenciar os neonatos em maior risco para avaliação posterior mais aprofundada (DeTolve, 2016).

Os testes de rastreio neonatal obrigatórios, e a sua constituição variam de região para região, dependendo da prevalência local, entre outros fatores. Em Portugal, embora não sejam obrigatórios, o Programa Nacional de Diagnóstico Precoce realiza, desde 1979, testes de rastreio em todos os recém-nascidos – o chamado ‘teste do pezinho’ (DeTolve, 2016).

É importante salientar, que qualquer resultado positivo terá de ser posteriormente confirmado com uma amostra independente à previamente utilizada, podendo haver um encaminhamento para as especialidades médicas mais adequadas, como, por exemplo, endocrinologia, medicina metabólica ou respiratória (DeTolve, 2016).

A Tabela 6. evidencia alguns exemplos de condições genéticas de maior frequência da sua utilização no rastreio neonatal.

Tabela 6. Principais patologias genéticas pertencentes ao plano de rastreio neonatal (DeTolve, 2016).

Exemplos de testes NBS mais aplicados na prática clínica	Relevância clínica do diagnóstico precoce
<u>PKU</u> Mutações no gene <i>PAH</i> , com prevalência em nascimentos de 1:14.000.35	Evita o desenvolvimento de problemas intelectuais como atrasos mentais e no desenvolvimento, através da aplicação de uma dieta pobre em fenilalanina
<u>HAC</u> Alteração no metabolismo de esteroides com produção deficitária de cortisol e mineralocorticóides, detetada pelo aumento dos níveis séricos de 17- OHP, com prevalência em nascimento de 1: 18000	Previne potenciais falhas no crescimento e masculinização do género feminino, caso não sejam tratados a longo prazo
<u>CH primário</u> Alteração funcional de TSH, com prevalência em nascimento de 1:2750.35	Impede o desenvolvimento a longo prazo do distúrbio da tiroide, através do recurso a medicação controlar os níveis de tiroxina.
<u>FQ</u> Mutações no gene <i>CFTR</i> que causa alterações nas secreções como resultado do transporte de cloretos, sendo detetado pela presença de tripsina imunoreactiva, com prevalência em nascimentos de 1:2500	Melhora o prognóstico a longo prazo com recurso à realização de antibioterapia, bem como fisioterapia para melhorar a função pulmonar e pancreática
<u>Galactosemia</u> Mutações enzimáticas na <i>GALT</i> , a sua deteção ocorre através da medição dos metabolitos da galactose - 1- fosfato de uridil transferase	Diminui a morbilidade e mortalidade a curto prazo, pois ao não ser tratado pode resultar em icterícia contínua e sepsis por <i>E. Coli</i>

Legenda: PKU – Abreviatura da doença genética fenilcetonúria; *PAH* – Gene que codifica a enzima fenilalanina hidroxilase; HAC - Abreviatura da doença genética hiperplasia adrenal congénita; 17- OHP – Abreviatura da 17 alfa-hidroxiprogesterona; CH – Abreviatura de Hipotiroidismo congénito primário; TSH – Abreviatura de hormona estimulante da tiroide; FQ – Abreviatura de Fibrose Quística; *CFTR* – Gene que codifica a regulador transmembranar condutor da fibrose quística ; *GALT* – Gene que codifica a enzima galactose-1-fosfato uridiltransferase ; *E.Coli* – Abreviatura da bactéria *Escherichia Coli*.

1.4.3. Testes de Diagnóstico

Estes testes estão relacionados com uma área da genética que se encontra em rápida expansão, e que abrange a análise de cromossomas, ácido nucleicos, proteínas e metabolitos usados para diagnosticar condições genéticas, como mutações, genótipos, fenótipos hereditários ou somáticos (Claustres et al., 2014).

A sua utilização clínica permite identificar ou excluir a hipótese da existência de algum distúrbio genético, mesmo em caso de diagnóstico prévio. Este tipo de teste permite identificar a etiologia da condição genética, (Claustres et al., 2014). Estes testes são realizados para

confirmar um diagnóstico, quando ocorre uma suspeita com base em sintomas e sinais específicos (Claustres et al., 2014).

Os seus resultados podem ter grande influência nos cuidados de saúde e tratamentos que devem ser seguidos posteriormente, bem como na sua vida pessoal, tendo, muitas vezes, os resultados repercussões na vida dos familiares diretos (Claustres et al., 2014). As suas repercussões podem não só influenciar a vida do interveniente em análise, como também ser de extrema importância, caso se verifique que essa condição é hereditária, de modo a auxiliar os membros da família na decisão da realização do teste (Claustres et al., 2014).

As Tabelas 7. e 8. apresentam, respetivamente, os critérios que justificam a elegibilidade para a prescrição do teste genético tipo diagnóstico e as aplicações clínicas da realização dos mesmos.

Tabela 7. Critérios que justificam a elegibilidade para a prescrição do teste genético tipo diagnóstico (Claustres et al., 2014).

1.	No caso do doente revelar sintomas e sinais de uma possível condição genética;
2.	Investigar aspectos clínicos da síndrome previamente diagnosticada;
3.	Identificar a etiologia genética e a sua possibilidade de hereditariedade.

Tabela 8. Aplicações clínicas da realização de testes genéticos tipo diagnóstico (Molecular, 2019).

Aplicações	Finalidade
<u>Tratamento</u>	Determinar o tratamento, mais eficaz para a condição genética em questão
<u>Evolução do prognóstico clínico</u>	Uma patologia genética pode ter uma evolução diferente da mutação inicial, permitindo prever o curso da doença, e prevenir as suas manifestações precocemente
<u>Evitar a sua transmissão hereditária</u>	O distúrbio genético pode transmitir-se de forma recessiva ou dominante, e têm influência de outros fatores. E o conhecimento todas essas aplicações, permite estimar as probabilidades de transmissão à descendência
<u>Investigação do historial familiar</u>	As implicações de um estudo genético podem ser relevantes, para os familiares diretos dos doentes, pelo que sempre que possível devemos alastrar a realização do teste a outros membros familiares

1.4.4. Testes tipo Portador

Estes testes permitem identificar os indivíduos portadores de uma doença genética. Na maioria dos casos, os portadores são assintomáticos e a realização, destes testes, auxília na determinação da probabilidade de transmissão à sua descendência, (Kraft, Duenas, Wilfond, & Goddard, 2019).

Para além de serem requeridos com o intuito de determinar a presença da mutação genética e/ou a probabilidade futura de a vir a desenvolver. A sua realização, também se aplica a casais que pretendam aferir a probabilidade de os seus descendentes, virem a desenvolver uma condição genética. Desta forma, é-lhes possível tomar decisões reprodutivas autónomas (Kraft et al., 2019).

Os testes realizam-se, sobretudo, em indivíduos que tenham historial familiar de uma determinada condição genética hereditária ou em indivíduos pertencentes a grupos étnicos mais susceptíveis de terem certas condições genéticas (Kraft et al., 2019).

Não obstante, pode ser realizado individualmente, reduzindo as incertezas de um indivíduo com risco familiar conhecido, podendo usar essa mesma informação no caso de mudar de parceiro (Kraft et al., 2019).

Em seguida, é possível visualizar, na Tabela 9., exemplos das patologias mais usualmente testadas por testes genéticos do tipo portador.

Tabela 9. Exemplos de patologias usualmente testadas na realização do teste de portador (Kraft et al., 2019).

Doença de Tay - Sachs	Distúrbio hereditário autossómico recessivo, causado pela deficiência de hexosaminidase, originando sintomas neurológicos graves. A sua prevalência é 1/27 judeus asquenaze em idade adulta.
Doença da hemoglobina S - β talassemia	Mutação no gene da beta-globina, levando ao comprometimento da produção da hemoglobina A, trata -se de uma hemoglobinopatia, que causa sinais e sintomas semelhantes a doença falciforme.
Síndrome do X frágil	Mutação no gene <i>FMR1</i> no cromossoma X, que afeta cerca de 1/4000 homens. Esta anomalia origina usualmente um défice intelectual e transtornos comportamentais.
Atrofia muscular espinhal	Deleção no gene <i>SMA1</i> é uma forma grave de atrofia muscular grave com aparecimento na infância, e uma prevalência de 1/80000. Este tipo de atrofia é caracterizado por hipotonia, resultante da perda de neurónios motores.

Legenda: *FMR1* – Gene que codifica a proteína FMRP; *SMA1* - Gene que codifica a proteína SMN

1.4.5. Testes de Diagnóstico Pré-Implantacional

Os testes de diagnóstico genético pré-implantacional, DGPI, são uma ferramenta utilizada durante a fertilização *in vitro* para detetar alterações genéticas e/ou cromossómicas em embriões, antes da sua implantação no útero materno (Brezina & Kutteh, 2015; Pompeu, Taina; verzeletti, 2015).

As etapas deste procedimento encontram-se resumidas na Tabela 10.

Tabela 10. Etapas do procedimento de diagnóstico genético pré-implantacional (Pompeu, Taina; verzeletti, 2015).

Fases do diagnóstico genético pré-implantacional no processo de fertilização <i>in vitro</i>	
<u>Biópsia pré-implantacional</u>	A recolha de uma ou mais células pode ser feita em diferentes níveis de desenvolvimento embrionário; 1) Blastómero: realiza-se ao 3º dia após fertilização 2) Blastocisto: realiza-se ao 5º dia após fertilização
<u>Obtenção de pré-embriões</u>	Devem produzir-se embriões <i>in vitro</i> através de técnicas de reprodução assistida
<u>Análise genética dos pré-embriões</u>	A biópsia obtida é processada para análise e submetida a estudo genético
<u>Seleção e Transferência dos embriões</u>	Seleção dos embriões geneticamente viáveis são transferidos para o útero materno

A grande vantagem da técnica de DGPI é o facto de diminuir o risco de conceber um descendente com distúrbios genéticos hereditários, e ainda evitar uma possível interrupção da gravidez. Não obstante, trata-se de uma técnica que levanta algumas questões éticas e controvérsias, devido à manipulação dos embriões. Por exemplo, utilização o DGPI para a escolha do sexo do bebé é proibido em muitos países, só devendo ser utilizada em casos com clara indicação terapêutica.

Na Tabela 11. estão descritos os critérios considerados na elegibilidade para o diagnóstico genético pré-implantacional.

Tabela 11. Critérios de elegibilidade no diagnóstico genético pré-implantacional (Brezina & Kutteh, 2015).

1.	Progenitores portadores de doenças autossômicas recessivas (ex: Doença de Tay-Sachs, fibrose cística, anemia falciforme)
2.	Progenitores portadores de doenças autossômicas dominantes (ex: doença de Huntington)
3.	No caso de progenitores com mutações génicas relevantes (ex: Gene <i>BRCA</i>, mutações relacionadas com o cromossoma X ou certas translocações ou inversões balanceadas)
4.	Quando há necessidade de criar um doador de tecido compatível com irmão doente
5.	No caso de infertilidade grave do progenitor masculino
6.	Abortos espontâneos e recorrentes ou com aneuploidia recorrente em abortos

Legenda: *BRCA* - Gene responsável pela síntese da proteína BRCA1

1.4.6. Teste Preditivo ou Pré-Sintomático

Este tipo de teste, como o nome indica, é realizado, na maior parte dos casos, em pessoas ainda assintomáticas, nas quais se pesquisa, a presença de uma mutação genética específica. Contudo, um resultado positivo não garante o risco de desenvolver a doença, mas sim que existe uma maior predisposição para vir a desenvolvê-la, uma vez que, apenas são analisados o(s) gene(s) e não são tidos em consideração todos os fatores de risco extrínsecos para a patologia em questão (Marzuillo, De Vito, D'andrea, Rosso, & Villari, 2014).

Este teste é de extrema importância para indivíduos que tenham historial familiar de uma doença genética, como o cancro, tendo como principal objectivo diminuir a sua morbimortalidade (Marzuillo et al., 2014).

A Tabela 12. evidência alguns exemplos de doenças testadas através de testes preditivos.

Tabela 12. Exemplos de doenças testadas em testes preditivos (Marzuillo et al., 2014).

Historial familiar de cancro	Exemplos: Cancro da mama com mutação no gene <i>BRAC1</i> , Cancro do cólon-retal colorretal por polipose adenomatosa familiar
Doenças neurológicas	Exemplos: Doença de Huntington, paramiloidose, ataxias hereditárias
Doenças neuromusculares	Exemplos: Distrofia miotónica, distrofia facio-escapulo-humeral
Doenças cardíacas	Exemplos: Cardiomiopatia hipertrófica, síndrome do QT longo

Legenda: *BRAC1* – Gene que codifica a proteína BRAC1

1.5. Vantagens e limitações da utilização dos testes genéticos na prática clínica

No momento em que se decide realizar um teste genético, deve ponderar-se a realização do mesmo. Para isso, torna-se fundamental realizar previamente uma consulta de aconselhamento genético (Aswini & Varun, 2010; UK, 2016).

Nessa consulta deve proceder-se também a um aconselhamento psicológico, no qual se pretende dar resposta às necessidades do doente, incentivar a melhoria e a mudança de comportamento relacionado com a saúde, e atenuar dificuldades comunicacionais familiares, auxiliando na tomada de decisões informadas e especializadas (Aswini & Varun, 2010; UK, 2016).

No aconselhamento genético, é analisado igualmente o historial familiar, os antecedentes pessoais, a informação da etiologia da doença genética, o prognóstico e as alternativas terapêuticas, o fornecimento e esclarecimento do consentimento informado, bem como todos os procedimentos relacionados com o teste genético (Aswini & Varun, 2010; Rodrigues, 2013).

A consulta de aconselhamento genético é imprescindível para se compreender e esclarecer possíveis dúvidas de todas as informações fornecidas, pondo-se assim em evidência todos os benefícios e riscos que o teste genético em questão pode fornecer, antes da tomada de decisão final (Aswini & Varun, 2010; UK, 2016).

Em seguida, serão abordados os principais benefícios e limitações da sua utilização (Associates, 2019; aswini, Y.B., & Varun, 2010; Medicine, Lister Hill National Center for Biomedical Communications U.S. National Library of Health & Services, 2019).

Benefícios
Diagnosticar problemas de saúde com maior fator de risco na comunidade, aplicando alternativas inovadoras menos invasivas, mais rápidas e cómodas;
Recolha da amostra biológica para a realização dos testes genéticos, envolve poucos riscos físicos;
Conforto emocional fornecido, através do auxílio no diagnóstico da condição genética;
Monitorização da progressão de uma doença e da resposta terapêutica, obtendo -se uma elevada eficácia terapêutica;
A realização de teste genético permite auxiliar nas decisões médicas informadas, através da sensibilização para rastreios periódicos e/ou conhecimento dos fatores de risco da condição genética;
Os resultados dos testes genéticos obtidos, podem ajudar a tomar decisões médicas informadas, e ter precaução com estilos de vida de risco;
Auxílio nas decisões reprodutivas futuras, determinando se o casal tem alto risco de ter um filho com uma condição genética;
Possibilidade de análise do material genético fetal, durante a gravidez de forma não invasiva, fornecendo respostas concretas, que podem influenciar a progressão da gravidez;
Diagnóstico de uma condição genética hereditária num indivíduo, pode fornecer informações de alerta outros membros da família para essa mesma condição genética;
A Farmacogenómica, permite seleccionar o medicamento mais adequado para cada doente, minimizando os efeitos adversos e reduzindo os seus custos.

Limitações
Os resultados dos testes genéticos, não fornecem resultados seguros e precisos em doenças genéticas multifatoriais, não consideram a influência de fatores extrínsecos;
Confirmação de diagnóstico de condição genética para o qual não existe estratégias de opções terapêuticas viáveis, pode desencadear implicações psicológicas, sociais e financeiras;
Os resultados de diversos testes genéticos, fornecem informações limitadas não sendo possível determinar com precisão a severidade dos sintomas, que se desenvolveram e a sua progressão clínica;
O conhecimento de condições genéticas hereditárias, pode criar alguma tensão familiar em outros membros da família implicados sem o seu consentimento;
Discriminação genética a nível social de pessoas que possuam um distúrbio genético, por parte de empregadores e empresas de seguros de saúde;
Elevado custo financeiro, na maioria dos casos as apólices de seguros não contemplam essas despesas mesmo, quando prescritos e recomendados pelo médico.

1.6. Condições clínicas com elegibilidade para a realização de testes genéticos

A realização de um teste genético deve ser, sempre que possível, realizada no âmbito de cuidados de saúde, isto é, devem ser executados com o intuito de fornecer informação sobre a condição clínica do doente, caso esta possa acarretar consequências nocivas para o seu estado de saúde (Europa & Borry, 2012; Noonan, 2002).

De um modo geral, os testes genéticos melhoram a compreensão do risco da doença genética por parte do doente. Estes permitem orientar na obtenção da decisão médica mais adequada e na escolha da terapêutica, bem como na gestão de todos os inconvenientes relativos ao risco da sua transmissão genética em âmbito familiar. Não obstante, os fatores de elegibilidade para a realização dos testes genéticos, dependem da situação clínica de cada indivíduo (Europa & Borry, 2012; Noonan, 2002).

No momento da prescrição e aconselhamento médico para a realização de um teste genético, são diversas as situações que justificam a sua realização, tais como (Europa & Borry, 2012; Noonan, 2002):

- Evidência de sinais e sintomas, que indiquem tratar-se de uma doença com componente genética;
- Necessidade de avaliar o risco de manifestação fenotípica de uma doença genética com historial de transmissão familiar em várias gerações, como o cancro, a deficiência enzimática ou a hemocromatose;
- Avaliação da probabilidade de transmissão uma condição genética hereditária aos descendentes, sobretudo em caso de pertença a um grupo étnico ou subpopulação de maior risco. São exemplos destas condições genéticas a fibrose quística, a anemia falciforme, a síndrome de Tay-Sachs;
- Perceção da causalidade de diversas gestações não chegarem a termo;
- Realização, na reprodução assistida *in vitro* de um diagnóstico genético pré-implementação para evitar a transmissão de mutações genéticas conhecidas dos progenitores;
- Orientação terapêutica personalizada e monitorização da eficácia terapêutica permitindo uma melhor eficácia terapêutica e menos efeitos adversos;

- Estabelecimento de um plano de prevenção de fatores de risco modificáveis ou de tratamento profilático de uma condição genética que ainda não se tenha manifestado.

São exemplos de grupos de subpopulações de risco com maior elegibilidade para a realização de um teste genético as seguintes:

- Cancro no ovário com mutação genética nos genes *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *RAD51C*, *RAD51D*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* ou *EPCAM*, cuja mutação pode ser transmitida à descendência e alterar a progressão da doença, bem como a sua resposta à terapêutica (Oncoguia, 2015; Puckett et al., 2019);
- Cancro da mama com as seguintes características: diagnosticado antes dos 50 anos, mais do que um tipo de tumor maligno na mama, cancro triplo negativo (RE-/RP-/Her2-). Estas características vão influenciar a decisão do tratamento mais adequado, a elegibilidade para a realização de ensaios clínicos e ainda auxiliar os familiares na gestão do risco de desenvolvimento futuro (Mikó et al., 2019; Oncoguia, 2015);
- Casos de cancro raros na família (ex: retinoblastoma, melanoma, cancro do ovário, pâncreas, mama no homem), devendo por isso ser realizado um teste genético para se determinar se possuem alguma mutação genética hereditária subjacente, auxiliando os familiares a entenderem o seu risco, mesmo no caso de não ser revelado nos testes genéticos alguma mutação genética (Alvi et al., 2017; Oncoguia, 2015);
- Indivíduos descendentes de indivíduos com consanguinidade apresentam um maior risco de possuir síndromes genéticas, como, por exemplo; síndrome de Meck, trombocitopénia congénita 3; síndrome de Wolman; síndrome Maple Syrup Urine; ataxia telangiectasia (Shalev, 2019);
- A população Judaica Ashkenazi tem propensão genética de 1/40 pessoas de apresentarem mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Ao ser um grupo de risco, mesmo sem historial familiar, os indivíduos deste grupo étnico devem consultar um geneticista, para entenderem os riscos de poder vir a ter cancro e de o transmitir à sua descendência (Shalev, 2019);
- Familiares próximos portadores de síndromes genéticas conhecidas (ex: polipose adenomatosa familiar, síndrome de Cowden, síndrome de Lynch). Estes devem confirmar, com recurso a testes genéticos, a portabilidade dessas síndromes, de forma a auxiliar num melhor entendimento relativo à síndrome em questão, e minimizando as suas implicações clínicas, através da mudança prévia de fatores de risco modificáveis conhecidos (Instituto Oncoguia, 2015).

1.7. Questões éticas e legais

O custo monetário e o tempo despendido na sequenciação do genoma humano decresceram exponencialmente nas últimas décadas. Esta redução aumentou a procura e o acesso à realização de testes genéticos, o que desencadeou algumas implicações e dilemas morais e éticos na aplicação dos testes genéticos na prática clínica (Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018).

Embora a realização de testes genéticos seja um processo cada vez mais simplificado, a interpretação dos seus resultados é bastante complexa, sendo ainda mais difícil interpretar o impacto que determinada alteração possa vir a ter a nível celular, mesmo com o recurso a algoritmos de análise computacionais (Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018). A quantidade de informação gerada pela sequenciação do genoma humano, bem como a propriedade dessa informação, são questões cada vez mais problemáticas. A privacidade e a proteção de dados levantam diversas outras questões, mesmo dentro da própria família. Quando se deteta uma doença genética hereditária num indivíduo, o direito de outros familiares implicados não é claro, nem consensual, neste tipo de situações (Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018).

No momento do consentimento informado, e mesmo após a realização dos testes genéticos, é necessário garantir o correto esclarecimento dos seguintes aspetos médicos:

- Assegurar que, na consulta de aconselhamento prévio para o consentimento informado, exista o esclarecimento relativo à natureza da doença rastreada, bem como informação, relativa à utilidade clínica do teste na orientação de cuidados e tratamentos para essa mesma condição genética. Isto é, pode ser o caso de uma condição genética sem tratamento disponível ou com baixa fiabilidade nos resultados obtidos (Alliance, 2009; Fulda & Lykens, 2006; Meng, 2005);
- Aferir que a realização do teste genético, por parte do indivíduo, é informada e voluntária (Fulda & Lykens, 2006; Meng, 2005);
- Esclarecer possíveis efeitos colaterais no procedimento de realização do teste genético, nomeadamente, no processo de recolha da amostra biológica (Meng, 2005), (Fulda & Lykens, 2006);
- Garantir que o indivíduo esteja ciente, após o consentimento informado do impacto dos resultados dos testes genéticos (Meng, 2005), (Fulda & Lykens, 2006);

- Transmitir corretamente a interpretação dos resultados, bem como informações relativas à validade analítica do teste à precisão e sensibilidade do teste (Meng, 2005).

Para além das implicações médicas, existem muitas implicações legais, éticas e sociais, como a seguir se demonstra.

1) Acesso aos testes genéticos

O acesso aos testes genéticos é concedido na maioria dos casos, apenas aos médicos, dado que a maioria dos laboratórios exige prescrição médica e a sua assinatura nos formulários de requisição para a sua realização (Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018).

Embora o acesso da população aos serviços de genética hospitalares seja cada vez mais comum, aumentou exponencialmente a procura de testes genéticos ‘Diretos ao consumidor’, sem necessidade de prescrição, nem acompanhamento do serviço de genética. Estes testes são obtidos, através de empresas como ‘23andMe’ e ‘Living DNA’, que oferecem testes genéticos de sequenciação total do DNA, e fornecem informações sobre a suscetibilidade de algumas doenças genéticas, como, por exemplo, Alzheimer, Parkinson e doença celíaca, bem como a portabilidade de múltiplas doenças. Todo o processo é desenvolvido a partir de uma amostra de saliva enviada por correio, e sendo os seus resultados enviados por e-mail no período de três meses (Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018).

Face ao aumento da oferta deste tipo de testes, ocorreu um consequente acréscimo na realização dos testes genéticos, adquiridos diretamente pelo consumidor. Contudo, a realização dos mesmos não garante, na maioria dos casos, a sua conformidade por parte das autoridades competentes, nem garante o acompanhamento genético antes da sua realização e após a divulgação dos resultados. Para além disso, não existe um controlo das razões e motivações dessa mesma análise, que pode ser proveniente de razões ou motivações menos éticas, como por exemplo a eugenia (Meng, 2005).

2) Direito de escolha livre e informada

O consentimento informado, deve esclarecer o indivíduo de todas as etapas do processo, e garantir que o indivíduo é livre e informado aquando da tomada de decisão da realização do teste genético, o que pode não ser garantido nos seguintes grupos de indivíduos vulneráveis (Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018):

- menores de idade;
- mentalmente comprometidos;
- menor nível de instrução ou problemas de linguagem.

Estes subgrupos da população podem não compreender o consentimento informado e/ou sentirem-se coagidos a dar consentimento sem a sua própria vontade (Meng, 2005). O seu consentimento deve ser sempre livre e informado no momento de escolha (World Health Organization [WHO], 2020). O aconselhamento genético deve ser realizado de forma a manter a autonomia individual e garantir que a decisão do doente é voluntária e informada (Fulda & Lykens, 2006).

3) Confidencialidade e privacidade

A informação genética gerada requer confidencialidade, uma vez que a mesma pode revelar o risco de doenças, e incapacidades inerentes ao indivíduo. Esta informação, ao ser do conhecimento de terceiros, poderá originar situações de rejeição e conflito, com os restantes membros da família e pode levar a consequências socioeconómicas. Alguns exemplos são o desemprego, a desigualdade de oportunidades de carreira ou a perda da cobertura de apólice de seguro de saúde. A divulgação das informações genéticas aos familiares pode afetar uma família inteira, podendo levar um indivíduo a tomar decisões que alterem a sua vida com base nos resultados dos testes genéticos (Alliance, 2009; Fulda & Lykens, 2006).

A questão do direito de divulgação dos dados vai para além das questões familiares. É igualmente suscetível de debate o acesso aos resultados dos testes genéticos por parte de seguradoras, serviços públicos e órgãos reguladores, como a polícia (Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018).

Deste modo, torna-se imperativo garantir o equilíbrio entre a privacidade e a confidencialidade das informações genéticas, bem como estabelecer legislação que permita apenas acesso seletivo a essas informações, o que constitui um desafio ético e social contínuo (WHO, 2020).

4) Processo de divulgação

O processo de divulgação pode revelar-se crítico, pelo que deverá ser tido um especial cuidado na divulgação dos resultados ao doente. Torna-se assim necessário que para a sua divulgação, exista uma formação prévia em medicina genética, uma vez que no momento do aconselhamento ao doente, não é apenas necessário o conhecimento científico, mas também experiência anterior (Alliance, 2009; Fulda & Lykens, 2006).

O dever moral de divulgação dos resultados dos testes genéticos por parte do paciente e/ou médico à restante família para que os mesmos estejam informados, relativamente ao seu risco genético não é consensual. Trata-se de uma questão controversa e de difícil concordância, cuja resposta depende da teoria moral em uso, bem como da gravidade do distúrbio (Alliance, 2009; Fulda & Lykens, 2006).

Os resultados divulgados podem ter influência em fatores pessoais, valores familiares e crenças, promovendo mudanças no estilo de vida ou em determinados comportamentos, a fim de reduzir o risco ou a gravidade da doença. Por isso, os médicos, no momento da divulgação dos resultados, devem ter em consideração os valores culturais e sociais do doente (Alliance, 2009; Fulda & Lykens, 2006).

5) Risco de stress psicológico

O processo de realização de testes genéticos pode desencadear stress, devendo, por isso, os médicos assegurar ao doente um nível aceitável de tempo de resposta, durante todo o processo (Alliance, 2009; Meng, 2005).

Os profissionais de saúde devem abster-se de julgar o paciente, relativamente aos resultados dos testes e/ou à sua divulgação a terceiros (Alliance, 2009; Meng, 2005).

Assim sendo, os referidos profissionais não devem coagir o paciente nas decisões que possam ter impacto na sua vida ou na da sua família, nem agir sem o seu consentimento no acompanhamento e divulgação dos riscos à família. A realização do aconselhamento genético pode, e deve ser realizado também com o intuito de auxiliar, no esclarecimento de todas as dúvidas existentes e lidar na superação de sentimentos de culpa, ansiedade, insegurança, medo e desespero (Alliance, 2009; Meng, 2005).

6) Risco de discriminação

O acesso aos resultados dos testes genéticos pode originar uma incorreta interpretação dos resultados por parte dos provedores de seguros, empregadores e da sociedade. Pode também originar um elevado risco de estigmatização por falta de conhecimento técnico, que, por sua vez, poderá ainda desencadear algumas situações de discriminação nos empregos, cuidados de saúde e ainda a nível social (WHO, 2020; Meng, 2005).

No caso das seguradoras, face ao acesso que têm a estas informações, podem recusar a cobertura de assistência médica, diminuir benefícios e/ou aumentar prémios. Alguns doentes acabam mesmo por não imputar os custos de certas despesas de saúde por receio de discriminação genética, por temerem, que o seu seguro seja comprometido futuramente, ou por colocarem a hipótese de discriminação dos seus filhos (Alliance, 2009; Fulda & Lykens, 2006).

Nas entidades empregadoras, o conhecimento prévio dos indivíduos com risco de doença debilitante, pode levar a que as mesmas se recusem a atribuir-lhes um emprego ou mesmo ao despedimento desses colaboradores (Alliance, 2009; Fulda & Lykens, 2006).

Deste modo, o acesso a estas informações deve ser restringido, evitando diversas consequências sociais e psicológicas, que podem levar à marginalização social do indivíduo (WHO, 2020; Meng, 2005).

2. Inovação dos testes genéticos e o seu contributo na prática clínica

O conhecimento na área da genética e o avanço tecnológico, na sequenciação do genoma humano tem permitido um diagnóstico precoce, monitorização e tratamento terapêutico adequado mais direcionado para os doentes (Jackson, Maria; Leah, Marks; May, Gerhard; Wilson, 2018).

Em seguida, serão descritos três exemplos de testes genéticos com diferentes aplicações clínicas, na área da oncologia, e com enorme relevância para a evolução da medicina personalizada.

2.1. Teste genético de diagnóstico precoce Septina 9

O cancro colorretal (CCR), tumor maligno do trato digestivo, trata-se do segundo cancro mais prevalente em países industrializados e da terceira neoplasia, mais recorrente em todo o mundo com elevada taxa de mortalidade (Ma et al., 2019). O processo evolutivo do CCR pode ser observado na Figura 2., na qual se encontram representados as suas diversas fases evolutivas, bem como a sua capacidade de metastização no decorrer da evolução da doença.

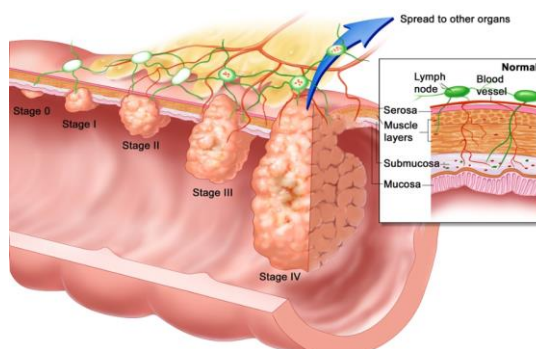


Figura 2 - Diagrama das fases evolutivas do cancro colorretal, adaptado de Banco da Saúde (Care, 2014).

As taxas de incidência e mortalidade do CCR têm vindo a aumentar consideravelmente em todo o mundo, estimando-se um aumento de 60% até 2030. Na Figura 3. é possível visualizar os dados do Globocan, de 2018, referentes à incidência da doença em Portugal, comparativamente aos outros cancros, e à mortalidade, a nível Mundial, dentro dos 10 tipos de cancro com maior incidência.

Face a este flagelo do século XXI, torna-se imprescindível a implementação de novos métodos de deteção precoce do CCR (Ma et al., 2019).

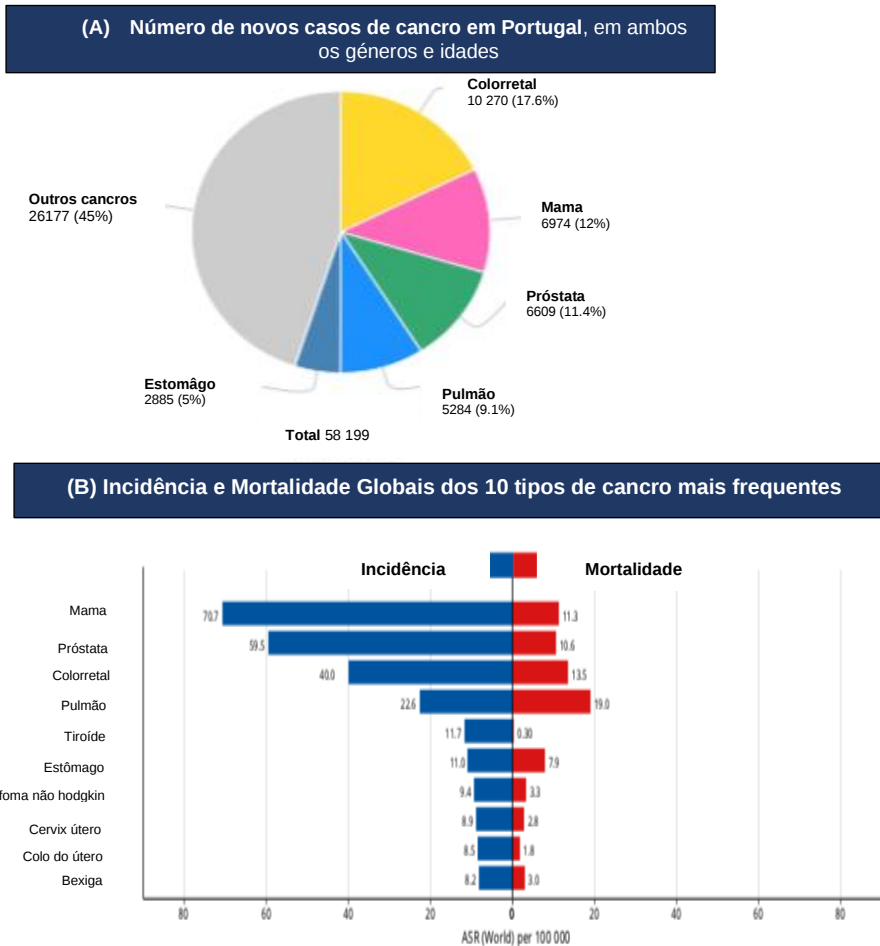


Figura 3 - Incidência (A) e mortalidade (B) do cancro em Portugal e no Mundo em 2018, adaptado da Organização Mundial de Saúde (Globocan, 2019).

Os principais mecanismos moleculares responsáveis pela carcinogénese englobam alterações genéticas, como a instabilidade cromossómica – NIC – e a instabilidade de microssatélites – MSI (Nian et al., 2017; Sun et al., 2019).

A maioria dos indivíduos com CCR é habitualmente assintomática em estágios iniciais da doença, sendo, o diagnóstico precoce a melhor abordagem para melhoria da sua mortalidade (Sun et al., 2019). O seu rastreio permite a deteção precoce, tornando-o curável em 90% dos casos (Ladabaum, Allen, Wandell, & Ramsey, 2013; Nian et al., 2017; Tóth et al., 2012).

O aumento da taxa de mortalidade referente ao CCR deve-se, em grande parte, à baixa adesão da população aos programas de rastreio, estimando-se que apenas cerca de 55% adira a estas iniciativas. Segundo, os números obtidos em 2015 pela DGS, esta fraca adesão deve-se, maioritariamente, às limitações dos métodos de rastreio convencionais, que iremos abordar mais adiante (Morán, 2010; Vaz-de-macedo, 2018).

A colonoscopia é o método atualmente mais usado para detetar o CCR. Não obstante, o seu risco e desconforto tornou essencial a implementação de um novo método complementar mais simples e cómodo, que permita uma monitorização mais frequente da doença, não tendo de se recorrer frequentemente a métodos invasivos (Ma et al., 2019). Assim surge o teste Septina9, que se trata de uma forma de rastreio complementar à colonoscopia. As proteínas Septina têm sido implicadas como responsáveis no desenvolvimento de determinadas neoplasias, doenças neurológicas e doenças infecciosas (Nian et al., 2017). Estes componentes desempenham diversas funções celulares, como a formação do citoesqueleto ou os processos de função celular, por exemplo, a citocinese e o controlo do ciclo celular (Ladabaum et al., 2013; Nian et al., 2017; Sun et al., 2019).

O gene *SEPT9* localiza-se no cromossoma 17 (17q25.3), tal como se observa na Figura 4., na região indicada pela seta. Este gene expressa a proteína Septina 9, que desempenha um papel supressor tumoral (Ladabaum et al., 2013; Nian et al., 2017; Sun et al., 2019).

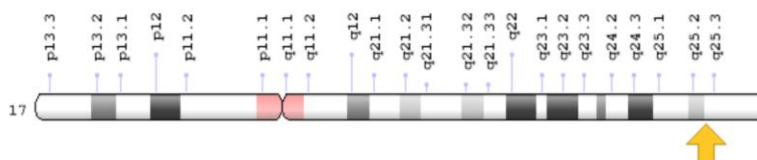


Figura 4 - Localização cromossômica do gene SEPT9 no cromossoma 17, adaptado de Genetics Home Reference (Library, 2020).

A metilação do DNA é uma importante modificação epigenética, que está intimamente relacionada com a ocorrência e desenvolvimento de tumores; essas metilações anormais presentes no CCR estão relacionadas com a sua patogénese, prognóstico e resposta à quimioterapia (Ma et al., 2019; Sun et al., 2019).

No caso de metilação do gene da SEPT9, que atua como um gene supressor de tumores, ocorre uma inibição da expressão normal do gene supressor tumoral e da reparação celular, e, conseqüentemente, acontece uma perda da regulação do ciclo

celular, promovendo-se assim o desenvolvimento do CCR (Ma et al., 2019; Sun et al., 2019).

A forma metilada do *SEPT9* foi detetada em amostras de epitélio colónico, com recurso a enzimas de restrição sensíveis à metilação, com valores muito superiores no plasma humano de doentes com CCR. Posto isto, detetou-se que mais de 90% do tecido tumoral tinha quantidades de mseptina 9 superiores às encontradas no tecido mucoso do cólon normal (Nian et al., 2017; Sun et al., 2019).

O grau de metilação do gene *SEPT9* aumenta gradualmente com o desenvolvimento progressivo do tecido neoplásico, sendo também superior em tecidos neoplásicos menos diferenciados. Assim sendo, a sua utilização como biomarcador permite auxiliar na determinação da fase molecular do CCR (Church et al., 2014; Nian et al., 2017).

O teste Septina9 consiste numa simples análise sanguínea, que permite detetar a presença da forma metilada do gene *SEPT9*. Este é considerado um biomarcador tumoral específico e sensível do CCR, detetável no sangue na forma de DNA livre, porque o seu material genético é libertado pelas células tumorais, desde o início da carcinogénese (Church et al., 2014; Infogene, 2012; Ladabaum et al., 2013; Nian et al., 2017; Tóth et al., 2012).

Este teste foi desenvolvido pela Oncoalert, empresa portuguesa pertencente à Infogene, em parceria com vários institutos internacionais. Este método surgiu de forma a fornecer uma alternativa mais cómoda e menos invasiva na deteção precoce do CCR, melhorando a aceitação dos planos de rastreio à população (Church et al., 2014; Infogene, 2012; Ladabaum et al., 2013; Sun et al., 2019; Tóth et al., 2012).

No âmbito da realização deste teste, é necessário que os indivíduos sejam elegíveis e reúnam todas as condições necessárias para a sua realização, tais como a prescrição médica e o consentimento informado assinado, antes da colheita da amostra de sangue. A requisição da prescrição médica deve ser realizada por um médico de família, gastroenterologista, urologista ou ginecologista, como teste individual ou parte integrante da análises de rotina (Church et al., 2014; Infogene, 2012; Ladabaum et al., 2013; Sun et al., 2019; Tóth et al., 2012).

A realização do teste Septina9 destina-se principalmente à seguinte população alvo (Church et al., 2014; Infogene, 2012; Ladabaum et al., 2013; Sun et al., 2019; Tóth et al., 2012):

- Indivíduos que não realizam colonoscopias de rotina, conforme as recomendações dos programas de rastreio colorretal;
- Indivíduos de ambos os géneros assintomáticos a partir dos 50 anos;
- Indivíduos que tenham dois ou mais familiares em 2.º grau com cancro ou pólipos, ou com um familiar em 1.º grau com cancro antes dos 60 anos;
- Doentes com complicações clínicas impeditivas da realização de método invasivos, tais como insuficiência cardiopulmonar grave, enterostenose ou perfuração intestinal;
- Indivíduos com historial pessoal de CCR ou adenomas anteriores;
- Doentes portadores de doenças inflamatórias intestinais, como síndrome de Lynch ou polipose adenomatosa familiar.

Contudo, a aplicação clínica deste teste é contraindicada em grávidas, porque os níveis de mseptina9 presentes no plasma são alterados no curso do desenvolvimento embrionário, podendo dar origem a resultados falso-positivos (Infogene, 2012).

Por outro lado, este teste não substitui a necessidade de realização posterior de colonoscopia, sobretudo em indivíduos com antecedentes pessoais e/ou familiares da doença,(Infogene, 2012).

Como já foi referido, o teste Septina9 é um método de rastreio complementar à colonoscopia. É mais específico e menos invasivo, e apresenta diversas vantagens, comparativamente aos restantes métodos de diagnóstico (Church et al., 2014; Nian et al., 2017; Sun et al., 2019; Tóth et al., 2012).

Os métodos mais sensíveis e específicos são mais invasivos para o doente e a sua adesão é consideravelmente reduzida. Contudo, os métodos menos invasivos apresentam baixa especificidade e sensibilidade, tal como é possível visualizar mais detalhadamente na Tabela 13. apresentada em seguida (Nian et al., 2017; Sun et al., 2019; Tóth et al., 2012).

Tabela 13. Principais limitações dos métodos convencionais de rastreio ao cancro colorretal (CCR) (Nian et al., 2017; Sun et al., 2019; Tóth et al., 2012).

Métodos de diagnóstico do CCR convencionais	Limitações
<u>Exame de sangue oculto nas fezes</u>	Sensibilidade limitada deteta o cancro do colorretal em apenas 33-75% dos casos
<u>Colonografia por tomografia computadorizada</u>	Deteta o CCR ou adenomas com dimensões superiores a 10 mm em 90% dos casos, necessita de preparação intestinal prévia; exposição a radiação de raios X; método com custo elevado
<u>Sigmoidoscopia flexível</u>	Reduz a incidência do CCR em 23% e a mortalidade em 31% pois têm um alcance limitado de toda a extensão intestinal; incapacidade de detetar lesões no cólon proximal; baixa taxa de adesão; necessidade de preparação intestinal; requisitos de tempo pré e pós procedimento, método invasivo e com um custo elevado
<u>Colonoscopia</u>	Apesar de apresentar uma elevada especificidade para o CCR com redução da incidência até 72%, apresenta necessidade de preparação intestinal prévia; método invasivo e com um custo elevado; necessidade de sedação; requisitos de tempo pré e pós procedimento; probabilidade de complicações associadas a perfurações intestinais; baixa taxa de adesão

O teste de rastreio Septina9 é consideravelmente mais caro, que os testes fecais, mas de menor custo quando comparado à colonoscopia (Church et al., 2014). A sua realização apresenta uma boa relação custo-benefício a médio prazo, ao prevenir e detetar o cancro do cólon em fases iniciais. Comparativamente às despesas, associadas ao tratamento do CCR em fases mais avançadas, o seu custo de realização é compensatório ao permitir o diagnóstico atempado da doença e, conseqüentemente, a redução dos custos associados a tratamentos e cuidados mais prolongados (Ladabaum et al., 2013).

O teste Septina9 oferece inúmeras vantagens face aos métodos de rastreio anteriormente referidos, das quais se destacam (Infogene, 2012; Ladabaum et al., 2013; Tóth et al., 2012):

- Pouco invasivo: Realizado a partir da recolha de uma amostra de sangue, sem desconforto para o paciente, e permite uma realização mais periódica do rastreio ao cancro cólon-retal (Infogene, 2012; Tóth et al., 2012);

- Deteta todos os tipos de CCR independente da localização do tumor: Apresenta sensibilidade independente do estágio clínico, do grau histológico da neoplasia e ainda da localização do tumor. Quando o carcinoma se encontra do lado direito, é mais comum a presença de lesões do tipo plana. No caso de se localizar no lado esquerdo, encontram-se mais frequentemente as lesões do tipo polipoide do cólon (Ladabaum et al., 2013; Tóth et al., 2012);
- Não requer colheita de amostra fecal: Evita falso-positivos por deteção das fezes de sangramentos acidentais, em casos como o de hemorroidas (Infogene, 2012; Tóth et al., 2012);
- Não requer preparação prévia: Não é necessário a realização do jejum ou dieta específica antes do exame, nem a preparação intestinal com uso de laxantes (Infogene, 2012; Tóth et al., 2012);
- Melhor rendimento: Apresenta elevada sensibilidade (80,6%) e especificidade (99,3%). Em dois resultados obtidos positivos no teste, há pelo menos um que terá efetivamente a patologia tumoral (Infogene, 2012; Tóth et al., 2012).

A realização deste teste não necessita de preparação prévia do paciente, nem alteração dos seus hábitos alimentares ou medicação, antes da recolha da amostra (*Detecção precoce do câncer de cólon em plasma*, 2015). O processo de recolha da amostra sanguínea ocorre, num laboratório de análises autorizado pelo laboratório da Infogene (*Detecção precoce do câncer de cólon em plasma*, 2015). Posteriormente ao processo de recolha da amostra, esta é encaminhada para a Infogene, na qual vão ser realizadas as restantes etapas do processo, com uma duração média de 10 dias até à divulgação dos resultados (Infogene, 2012).

A tecnologia presente na realização do teste Septina9 para a deteção do DNA tumoral presente no plasma é a técnica laboratorial de PCR em tempo real (*Detecção precoce do câncer de cólon em plasma*, 2015). A tabela 14. evidencia as etapas, em laboratório, da realização do teste Septina9.

Tabela 14. Etapas laboratoriais do teste Septina9 (Church et al., 2014; Infogene, 2012; Sun et al., 2019; Tóth et al., 2012).

1. ^a Etapa Colheita da amostra	2. ^a Etapa Obtenção da amostra de plasma	3. ^a Etapa Extração de DNA das amostras de plasma
Devem ser obtidos 2 tubos com sangue por paciente. É recomendado que a recolha da amostra seja realizada utilizando um dos seguintes tubos; <u>Tubo BD Vacutainer K2EDTA (10 ml)</u>: Conservar a 2-8°C por no máximo 24 horas antes da obtenção do plasma; <u>Tubo S-Monovette (9ml) K3E</u>: Conservar a 2-8°C por no máximo 24 horas antes da obtenção do plasma; <u>Tubo S-Monovette (8,5ml) CPDA</u>: Conservar a temperatura ambiente por no máximo 48 horas antes da obtenção do plasma.	1.º Centrifugar o sangue recolhido nos dois tubos de colheita, durante 12 minutos a 1350+/-150 RCF; 2.º Retirar o tubo da centrífuga; 3.º Se for observada hemólise na amostra, deve ser realizada uma nova centrifugação com outra amostra; 4.º No caso de o plasma apresentar uma coloração clara, transfere - se o plasma centrifugado para outro tubo de centrifuga de fundo cônico com polipropileno; 5.º Centrifugar o plasma no tubo de 15ml durante 12 minutos a 1350+/-150 RCF; 6.º Transferir com uma nova pipeta de 22,5 cm os 3,5 ml de plasma obtidos anteriormente para um novo tubo de centrifuga; 7.º Enviar os 7 ml (3,5ml por tubo) de plasma e armazenar até a sua utilização, congelando a amostra em gelo seco -20°C;	A extração de DNA de amostras de plasma e a conversão de bissulfito foram realizadas usando o Epi proColon 2.0. <u>1.º Conversão do DNA em Bissulfito</u>: O DNA extraído é convertido com bissulfito, nesse processo a citosina não metilada é substituída por nucleotídeos de timina, enquanto as citosinas metiladas permanecem como citocinas; <u>2.º Amplificação por PCR</u>: As sequências de DNA convertidas em bissulfito metiladas foram amplificadas por PCR em tempo real, tendo sido utilizado oligonucleotídeos bloqueadores de PCR e sondas específicas de metilação; <u>3.^a Detecção da mSeptina9 por PCR fluorescente</u>: Detecção específica com a utilização de bloqueadores específicas da sequência não metilada convertida em bissulfito e iniciadores projetados em regiões sem dinucleotídeos CpG para reações de PCR.

Legenda: RCF – Abreviatura de força centrífuga relativa; DNA – Abreviatura de ácido desoxirribonucleico; PCR – Abreviatura de reação em cadeia da polimerase

O teste Septina9 apresenta uma elevada especificidade e sensibilidade, como referido anteriormente, um valor preditivo negativo de 99,9% e um valor preditivo positivo de 45,7% (*Detecção precoce do câncer de cólon em plasma*, 2015),(Infogene, 2012).

A Tabela 15. coloca em evidência a interpretação dos resultados do Septina 9, tanto num caso positivo, como negativo.

Tabela 15. Interpretação dos resultados do teste SEPTINA9, (*Detecção precoce do câncer de cólon em plasma*, 2015).

Resultado Negativo	Resultado Positivo
Não é detetada a presença de mSEPT9 no plasma do paciente. O paciente é classificado aparentemente como saudável com 99% de precisão, que não sofre de CCR. Contudo nenhum método é infalível podendo ocorrer falsos negativos. Posto isto, é recomendável repetir-se esta análise a anual ou bianualmente.	Quando é detetada a presença de mSEPT9 no plasma do paciente. Este indica que há probabilidade de ter CCR, devendo logo que possível aconselhar -se com o seu médico para se submeter a uma colonoscopia para confirmação diagnóstico e se dar início ao tratamento. Em cada dois pacientes com resultados positivos para o teste, um têm a patologia tumoral.

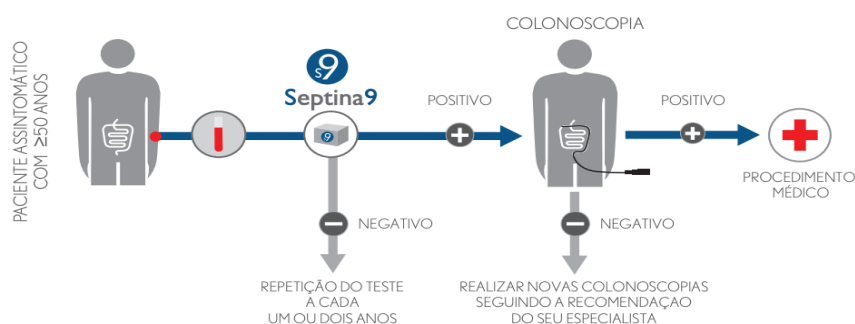


Figura 5 - Esquema resumo do procedimento da Septina9, adaptado de (SYNLAB, 2015).

A fiabilidade dos resultados do teste Septina9, revelou-se muito superior à maioria dos métodos de diagnóstico, sobretudo comparativamente às técnicas de diagnóstico não invasivo (Infogene, 2012). Este teste, ao constituir um método de diagnóstico não invasivo, permite uma maior aceitação por parte do doente, sendo por isso facilmente repetido anual ou bianualmente. Para além disso, dada a fiabilidade dos seus resultados, demonstrada cientificamente, espera-se que a sua aplicação aumente a adesão a programas de rastreio CCR (*Detecção precoce do câncer de cólon em plasma*, 2015).

2.2. Teste genético de suscetibilidade Guardant 360

O cancro é a segunda causa de morte no mundo, cuja incidência e mortalidade a nível global foram de aproximadamente 18,1 milhões e 9,6 milhões, respetivamente, em 2018, segundo o Globocan (Mathai et al., 2019).

Trata-se de uma patologia que envolve diversas mutações no seu genoma celular. Essas mutações aleatórias, ocorrem devido à instabilidade genómica das células cancerígenas, que conferem ‘imortalidade’ às células tumorais. A ‘imortalidade’ das células cancerígenas depende da capacidade de sinalização proliferativa, do bloqueio supressor tumoral, da inibição da apoptose, do desenvolvimento da angiogénese, e da ocorrência do processo de metastização (Mathai et al., 2019).

A quimioterapia é cada vez mais eficaz, contudo raramente é curativa. A maioria dos doentes com doença metastática, apresentam progressão da doença no decorrer do tratamento. Deste modo, surge a necessidade de reavaliar em tempo útil as alterações genómicas dos tumores em progressão (Kim et al., 2015; Mathai et al., 2019).

Em seguida, são referidos alguns exemplos de alterações genómicas com impacto na resistência à terapêutica (Lanman et al., 2015):

- Mutações nos exões 12 e 13 do gene *KRAS* no CCR, adquirem resistência à terapia anti-EGFR;
- Mutação negativa no fator de crescimento epidérmico humano recetor tipo 2 (*HER2*), origina resistência na eficácia terapêutica do trastuzumab no cancro da mama;
- Mutações no *ESR1* com recetores de estrogénio – ER – positivos desenvolvem resistência aos inibidores da aromatase;
- Mutações no *EGFR* T790M originam resistência aos inibidores de tirosina-quinase de primeira linha – TKIS – no cancro do pulmão de células não pequenas.

Perante o aumento da resistência ao tratamento quimioterapêutico, verifica-se que o crescente desenvolvimento de novas terapêuticas direcionadas e combinadas para alterações genéticas específicas tem prolongado o tempo de sobrevida em pacientes com cancro, comparativamente com quimioterapias citotóxicas convencionais (Lanman et al., 2015).

Nesse sentido, surge o conceito de oncologia de precisão, que fornece um tratamento mais personalizado e eficaz para cada doente com cancro, a partir do perfil genético de cada tumor. Trata-se de uma alternativa para enfrentar diversos obstáculos recorrentes no tratamento do cancro, como a resistência a medicamentos, a heterogeneidade genómica de tumores e a inexistência de métodos de monitorização da resposta terapêutica. A implementação clínica da oncologia de precisão depende da identificação e deteção de biomarcadores moleculares que permitam antever o prognóstico, a sensibilidade ou a resistência a um agente único específico, terapias combinadas e reações adversas a medicamentos específicas (Kim et al., 2015; Mathai et al., 2019).

A biópsia líquida deteta os biomarcadores tumorais, que fornecem informações proteómicas e genómicas do tumor em questão através essencialmente do isolamento de (Kim et al., 2015; Mathai et al., 2019):

- CTC, que são as células tumorais intactas lançadas dos locais primários do tumor e dos locais metastáticos para o sistema circulatório;
- CtDNA, que se trata do DNA libertado na circulação como fragmentos por apoptose e necrose de células cancerígenas;
- Exossomas circulantes do tumor, que são uma bicamada lipídica que contém proteínas transmembranares e não membranares.

No âmbito da oncologia de precisão, surge então a biópsia líquida, uma técnica que permite detetar as células cancerígenas que são diretamente libertadas na corrente sanguínea, a partir das quais é possível realizar a reconstituição do genoma tumoral (Kim et al., 2015; Mathai et al., 2019).

O isolamento do CtDNA, acima referido, é conseguido a partir de uma amostra de sangue e é analisado por recurso ao sequenciamento genómico para a deteção de todas as mutações clinicamente relevantes. O DNA tumoral circulante pode ser utilizado clinicamente como indicador de prognóstico de sobrevivência. As informações provenientes do seu sequenciamento genómico permitem revelar as características clínico-patológicas do tumor, o que auxilia na monitorização da sua progressão e no controlo do surgimento de metástases e/ ou recidivas (Guardant Health, 2020).

O recurso à biópsia líquida para análise do CtDNA pode ser aplicado na monitorização e pós-tratamento de uma terapia oncológica, porque a biópsia líquida não deteta apenas as mutações, mas também o nível sanguíneo de CtDNA. No caso de o nível sanguíneo das células tumorais ser elevado, o nível de CtDNA também se

encontra elevado. Deste modo, pode monitorizar-se periodicamente a resposta terapêutica de um tumor a uma terapia direcionada com base no nível CtDNA, que diminui proporcionalmente com a redução tumoral. Consequentemente, é utilizado para adequar as terapias de forma mais individualizada e específica a cada paciente, sem necessidade de recorrer à realização de uma biópsia tecidual (Mathai et al., 2019; Nian et al., 2017).

Resumidamente destacam-se as seguintes vantagens da biópsia líquida (Lanman et al., 2015; Mathai et al., 2019):

- Auxília a oncologia de precisão fornecendo conhecimento sobre a heterogeneidade espacial e temporal do cancro;
- Necessita apenas de uma pequena amostra de sangue;
- Procedimento pouco invasivo que permite a deteção precoce do cancro;
- Permite a monitorização em tempo real das respostas relativas à resistência ao tratamento sem necessitar de repetidas biópsias teciduais.

Trata-se de um método inovador de diagnóstico complementar, que evita a realização recorrente de uma biópsia invasiva, quando a biópsia inicial do doente não é suficiente para os restantes testes moleculares. O Guardant 360 foi a primeira biópsia líquida validada clinicamente. A mesma recorre à análise molecular do ctDNA. A Guardant Health lançou-o em 2014 e a sua utilização é, neste momento, recomendada por oncologistas de todo o mundo em mais de 1000 hospitais, tendo sido já aplicada em mais de 40000 doentes (Yang et al., 2017). A sua técnica de análise, utiliza a plataforma de sequenciamento digital, o qual permite atingir uma especificidade analítica de 99,6%, detetando até 0,1% DNA tumoral. Este ensaio permite obter informação de todo o tumor, ou seja, analisar todas as características biológicas do mesmo (Circulante, 2016; Mathai et al., 2019).

Este teste consiste num painel NGS com mais de 50 genes, cuja deteção ocorre por sequenciamento digital do DNA tumoral circulante sem células, através de uma simples amostra sanguínea (Kim et al., 2015; Lanman et al., 2015). As alterações genómicas presentes no painel foram escolhidas, dada a sua relevância clínica por se encontrarem diretamente relacionadas com as linhas terapêuticas, aprovadas pela agência FDA (*Food and Drug Administration*) e com ensaios clínicos existentes para os diversos tipos de tumores sólidos (Lanman et al., 2015; Mathai et al., 2019).

Esta técnica inovadora tem demonstrado elevada especificidade para a identificação de alterações genómicas clinicamente relevantes, como por exemplo: mutações pontuais, indel, amplificações e fusões presentes durante a progressão do

tumor. Na Figura 6. encontram-se as alterações genómicas detetadas pelo Guardant 360 (Mathai et al., 2019).

Mutações Pontuais (SNVs) (73 genes)					Indel (23 genes)		Amplificações (18 genes)		Fusões (6 genes)	
AKT1	GNAQ	PTPN11	DDR2	MYC	ATM	APC	AR	BRAF	ALK	
BRAF	JAK3	ROS1	FGFR2	NTRK3	ARID1A	BRCA1	CCND1	CCND2	IFR2	
CDK4	MET	VHL	HRAS	RET	BRCA2	CDH1	CCNE1	CDK4	IGF3R	
ESR1	NOTCH1	AR	MAP2K1/MEK1	STK11	CDKN2A	EGFR	CDK6	EGFR	NTRK1	
GNA11	PTEN	CCND1	MTOR	ATM	ERBB2	GATA3	ERBB2	FGFR1	RET	
JAK2	RIT1	CTNNB1	NTRK1	CDH1	KIT	MET	FGR2	KIT	ROS1	
MAPK3/ERK1	TSC1	FGFR1	RB1	ERBB2(HER2)	MLH1	MTOR	KRAS	MET		
NFE2L2	APC	HNF1A	SMO	GATA3	F1	PDGFRA	MYC	PDGFRA		
PIK3CA	BRCA2	KRAS	ARID1A	IDH2	PTEN	RB1	PIK3CA	RAF1		
RHOA	CDKN2A	MPL	CCNE1	MAPK1/ERK2	SMAD4	STK11				
TP53	FBXW7	NRAS	EGFR	NF1	TP53	TSC11				
ALK	GNAS	RAF1	FGFR3	PDGFRA	VHL					
BRCA1	KIT	SMAD4	IDH1	RHEB						
CDK6	MLH1	ARAF	MAP2K2/MEK2	TERT**						
EZH2	NP1	CCND2								

Figura 6 - Imagem relativa à listagem das alterações genómicas detetadas pelo Guardant 360, adaptado de Guardant 360 (LabcoNOUS, 2015).

Como referido anteriormente, a aplicação clínica deste tipo de biópsia não deve substituir a biópsia inicial do tecido, pois o diagnóstico histopatológico completo do tumor primário é crítico (Lanman et al., 2015). Encontra-se contraindicada a sua realização nas seguintes situações: malignidades hematológicas; tumores sólidos estáveis em fases I-II; doença com progressão estável, e ainda durante a quimioterapia ou radioterapia (Circulante, 2016).

O Guardant 360 é um teste indicado, antes do início, do tratamento de primeira linha ou com doença em progressão para doentes com tumores sólidos avançados ou metastáticos, nas seguintes situações clínicas (Circulante, 2016; Lanman et al., 2015; Mathai et al., 2019; Nian et al., 2017):

- Existência de progressão da doença com o tratamento atual;
- Quantidade insuficiente de tecido para biópsia e/ou por qualidade inadequada da amostra biopsiada para NGS;
- Impossibilidade de realização de biópsia tecidual por se encontrar numa zona inatingível;
- Existência de tecido biopsiado com mais 6 meses;
- Realização anterior de uma ou mais linhas terapêuticas desde a última biópsia com resultados pouco significativos;
- Preferência do doente pela realização não invasiva de uma avaliação do perfil genético do tumor.

Este teste é uma opção extremamente benéfica no planeamento terapêutico dos doentes mais debilitados, com tumores sólidos em estadios mais avançados da doença, em alternativa à biópsia invasiva, no caso de o tecido da amostra ser

insuficiente ou de a mesma ser pouco conclusiva (Circulante, 2016; Guardant Health, 2020; Yang et al., 2017).

A taxa de sucesso é de 99,8% para o painel Guardant360, o que contrasta enormemente com as taxas de insucesso do teste NGS em amostras de tecido em cerca de 25%. Na maioria dos casos, estas taxas de insucesso devem-se, em cerca de 20%, à quantidade insuficiente de tecido e, em aproximadamente 5% dos casos por ineficiente sequenciação (Kim et al., 2015; Mathai et al., 2019).

A biópsia cirúrgica é a técnica mais habitualmente realizada no diagnóstico e caracterização genética do tumor. Contudo, a sua aplicação clínica na monitorização a longo prazo possui diversas limitações (Mathai et al., 2019; Yang et al., 2017):

- Possibilidade de obtenção de resultados falso-negativos, devido à acessibilidade limitada da biópsia cirúrgica ao tecido tumoral;
- Informação escassa relativamente à heterogeneidade espacial e temporal do tumor l;
- Risco de complicações clínicas do paciente, durante o procedimento da biópsia cirúrgica;
- Elevado custo do procedimento, devido à necessidade de utilização de recursos humanos extremamente qualificados, material cirúrgico e sedação;
- Atrasos no início do tratamento inerentes à imprevisibilidade do tempo de espera até a obtenção dos resultados.

Comparativamente à biópsia tecidual, este avalia, de forma não invasiva, todos os alvos genómicos com menor tempo de espera, entre a avaliação inicial e o início do tratamento (Lanman et al., 2015; Mathai et al., 2019).

O teste Guardant 360 surge como uma técnica revolucionária, que supera as limitações da biópsia tecidual, e pode fornecer uma deteção rápida da genética do tumor. Este apresenta diversas vantagens comparativamente à biópsia tecidual (Lanman et al., 2015; Mathai et al., 2019):

- Método minimamente invasivo;
- Evita a múltipla realização de biópsias invasivas;
- Diminui o risco das complicações de hospitalização por hemorragia das biópsias invasivas com agulha em metástases viscerais, bem como no risco de pneumotórax por aspiração transtorácica ou transbrônquica;
- Elevada especificidade analítica: Permite a cobertura de muitos genes sem os falsos positivos observados frequentemente nos ensaios de sequenciamento tradicionais em frequências de alelos mutante abaixo de 5%;

- Redução dos custos e tempo associado às biópsias invasivas de tecidos para testes genómicos;
- Evita desperdício de tempo e custo de terapias não eficazes;
- Permite monitorização da doença após tratamento.

A biópsia líquida tem fornecido evidências científicas consistentes de que a deteção da mutação do ctDNA constitui um método menos invasivo, mais sensível e específico. Permite a realização de um diagnóstico precoce, prognóstico, adaptação terapêutica e monitorização de resistência, ultrapassando assim, os erros de amostragem de biópsia cirúrgica relacionados com a heterogeneidade intra ou inter-tumoral. A Figura 7. demonstra, em percentagem, a elevada precisão, sensibilidade e especificidade do Guardant 360, comparativamente à biópsia tecidual (Circulante, 2016; Kim et al., 2015; Mathai et al., 2019; Yang et al., 2017).

	Guardant360	Tecido (NGS)
Sensibilidade Clínica	85,0%	80,7%
Especificidade Clínica	99,6%	99,7%
Precisão Diagnóstica	99,3%	99,3%

Figura 7 - Base científica do Guardant 360, adaptado de (Guardant 360, 2015).

As condições necessárias para a realização do Guardant 360, englobam a prescrição médica com o pedido realizado pelo médico oncologista; o consentimento informado assinado pelo doente; a recolha de dois tubos de amostra de sangue num dos kits recomendados. A recolha deve ser realizada pelo menos duas semanas depois de tratamentos com quimioterapia intravenosa, radioterapia ou no caso da realização de biópsia tecidual (Circulante, 2016). A execução laboratorial do Guardant 360 exige um laboratório certificado pelas alterações da *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA) para testes de grande complexidade e ainda credenciado pelo CAP (Lanman et al., 2015; Mathai et al., 2019).

A tecnologia presente na realização do teste Guardant 360 para a deteção do ctDNA presente no plasma é a técnica laboratorial de sequenciação de segunda geração com NextSeq 500, HiSeq 2500 'Illumina 2500' (Lanman et al., 2015; Mathai et al., 2019; Odegaard et al., 2018). As etapas laboratoriais, desde a recolha da amostra até a elaboração do relatório clínico do teste Guardant 360, encontram-se resumidas na Tabela 16.

Tabela 16. Etapas laboratoriais do teste Guardant 360 (Lanman et al., 2015; Mathai et al., 2019; Odegaard et al., 2018).

1.ª Etapa – Recolha da amostra	Recorrendo às instruções do kit de colheita de sangue clínico Guardant 360, da Guardant Health foram recolhidos 2x10 ml de sangue venoso periférico.
2.ª Etapa – Armazenamento da amostra	Acondicionamento da amostra num isolamento térmico acolchoado, para conter o risco de contaminação biológica.
3.ª Etapa – Extração do plasma	Realiza-se por centrifugação do sangue total (1.600xg por 10 min a 10°C), e posteriormente do sobrenadante. O plasma obtido é transferido para um novo tubo a 2°C para extração imediata ou armazenado a -80°C.
4.ª Etapa – Extração do ctDNA	Na extração do ctDNA, deve-se garantir que a amostra sanguínea recolhida de 10 ml, contenha pelo menos 5 a 30 ng de ctDNA. Este é posteriormente marcado com códigos de barras oligonucleotídeos não aleatórios, que são usados em seguida para a preparação das bibliotecas de sequenciação. O isolamento deve ser realizado com o kit apropriado e com recurso a solventes orgânicos com fenol, clorofórmio ou esferas magnéticas.
5.ª Etapa – Sequenciação completa do ctDNA	Sequenciamento por uso da sequenciação de segunda geração com NextSeq 500, HiSeq 2500 (Illumina 2500), com o auxílio da bioinformática na utilização de algoritmos. Tal permite a reconstrução de sequências digitais robustas de fragmentos de DNA.
6.ª Etapa - Análise das alterações genómicas	Análise bioinformática e deteção de variantes da sequência usando um 'pipeline' de análise personalizado para detetar as quatro principais alterações genómicas.
7.ª Etapa – Relatório clínico	Validação analítica a partir da elaboração do relatório clínico, no qual constam, de forma quantitativa, todas as alterações genómicas detetadas com significado clínico, bem como as

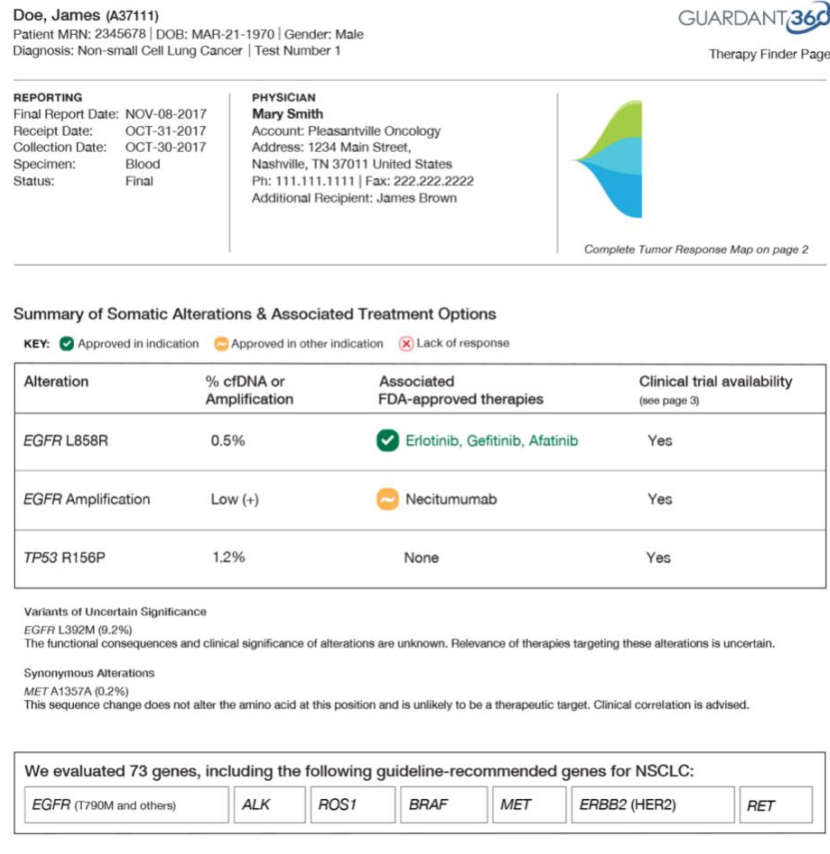


Figura 9 - Exemplo de um relatório clínico do Guardant 360, adaptado de Validation of a Plasma-Based Comprehensive Cancer Genotyping Assay (Odegaard et al., 2018).

O Guardant 360 tem contribuindo para a evolução da medicina personalizada, ao acelerar os programas de desenvolvimento clínico, tornando mais rápida a comercialização de novos medicamentos. Este auxilia na identificação de pacientes, cujo cancro tem um perfil molecular certo para o seu programa clínico, monitorizando a sua resposta a esses mesmos medicamentos experimentais (Guardant Health, 2020; Yang et al., 2017).

Deste modo, o Guardant 360 veio revolucionar o tratamento oncológico, nas últimas décadas, com base na identificação das características genómicas do tumor (Circulante, 2016; Mathai et al., 2019). Assim, é possível personalizar para cada doente a opção terapêutica mais direcionada para determinado tipo de tumor, otimizando a taxa de sucesso da resposta terapêutica e aumentando o tempo de sobrevivência dos doentes oncológicos em fases mais avançadas (Circulante, 2016; Lanman et al., 2015; Mathai et al., 2019; Yang et al., 2017).

2.3. Teste genético de monitorização Uromonitor

O cancro da bexiga encontra-se entre as cinco doenças malignas mais frequentes em todo o mundo (Goodison, Rosser, & Urquidi, 2013). Trata-se da neoplasia maligna mais frequente do sistema urinário, que afeta cinco vezes mais homens do que mulheres, sendo a sua idade média de diagnóstico 65 anos (Batista et al., 2019; Goodison et al., 2013). A sua incidência média anual é de cerca de 330 000 pessoas em todo o mundo e, aproximadamente 145.000 indivíduos padecem da mesma todos os anos (Goodison et al., 2013; Ipatimup, 2018). Na maioria das situações clínicas, a doença encontra-se circunscrita à mucosa, não tendo capacidade de infiltração na camada muscular da bexiga, designando-se cancro da bexiga não muscular invasivo, (Batista et al., 2019; Goodison et al., 2013). Este tipo de tumor apresenta um prognóstico mais favorável desde o momento da deteção, sobretudo aquando de um diagnóstico precoce, a taxa de sobrevida em 5 anos é de cerca de 94% (Goodison et al., 2013).

Neste tipo de tumor, não é habitualmente necessária uma cirurgia radical, podendo ser tratado por ressecção transuretral do tumor (Goodison et al., 2013; Ipatimup, 2018). A Figura 10. representa o processo evolutivo do cancro não invasivo muscular da bexiga, e o desenvolvimento do cancro muscular invasivo da bexiga, bem como o seu processo de invasão, ao longo das camadas da mucosa da bexiga.

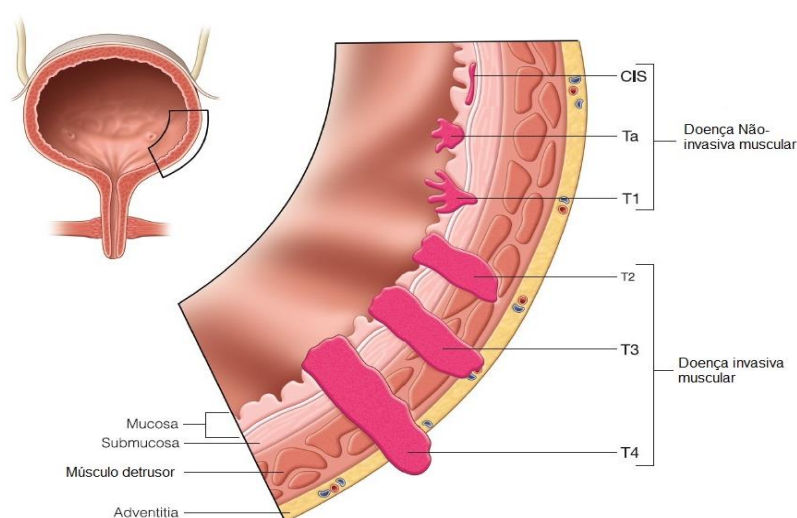


Figura 10 - Diagrama das fases do cancro da bexiga, adaptado de Medicina Net (Bellmunt, joaquim; Nadal, 2015).

No entanto, o principal problema reside na reincidência da doença em cerca de 70% dos casos nos dois anos seguintes, mesmo após tratamento por Ressecção Transuretral (TUR) e remoção primária do tumor, tornando-se necessário que os pacientes sejam submetidos a um programa de acompanhamento intensivo (Batista et al., 2019; Goodison et al., 2013; Ipatimup, 2018).

Deste modo, torna-se fundamental a monitorização pós-tratamento regular dos doentes na deteção de possíveis recidivas e, se necessário, intervenção cirúrgica para evitar a progressão de tumores em estadio inicial (Batista et al., 2019; Goodison et al., 2013; Ipatimup, 2018). A monitorização do aparecimento de novos tumores da bexiga implica habitualmente a realização de citologia da bexiga e/ou e cistoscopia da urina (Goodison et al., 2013; Hayashi et al., 2019; Ipatimup, 2018). Estes exames, segundo as diretrizes internacionais, devem ser realizados a cada 3 meses durante 2 anos, posteriormente a cada 6 meses por dois anos e, a partir de então devem ser realizados uma vez por ano (Batista et al., 2019; Goodison et al., 2013; Ipatimup, 2018). Neste tipo de cancro, tendo em conta a frequência com que estes exames têm de ser realizados, a sua monitorização torna-se numa das mais dispendiosas (Batista et al., 2019; Ipatimup, 2018). O método de avaliação por citologia da urina, consiste numa visualização microscópica de células cancerígenas presentes na urina. A sensibilidade da técnica é relativamente baixa, cerca de 20-40% na deteção de tumores em fase inicial, porque estas lesões libertam poucas células cancerígenas na urina, podendo originar resultados falsos negativos (Goodison et al., 2013; Hayashi et al., 2019; Ipatimup, 2018).

Por sua vez, a cistoscopia é um procedimento endoscópico invasivo da bexiga, cuja realização cria dor e desconforto aos doentes, necessitando da realização de anestesia. É por isso considerado um procedimento dispendioso. Na Figura 11. é possível visualizar uma imagem ilustrativa da realização de uma cistoscopia. Pode ser observado o interior da bexiga, bem como a recolha de biópsias suspeitas para diagnóstico e monitorização (Goodison et al., 2013; Hayashi et al., 2019; Ipatimup, 2018).

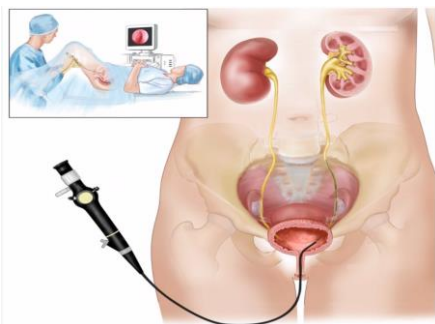


Figura 11 - Imagem ilustrativa da realização de uma cistoscopia, adaptado de (UnMedicare, 2020).

Torna-se assim relevante o desenvolvimento de novos ensaios não invasivos na monitorização do cancro da bexiga, que reduzam a necessidade da realização mais frequente de cistoscopias, o que constituiria uma enorme vantagem para os doentes e para o sistema nacional de saúde (Batista et al., 2019; Goodison et al., 2013). A existência de um teste de monitorização do cancro na bexiga não invasivo, permitiria a obtenção da amostra de forma não invasiva, o que iria reduzir bastante o desconforto do paciente, bem como a existência de possíveis complicações resultantes do procedimento invasivo. Permite ainda obter maiores quantidades de amostra, e repetir o exame mais frequentemente, pelo que são evidentes as vantagens este método (Goodison et al., 2013).

As mutações do promotor do gene da transcriptase reversa da telomerase (*TERT*), e mutações do promotor do gene do recetor 3 do fator de crescimento de fibroblastos (*FGFR3*) são alterações somáticas frequentes no cancro da bexiga não invasivo muscular que têm demonstrado, em diversos estudos, um enorme potencial como biomarcadores de monitorização (Batista et al., 2019; Hayashi et al., 2019). Nos tumores da *bexiga*, é possível detetar a mutação do promotor *TERT* em qualquer fase da doença. Contudo, a mutação do promotor *TERT* está mais presente em lesões pré-cancerígenas de baixo grau, por isso é considerado um indicador genético precoce da carcinogénese (Batista et al., 2019; Hayashi et al., 2019). Dentro das mutações no gene *TERT*, as mais relevantes são as seguintes: *TERTp*, um indicador de monitorização e deteção de recorrência no cancro da bexiga; *TERTpas*, que se trata de um indicador de mutações relevantes na transformação urotelial não presentes nas infeções inflamatórias ou urinárias; *TERTA*, considerado um biomarcador precoce da carcinogénese da bexiga (Batista et al., 2019; Hayashi et al., 2019).

As mutações no *FGFR3* são consideravelmente menos frequentes, e estão presentes em cerca de 80% dos cancros da bexiga não muscular invasivo de estágio inicial. Este é considerado um biomarcador confiável para a determinação da sua fase evolutiva, e ainda apresenta um papel relevante na determinação da eficácia a terapias direcionadas ao *FGFR3* (Batista et al., 2019; Hayashi et al., 2019).

Deste modo, o Uromonitor surge como uma alternativa não invasiva, que pode ser realizada como complemento da cistoscopia (Alvi et al., 2017; Ipatimup, 2018). Este teste consiste num ensaio ultrasensível capaz de detetar biomarcadores moleculares presentes em células tumorais libertadas na urina (Batista et al., 2019). O teste genético Uromonitor é um produto com marcação CE, em conformidade com a legislação europeia. Este foi desenvolvido por uma equipa de investigadores do Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto (IPATIMUP) especialistas

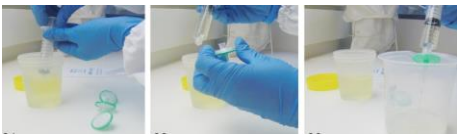
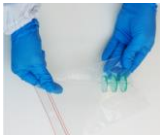
em biomarcadores na área da oncologia e genética molecular (Ipatimup, 2018). A sua validação clínica foi realizada através de amostras clínicas, provenientes de doentes nacionais e internacionais, sob vigilância para o cancro da bexiga não muscular invasivo, seguidos no Instituto Português de Oncologia do Porto (Alvi et al., 2017; Ipatimup, 2018). O teste é patenteado para a deteção de mutações no gene *FGFR3* e mutações do promotor do gene *TERT*, a fim de monitorizar a reincidência do cancro da bexiga não muscular invasivo a partir de uma amostra de urina (Alvi et al., 2017; Ipatimup, 2018).

A realização do teste Uromonitor é indicada como método complementar na monitorização de recidivas em doentes sob vigilância do cancro da bexiga e a todos os doentes, que necessitem e prefiram métodos de deteção menos invasivos (Ipatimup, 2018). Tendo em conta a sua sensibilidade e especificidade, pode substituir a cistoscopia em algumas situações como (Alvi et al., 2017; Batista et al., 2019): doentes aos quais não é possível realizar a cistoscopia ou se recusam a realizá-la; doentes de baixo risco sob vigilância, alternando com a realização da cistoscopia, de forma a diminuir o número de cistoscopias. Este teste genético de monitorização confiável não invasivo, apresenta os seguintes benefícios (Alvi et al., 2017; Hayashi et al., 2019):

- Tem elevada especificidade, independentemente do grau do tumor ao contrário da citologia;
- É realizado a partir de uma amostra simples de urina não criando desconforto ao doente na sua realização ao contrário da cistoscopia;
- É fácil e de simples execução, não necessitando de equipamento específico, além de um kit de urina que é disponibilizado gratuitamente;
- Tem sensibilidade superior a 97,3%, detetando a presença de 7 moléculas anormais em 1000 normais;
- Reduz o impacto económico associado à monitorização extensiva dos doentes que tiveram cancro da bexiga após tratamento.

A tecnologia presente na realização do teste Uromonitor para a deteção de alterações genómicas, presentes na urina é a técnica laboratorial de PCR em tempo real. As principais etapas laboratoriais do processo encontram-se descritas na Tabela 17 (Batista et al., 2019; Ipatimup, 2018).

Tabela 17. Etapas laboratoriais do teste Uromonitor (Batista et al., 2019; Ipatimup, 2018).

1. ^a Etapa	Requisição do kit de filtragem de urina do Uromonitor, a partir do formulário online, por parte do médico urologista.
2. ^a Etapa	Recolha da amostra de urina num frasco de recolha. Posteriormente, procede-se à filtragem da amostra até 4 horas para garantir a sua qualidade. Filtrar, com cada um dos três filtros fornecidos separadamente, a urina com a seringa de 10 ml presente no kit. Após as três filtrações, recolhe-se os três filtros – ver Figura 12. Figura 12. Procedimento de filtração da amostra, adaptado de (Uromonitor, 2017).  Os filtros, após serem tapados, são acondicionados num saco de fecho hermético e enviados para análise – ver Figura 13. Figura 13. Acondicionamento dos filtros recolhido, adaptado de (Uromonitor, 2017). 
3. ^a Etapa	Após a recolha da amostra, os filtros são enviados para o laboratório central de Ipatimup, onde o teste é executado e conservado no frio entre 2-8°C, pelo período máximo de 1 mês até a realização da extração de DNA.
4. ^a Etapa	A extração de DNA ocorre por filtração novamente a 4°C. Posteriormente, os filtros são colocados numa microcentrífuga de 2ml com uma solução de lise celular injetada em cada filtro e coletada em tubo de microcentrífuga.
5. ^a Etapa	Os lisados filtrados são incubados a 60°C por 30 minutos com 30µl de proteinase K a 10mg/ml, expostos a lise caotrópica /tampão de ligação para libertar os ácidos nucleicos e proteger o DNA das DNases.
6. ^a Etapa	Deteção das alterações genómicas por PCR em tempo real por discriminação específica por alelos competitivos. Esta técnica permite resultados robustos, sensíveis, permitindo uma interpretação clara dos resultados.
7. ^a Etapa	Desde a recolha das amostras até à entrega dos resultados, o período é de, habitualmente, 5 dias úteis.

Legenda: DNA – Ácido desoxirribonucleico, DNases –Desoxirribonuclease que tem como função quebrar as ligações fosfodiéster de DNA, PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

O teste *in vitro* apresentou cerca de 100% de sensibilidade e 97.3% de especificidade para o cancro da bexiga e elevada sensibilidade, independentemente do grau do tumor (Batista et al., 2019; Ipatimup, 2018). Deste modo, no caso de o resultado

ser positivo e de eventuais recorrências, recomenda-se a realização de uma cistoscopia confirmatória e tratamento por TUR. Contudo, se o resultado for negativo, o teste deve ser repetido na consulta de acompanhamento seguinte (Alvi et al., 2017; Sampaio et al., 2018). Na Figura 14. encontra-se um resumo das principais etapas da realização do teste Uromonitor, desde a recolha da amostra de urina até à obtenção dos resultados.

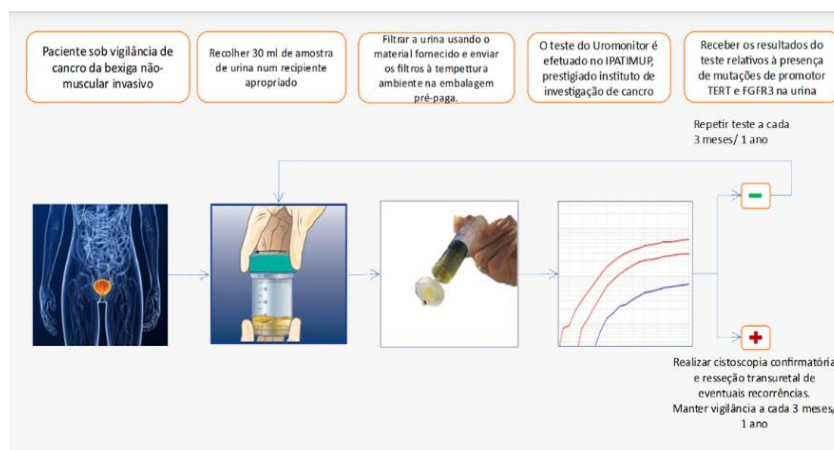


Figura 14 - Procedimento clínico da realização do Uromonitor, adaptado de (Uromonitor, 2020).

Após a apresentação e a descrição dos três testes genéticos realizadas ao longo deste capítulo, reuniu-se na Tabela 18., o resumo e a comparação das principais características de cada teste.

Tabela 18. Tabela resumo das principais características dos testes genéticos SEPTINA 9, Guardant 360 e Uromonitor.

	<u>SEPTINA 9</u>	<u>Guardant 360</u>	<u>Uromonitor</u>
Categoria de teste genético	Diagnóstico precoce	Susceptibilidade	Monitorização
Fundamento técnico	Deteção da forma metilada de mSeptina9	Biópsia líquida para análise do ctDNA	Deteção de mutações nos genes <i>FGFR3</i> e <i>TERT</i>
Empresa	Oncoalert	Guardant Health	IPATIMUP
Aplicação clínica	Rastreio do cancro colorretal (CCR)	Planeamento terapêutico personalizado e monitorização da resposta terapêutica de acordo com perfil genómico do tumor	Monitorização de recidivas do cancro da bexiga não muscular invasivo
População alvo	População saudável em grupos de risco	Doentes oncológicos não estáveis com tumor sólido	Ex-doentes oncológicos pós tratamento
Tipo de amostra recolhida	Sangue	Sangue	Urina
Tecnologia	PCR em tempo real	Sequenciação de segunda geração, Illumina 2500	PCR em tempo real
Duração do processo de análise	10 dias	7 dias	5 dias

Legenda: PCR - Reação em Cadeia da Polimerase; ctDNA – DNA tumoral circulante; *FGFR3* – Gene que codifica o recetor 3 do fator de crescimento de fibroblastos; *TERT* – Gene que codifica a transcriptase reversa da telomerase.

2.4. Contributo dos testes genéticos na prática Farmacêutica

Este subcapítulo pretende abordar o contributo, e a possibilidade de integração dos testes genéticos no contexto da prática farmacêutica, mais propriamente na farmácia comunitária.

A profissão farmacêutica encontra-se em constante mudança, o que exige que os farmacêuticos adaptem as suas competências à medida que os avanços científicos continuam a transformar a prática da medicina (Council, 2018; Interest, 2019; Kennedy, 2018). O papel do farmacêutico deve ser definido com clareza, face às crescentes expectativas da população, aos avanços tecnológicos e ao maior acesso de informação por parte da população (Christopher, John, 2018; Council, 2018).

Nos últimos 100 anos, a profissão farmacêutica evoluiu de um modelo focado na formulação e preparação de medicamentos, para um modelo de atendimento ao doente focado na dispensa e aconselhamento de medicamentos já previamente preparados (Aungst, Timothy, 2018; Kennedy, 2018).

Deste modo, as funções do farmacêutico comunitário resumem-se na sua grande maioria à dispensa de medicamentos, aconselhamento terapêutico e gestão de stocks. No entanto, apesar de a lei ainda não o permitir sem a supervisão de um farmacêutico, torna-se cada vez mais possível a possibilidade de automação da profissão farmacêutica no futuro (Aungst, Timothy, 2018; Christopher, John, 2018; Kennedy, 2018).

Posto isto, face às necessidades de evolução da profissão, o papel do farmacêutico tem de ser reinventado, e centrar-se cada vez mais nos cuidados e nas necessidades dos utentes e não tanto na venda de produtos com a prestação de serviços farmacêuticos avançados (Aungst, Timothy, 2018; Christopher, John, 2018; Kennedy, 2018).

Atualmente, a nova tendência da prestação de serviços farmacêuticos, consiste na venda direta de testes genéticos ao consumidor em farmácias comunitárias. Alguns países, como os Estados Unidos da América, Canadá e Austrália, já disponibilizam a venda de testes genéticos em farmácia (DTC) (Kennedy, 2018; Yousset Essra, Mostafa Sam, Wright David, 2020). Nos Estados Unidos da América, a distribuição de testes genéticos iniciou-se em 2010, pela empresa americana de biotecnologia Pathway Genomics na rede de farmácias Walgreen (Globo, 2010). Os testes genéticos que algumas dessas farmácias disponibilizam apresentam as seguintes aplicações (El-Ibiary, Cheng, & Alldredge, 2008; Patrinos, Baker, Al-Mulla, Vasiliou, & Cooper, 2013):

- Detecção de distúrbios monogénicos;

- Farmacogenómica para individualizar o tratamento farmacoterapêutico e para orientar decisões de tratamento direcionado à mutação;
- Preditivo de distúrbios multifatoriais, doenças cardíacas, osteoporose, diabetes, cancro;
- Nutrigenómicos, individualizar as escolhas alimentares, desempenho atlético;
- Teste de paternidade.

Considerando, que os farmacêuticos são os prestadores de serviços de saúde com maior contacto e procura pela comunidade, a farmácia ao disponibilizar este tipo de serviço farmacêutico, permitiria o esclarecimento e aconselhamento genético da comunidade (Interest, 2019; Kennedy, 2018).

A implementação deste novo serviço dependeria do exercício das seguintes funções por parte do farmacêutico: aconselhamento genético, dispensa dos testes, recolha de amostra biológica, armazenamento e acondicionamento da amostra biológica, e acompanhamento e esclarecimento na interpretação dos resultados e nas suas possíveis implicações na decisão clínica (Christopher, John, 2018; El-Ibiary et al., 2008; Patrinos et al., 2013; Yousset Essra, Mostafa Sam, Wright David, 2020). Com base na informação obtida, poderia ainda ser possível a sua participação nas decisões terapêuticas, em colaboração com o médico responsável, assim como na escolha do plano terapêutico personalizado, mais adequado ao perfil genético do doente (Christopher, John, 2018; Yousset Essra, Mostafa Sam, Wright David, 2020).

Atualmente, a lei portuguesa ainda não permite a venda ao público de testes genéticos, direta ou indiretamente relacionados com a saúde, segundo o artigo 27.º do Decreto-Lei n.º 131/14, de 29/8/2014, publicado no Diário da República Portuguesa (República, 2014). Não obstante, em 2010 chegou a ser comercializado em farmácias comunitárias portuguesas o teste de paternidade UNODNatrust. O teste foi desenvolvido e operacionalizado em instituições sediadas em Portugal e permite estabelecer uma análise comparativa entre os perfis de DNA em análise (Médico, 2010; Público, 2010). O UNODNatrust tinha um custo aproximadamente de 250€, mais barato comparativamente ao teste convencional que tem custo mínimo de 400€, para além disso este teste evitava deslocações e submissões de procedimentos formais para a sua realização (Médico, 2010; Público, 2010). No entanto, considerando que as amostras recolhidas eram anónimas, a sua realização não tinha validade judicial (Médico, 2010; Público, 2010). As amostras de saliva recolhidas, eram posteriormente enviadas para o laboratório em parceria com a UNODNatrust, sediada em Portugal no laboratório nacional STAB Vida, na Universidade Nova de Lisboa. Os resultados obtidos eram transmitidos a partir de aplicação em CD-ROM, que permitia acompanhar o teste

e cuja instalação no computador do cliente, permitia acompanhar em tempo real todo o processo e ainda adverte-lo para os procedimentos relacionados com a recolha de amostras, a fim de evitar o uso indevido do produto (Agência Lusa, 2010; Médico, 2010).



Figura 15 - Conteúdo do Kit do UNODNAtrust, adaptado de (Diário de Notícias, 2010).

No entanto, em menos de um mês após o início da sua comercialização em farmácias comunitárias a sua comercialização foi suspensa por parte do Infarmed. O Infarmed alegou que “os testes de paternidade não são considerados dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro* por não se destinarem a um fim médico” (Agência Lusa, 2010; Médico, 2010). Perante isto, a empresa cessou a comercialização do seu produto em farmácias, limitando a sua venda a parafarmácias, apesar destas não garantirem um acompanhamento farmacêutico, aquando da sua dispensa (Agência Lusa, 2010; Médico, 2010). Segundo o responsável pela empresa, Mário Mendes, o intuito da empresa ao disponibilizar o teste unicamente em farmácias, era garantir que a sua dispensa fosse realizada num estabelecimento de confiança, no qual trabalhavam profissionais competentes e especializados. Para além disso, tencionavam apostar na segurança e na transparência, evitando a sua comercialização por meios de distribuição duvidosos como a internet (Médico, 2010; Público, 2010).

Existem no entanto, alternativas de contornar a lei para aquisição dos testes genéticos de forma menos ética e certificada, com recurso à internet (Médico, 2010; Público, 2010). Apesar de em Portugal ser proibida a sua venda em sites portugueses, podem ser adquiridos em sites estrangeiros. Em alternativa, a venda dos mesmos poderia ser aprovada no contexto da farmácia comunitária, desde que este seja um serviço realizado em cooperação com o Serviço Nacional de Saúde e com a supervisão e prescrição médicas adequadas.

Assim, ao contrário do que acontece na aquisição de testes genéticos pela internet, este serviço, ao ser disponibilizado pelas farmácias, passaria a ser certificado,

licenciado, sigiloso e ao mesmo tempo, seguro e personalizado. Para além disso, realizar-se-ia em cooperação com outros profissionais de saúde e em parceria com laboratórios de genética médica acreditados e idóneos (Kennedy, 2018; Yousset Essra, Mostafa Sam, Wright David, 2020). Posto isto, considera-se que o aconselhamento genético, deva ser parte integrante das funções do farmacêutico comunitário, para isso torna-se fundamental, que os mesmos recebam formação prévia certificada relativamente aos testes genéticos (Aungst, Timothy, 2018; Kennedy, 2018; Patrinos et al., 2013).

Relativamente à formação em testes genéticos, ainda durante o percurso formativo do mestrado integrado em ciências farmacêuticas em Portugal, apesar da unidade curricular de genética ser de frequência obrigatória comum para a maioria dos estudantes de ciências farmacêuticas. Apenas duas instituições de ensino, a Universidade do Algarve e a Universidade Lusófona de Humanidade e Tecnologias de Lisboa, possuem Farmacogenómica como unidade curricular de carácter obrigatório (Simões, Ana, 2017).

Em resposta a essa lacuna formativa de especialização nesta área, após a conclusão do curso de ciências farmacêuticas a ordem dos farmacêuticos já realizou, no decorrer deste ano, uma proposta para a implementação do colégio de especialidade em genética humana. No entanto, apenas para o setor hospitalar, tendo entrado em vigor a 1 de março de 2020. O Decreto-Lei 6/20, de 24/2/2020 estabelece os termos da residência farmacêutica em genética humana para a posse do título de especialista, a qual irá capacitar o farmacêutico de formação teórica e prática na área da genética (Diário da república, 2020). No contexto da farmácia comunitária, ainda não se verificou a sua implementação, assim como se continua a verificar uma falta de formação especializada relativamente aos farmacêuticos.

A primeira declaração relativa às competências que são necessárias ser adquiridas em Farmacogenómica por parte dos farmacêuticos, foi desenvolvida pelo Comité de Assuntos Académicos da Associação Americana de Faculdades de Farmácia (AACP). A declaração menciona algumas competências, das quais se destacam as seguintes (Aungst, Timothy, 2018; Bonner, Loren, 2020; Christopher, John, 2018);

- Conhecimento relativo aos conceitos e nomenclatura genéticos / genómicos de base;
- Compreensão da influência dos fatores comportamentais, sociais e ambientais na etiologia genética da doença;
- Capacidade de identificar os fatores genéticos associadas a medicamentos e doenças;

- Avaliar os potenciais benefícios físicos e / ou psicossociais e o risco das informações genéticas nos indivíduos, familiares e comunidades, sobretudo quando estão relacionados com a predisposição à doença;

Paralelamente, à realização deste serviço por parte das farmácias comunitárias, torna-se essencial os farmacêuticos tenham formação na área genética, a fim de esclarecer eventuais dúvidas, bem como fornecer acompanhamento genético, aos indivíduos que tenham adquirido diretamente pela internet. Posto isto, o farmacêutico deve ter em consideração essencialmente os seguintes aspetos no aconselhamento aos indivíduos que os tenham adquirido pela internet: verificação da presença de certificação CLIA no produto e/ou laboratório que realizou o teste genético; os testes genéticos não fornecem informação suficiente para induzir mudanças autónomas de medicação sem a decisão do seu médico; e a avaliação das diretrizes utilizadas na interpretação dos resultados e sempre que possível em colaboração direta com o médico do paciente (Aungst, Timothy, 2018; Bonner, Loren, 2020).

No que concerne, à aplicação dos testes genéticos em farmácias comunitárias, esta promete inúmeras oportunidades para os farmacêuticos expandirem as suas funções à medida que a medicina personalizada evoluir (El-Ibiary et al., 2008; Interest, 2019; Kennedy, 2018). A sua introdução nas farmácias comunitárias é um pequeno passo, para incentivar os farmacêuticos atuais e futuros a pensar além da dispensa de medicamentos e aproveitar a tecnologia para ser mais interventivo e garantir a viabilidade da profissão farmacêutica no futuro (Aungst, Timothy, 2018; Yousset Essra, Mostafa Sam, Wright David, 2020).

No entanto, para o sucesso da aplicação clínica de tecnologias e informações genéticas, torna-se importante avaliar previamente, se os farmacêuticos estão prontos para se adaptar a esta nova etapa, que redefinirá o papel do farmacêutico e garantirá um lugar para a farmácia na era da medicina personalizada, sendo preciso considerar previamente os seguintes fatores; educação, formação, competências técnicas, recursos humanos e tecnologias de informação (Bradley, 2009; El-Ibiary et al., 2008; Interest, 2019; Kennedy, 2018; Vogenberg, Barash, & Pursel, 2010).

3. Questionário sobre o conhecimento populacional acerca dos testes genéticos

3.1. Objetivos do estudo experimental

Este capítulo tem como finalidade apresentar e discutir os resultados obtidos da realização de um questionário – Apêndice I – sobre a avaliação do conhecimento populacional acerca de testes genéticos, bem como para aferir a sua opinião relativamente à utilidade da sua aplicação no diagnóstico e monitorização de doenças.

O presente estudo tem como objetivo geral a avaliação do conhecimento acerca dos testes genéticos aos níveis:

- a) do conhecimento científico sobre os aspetos gerais dos testes genéticos;
- b) da perceção do custo da realização dos testes genéticos;
- c) da opinião relativa à veracidade e concordância sobre a sua utilização;
- d) da posição deontológica nos testes adquiridos diretamente pelo consumidor.

Os objetivos específicos deste estudo experimental são os seguintes:

- Determinar se, efetivamente, os indivíduos que consideram saber o que é um teste genético, demonstram realmente aferir esse conhecimento;
- Avaliar o conhecimento científico sobre os testes genéticos e verificar se existe uma relação com as habilitações académicas e a área de estudo dos inquiridos;
- Verificar a existência de uma relação direta entre os inquiridos com maiores habilitações académicas e um maior poder económico e a perceção da valorização do seu custo subjacente;
- Analisar a influência que o conhecimento científico demonstrado em Genética pode ter na opinião relativa à fiabilidade dos resultados dos testes genéticos;
- Perceber se existe uma correlação direta entre os inquiridos que têm uma opinião discordante relativamente à realização de testes adquiridos diretamente pela internet com a sua formação académica;
- Avaliar a relação entre a literacia e a importância que os inquiridos atribuem à realização dos testes genéticos para o progresso da medicina personalizada no diagnóstico precoce e monitorização de doenças.

3.2. Metodologia do estudo

3.2.1. Identificação da população alvo em estudo

No que respeita à amostra, o questionário foi realizado por 50 inquiridos da população de Lisboa e Vale do Tejo, de ambos os géneros, com idades compreendidas entre os 15 - 85 anos. O preenchimento dos questionários decorreu durante o período de 7 de Outubro de 2019 a 1 de Fevereiro de 2020.

Neste estudo observacional, transversal e exploratório (Alencar, 2012), a população alvo foi composta por elementos que são, maioritariamente, do género feminino, com uma expressão de 72%. A faixa etária mais prevalente situou-se entre os 15-35 anos, com 62 %. O único critério de exclusão aplicado tendo em conta os objetivos pretendidos na realização do questionário foi a idade, uma vez que dificilmente indivíduos até aos 15 anos de idade teriam um conhecimento suficiente ou uma opinião totalmente consciente e formada sobre este tema. No total de inquiridos, 78% possuíam habilitações académicas superiores.

A amostra em estudo tratou-se de um tipo de amostra não probabilística, pelo facto dos inquiridos não terem tido a mesma igualdade de probabilidade de serem seleccionados, na globalidade da população em estudo. Dentro das amostras não probabilísticas, é do tipo intencional, pois os participantes foram escolhidos pelo investigador com base nas características em análise (Morais, Carlos, 2005).

Os questionários foram distribuídos por indivíduos escolhidos previamente. Integraram o grupo: trabalhadores do hospital Cuf Infante Santo, da Farmácia Patuleia, da RTP, da *PriceWaterHouseCoopers* (PWC) e da NOWO; alunos da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias de Lisboa, da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, do ISEL, do ISCTE, e ainda alguns familiares.

3.2.2. Procedimento aplicado na recolha de dados

Este estudo experimental teve por base a realização de um inquérito a partir da aplicação de questionários – Apêndice I.

A aplicação de questionários consiste numa técnica que engloba um conjunto de questões, dirigidas a uma amostra, a fim de registar as suas opiniões, neste caso, indiretamente, uma vez que o próprio inquirido leu e registou diretamente as suas respostas, sem a intervenção do investigador (Hill, Manuela, Hill, Andrew, 1998).

A recolha do questionário realizou-se de duas formas diferentes. Dos 50 questionários obtidos, 27 foram recolhidos por via eletrónica, através da plataforma Google Forms, e os restantes 23, presencialmente, em formato de papel. A divulgação dos questionários a partir do formulário online, permitiu a angariação de um maior número de respostas, e um acompanhamento e tratamento dos resultados mais intuitivo. Por sua vez, a divulgação sob o formato de papel não excluí os inquiridos sem acesso à internet, nem indivíduos de faixas etárias mais elevadas, com maiores dificuldades em realizar o questionário sem acompanhamento.

No momento da realização do questionário, foi explicado o seu âmbito, bem como a finalidade dos dados recolhidos. Salientou-se ainda o seu anonimato e a confidencialidade dos dados, tendo o consentimento dos participantes sido concedido, a partir do momento de aceitação da realização do questionário.

3.2.3. Composição do questionário

A construção do questionário baseou, naturalmente, nos objetivos do mesmo, de forma a ser possível avaliar, e confirmar os objetivos e as hipóteses em investigação.

O questionário foi composto por dezoito questões: dezasseis de resposta fechada e duas de resposta aberta e curta. Nas primeiras cinco questões, realizou-se perguntas sobre dados pessoais com base nos dados sociodemográficos para a estratificação da amostra. As quatro questões, seguintes constituíram itens de resposta fechada e de cariz objetivo para avaliar o conhecimento sobre os testes genéticos, no geral. As oito últimas questões tiveram carácter subjetivo, avaliando a opinião e a sua posição deontológica.

A escolha de uma maioria de itens de resposta fechada visou facilitar a obtenção de resposta e a sua análise no estudo estatístico, assim como a interpretação dos resultados.

De forma a garantir a qualidade dos questionários e que os mesmos cumprissem os objetivos estabelecidos, aplicámos inicialmente o questionário apenas a uma amostra reduzida. Esta análise preliminar serviu para avaliar o entendimento da linguagem por parte dos inquiridos, bem como a clareza de alguns conceitos mais científicos. Após uma breve análise reajustou-se o questionário e obteve-se a versão final (Apêndice I).

3.2.4. Tratamento dos dados

Seguidamente, após a recolha das respostas, procedeu-se à análise dos dados. Esta análise realizou-se de forma qualitativa nominal, por não existir uma ordem natural nas suas variáveis, permitindo assim explorar mais pormenorizadamente o conhecimento, e as opiniões provenientes das respostas obtidas nos questionários (Measure Evaluation, 2008; Reis, Edna, Reis, Ilka, 2002).

Nesta investigação, verificou-se a existência de relações entre as principais variáveis, tendo em conta os objetivos pré-estabelecidos, com recurso às ferramentas existentes no Microsoft Excel 2019.

Através da análise dos dados recolhidos, numa fase inicial, caracterizou-se o perfil da amostra, a partir de uma análise descritiva da amostra populacional, com base nos dados sociodemográficos, na faixa etária, no género, nas habilitações académicas e ainda na área de estudo. Desta análise resultaram quatro gráficos circulares, representando a estratificação da amostra com base nos critérios referidos anteriormente.

Numa segunda fase do tratamento de dados, procedeu-se à análise das restantes questões. De forma, a responder aos objetivos inicialmente estabelecidos, recorreu-se à realização de uma análise de frequências e correlacional. Para a elaboração desta análise, agruparam-se algumas variáveis em estudo, com o auxílio da utilização de filtros nas seguintes questões: habilitações académicas; área de estudo; número de respostas corretas nas questões 7.,8.,9., 11., e ainda nas questões de opinião relativas às questões 12., 13. e 14. Determinou-se assim, as correlações entre as variáveis e possíveis relações de causa-efeito.

De forma, a analisar globalmente todas as questões as respostas obtidas foram organizadas numa tabela com as frequências absolutas e relativas para cada questão. Seguidamente, foram realizadas seis representações gráficas, com gráficos de barras e circulares, em resposta às questões mais pertinentes relativas aos objetivos pressupostos inicialmente, tal como é possível observar no próximo subcapítulo.

3.3. Apresentação dos resultados

A análise descritiva da amostra foi realizada, de acordo com os objetivos do estudo. Tendo-se optado por estratificar a amostra, com base nos seguintes dados sociodemográficos: género, faixa etária, habilitações académicas e área de estudo/trabalho.

Na distribuição por género, a repartição dos resultados não foi equitativa. Os inquiridos do género feminino representaram 72% da amostra, e os do género masculino representaram 28%, como se pode visualizar na Figura 16.

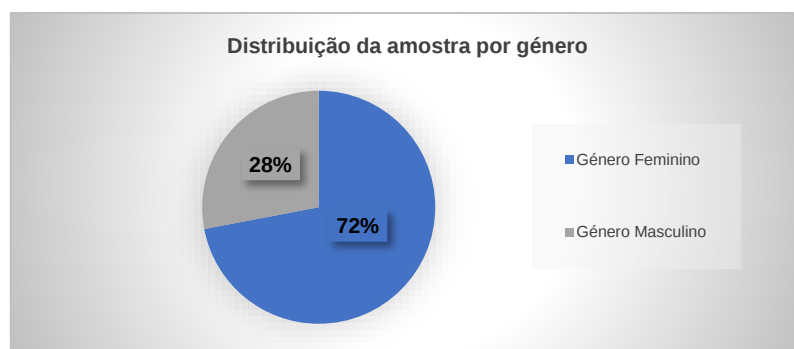


Figura 16 - Representação gráfica da distribuição da amostra entre o género feminino e masculino.

No que respeita à distribuição etária, a maior parte dos indivíduos pertenciam à faixa etária dos 15-25 anos, com 38%. Em seguida, com uma menor frequência, tivemos a faixa etária dos 25-35 anos, com 24%, sendo que estas duas faixas representaram 62% da amostra total. A restante faixa etária representa 38% da globalidade dos inquiridos, como é possível observar na Figura 17.

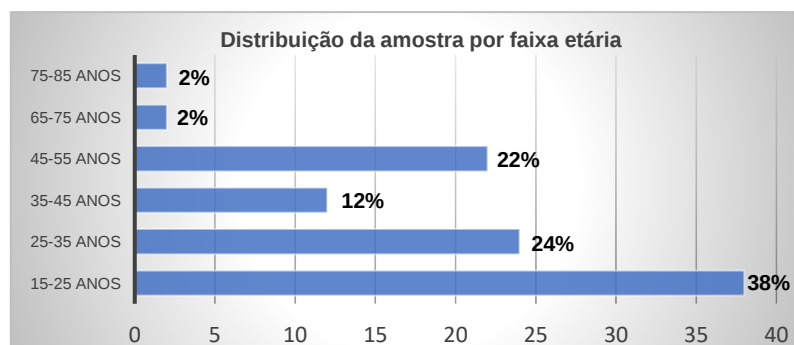


Figura 17 - Representação gráfica da distribuição da amostra por faixa etária dos 15-85 anos.

Em relação às habilitações académicas, a grande maioria dos inquiridos referiu possuir uma frequência académica elevada, com especial prevalência para o mestrado, com 44%. Seguiram-se os que detinham a conclusão da licenciatura, com 24%, o que, no seu conjunto, representou 68% da população em estudo. Os restantes participantes, 32% apresentavam habilitações académicas com uma frequência inferior, sendo a categoria de conclusão do ensino secundário, mais prevalente comparativamente aos restantes, como é possível visualizar na Figura 18.

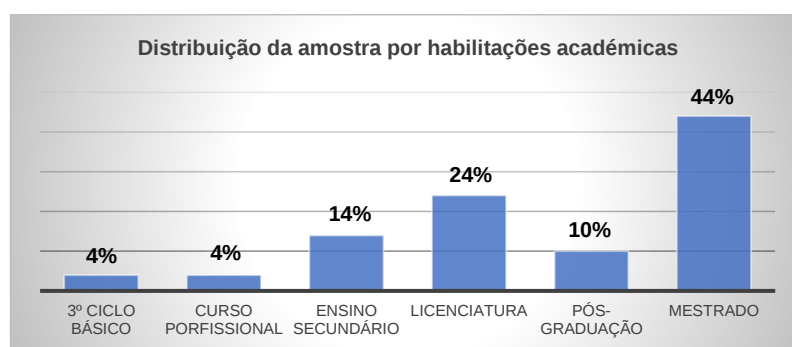


Figura 18 - Representação gráfica da distribuição da amostra por habilitações académicas superiores (licenciatura, pós-graduação, mestrado) e não superiores (3.º ciclo básico, ensino secundário, curso profissional).

Relativamente à área de estudo ou trabalho dos inquiridos, verificou-se que a maioria, correspondente a 53%, não era da área da saúde, como é possível verificar na Figura 19. A área da saúde contabilizou 47% dos participantes, sendo que 36% dos participantes frequentavam ou possuíam formação superior na área de Farmácia. Os restantes participantes da área da saúde, detinham formação na área da enfermagem e terapia da fala e ocupacional.

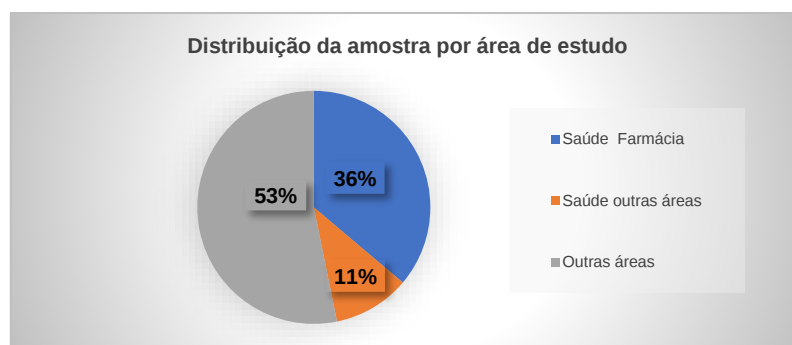


Figura 19 - Representação gráfica da distribuição da amostra por área de estudo em três grupos; área da saúde farmácia, área de saúde outras áreas e ainda outras áreas de estudo.

Da análise dos resultados dos questionários aplicados, podemos verificar o seguinte:

Tabela de frequência de respostas			
	Resposta	N	%
5. Sabe o que é um teste genético	SIM	49	98
	NÃO	1	2
6. Possui um familiar portador de uma doença genética	SIM	4	8
	NÃO	46	92
7. Qual das seguintes opções refere, alguns exemplos de testes genéticos?	Opção C (Correta)	37	74
	Outras opções (Incorretas)	13	26
8. Qual o tipo de doenças que os testes genéticos podem diagnosticar?	Opção D (Correta)	34	68
	Outras opções (Incorretas)	16	32
9. Em que casos se justifica a realização de testes genéticos?	Opção C (Correta)	39	78
	Outras opções (Incorretas)	11	22
10. Custo médio da realização de um teste genético	NÃO existe um valor estipulado fixo	26	52
	Outras respostas (Incorretas)	24	48
11. Como se processa a realização de um teste genético?	Opção A (Correta)	42	84
	Outras respostas (Incorretas)	16	32
12. Considera os resultados dos testes genéticos infalíveis	SIM	9	18
	NÃO	41	82
12.1. Se respondeu NÃO na questão anterior, escolha a justificação mais correta	Opção C	38	76
	Outras opções	3	7
13. Concorda com a realização dos testes genéticos adquiridos pela internet	SIM	7	14
	NÃO	43	86
13.1. Se respondeu NÃO na questão anterior, escolha a justificação mais correta	Opção C	37	86
	Outras opções	6	14
14. Concorda com a possibilidade de realizar um teste genético para diagnóstico precoce de doenças	SIM	43	86
	NÃO	7	14

Figura 20 - Frequência de respostas aos questionários.

Legenda: (N) – Frequência relativa, que representa o número de respostas dos inquiridos; (%) – Frequência absoluta, que caracteriza a percentagem de resposta.

Na questão 5., quase a totalidade da amostra, correspondente a 98%, considerou saber o que é um teste genético. Não obstante, esse valor não é concordante com a percentagem de respostas corretas às questões 7., 8., 9. e 11., relativas ao conhecimento genético. Na resposta a estas questões, verificou-se que a percentagem de respostas corretas atingiu um máximo de 84% na questão 11 e um valor mínimo de 68% na questão 8. Idealmente, os referidos valores deveriam estar próximos dos 98% para que estivessem em concordância com a percentagem de inquiridos que responderam afirmativamente à questão, referente a saber o que era um teste genético. Esta discrepância pode significar a existência de um viés na questão 5., devido a uma possível incorreta interpretação da questão. Uma das possibilidades é que podem ter interpretado a questão no sentido de ‘saber que existe’ e não de ‘saber em que consiste’, tal como era pretendido.

Em relação à questão 6, referente a ter um familiar direto portador de uma doença genética, a maioria 92% respondeu que não. Estes resultados podem estar sobrevalorizados, uma vez que alguns dos participantes não souberam identificar ou mencionar um exemplo de uma doença genética na questão 6.1. Esta última serviu também para verificar que os quatro inquiridos que responderam ‘SIM’ na questão 6

referiam-se, efetivamente, a uma doença genética, os exemplos mencionados foram os seguintes; a doença de Parkinson, a esquizofrenia e o cancro da mama hereditário.

Na Figura 21. encontra-se ilustrado o conhecimento científico na área da Genética, relativo a este estudo experimental. O gráfico demonstra as percentagens de respostas corretas às questões 7., 8., 9. e 11. As respostas dos indivíduos a esta questão foram organizadas em três categorias. Em primeiro lugar, com uma representação de 40%, surge o grupo dos indivíduos que demonstraram maior conhecimento ao responder assertivamente a todas as questões. Seguiu-se, com uma percentagem semelhante à anterior, com 38%, o grupo dos que não sabiam ou responderam incorretamente a uma questão. Por fim, os que não sabiam ou responderam incorretamente a duas ou mais questões, com uma representação minoritária de 22%. De uma forma geral, pode dizer-se que a maioria dos inquiridos revelou possuir um elevado conhecimento nesta área, como se subentende a partir da elevada percentagem de participantes que erraram, no máximo, uma questão, correspondente a 78%.

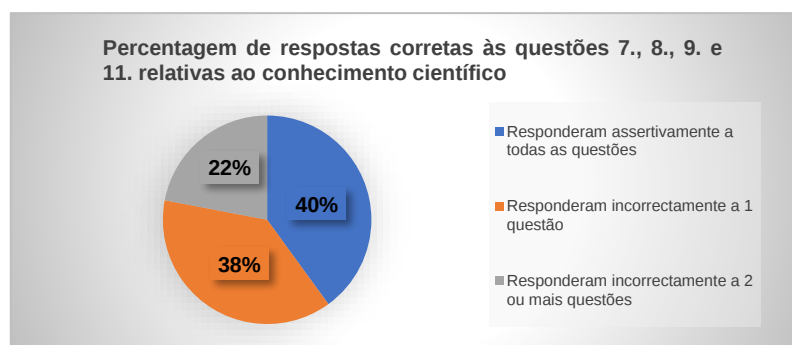


Figura 21 - Percentagem de respostas corretas às questões 7., 8., 9. e 11. relativas ao conhecimento em genética.

A partir da análise das respostas do grupo que revelou assertividade, verificou-se a existência de uma correlação entre o conhecimento, demonstrado na literacia em genética, as habilitações académicas e a área de estudo.

Através da Figura 22. pode observar-se uma possível correlação direta, entre as variáveis, considerando que 85% possuía habilitações académicas superiores e mais de metade tinha habilitações académicas na área da saúde. Apenas 15% dos inquiridos não tinham habilitações académicas superiores e/ou não tinham experiência nesta área de estudo.

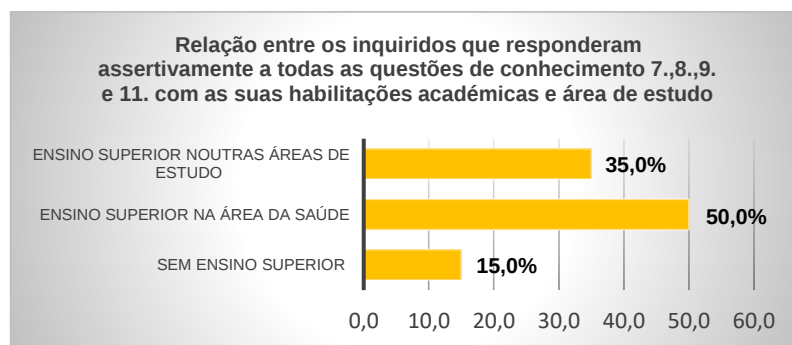


Figura 22 - Relação entre os inquiridos que responderam corretamente a todas as questões de conhecimento com as habilitações académicas e área de estudo.

A questão 10. foi considerada como uma questão que não avalia diretamente o conhecimento científico. O seu carácter é subjetivo, dado que a valorização dos custos dos testes genéticos pode depender das habilitações académicas, e das noções científicas na área. Pode ainda depender do seu poder económico, que é expectável estar diretamente relacionado com as habilitações académicas.

É possível observar na Figura 23., a relação entre essas variáveis, o que corrobora o que foi mencionado anteriormente. Nesta figura é possível observar que a maioria dos inquiridos que tinha uma noção real dos fatores, subjacentes ao custo de um teste genético, possuía habilitações académicas superiores 80,8%. Mais de metade dos inquiridos tinham formação de base na área da saúde, o que pode ter contribuído para uma valorização mais aproximada dos custos reais dos testes genéticos. No entanto, cerca de 19% dos inquiridos demonstrou ter noção da variabilidade, a que está sujeito o custo total da realização de um teste genético, mesmo não possuindo habilitações académicas superiores.

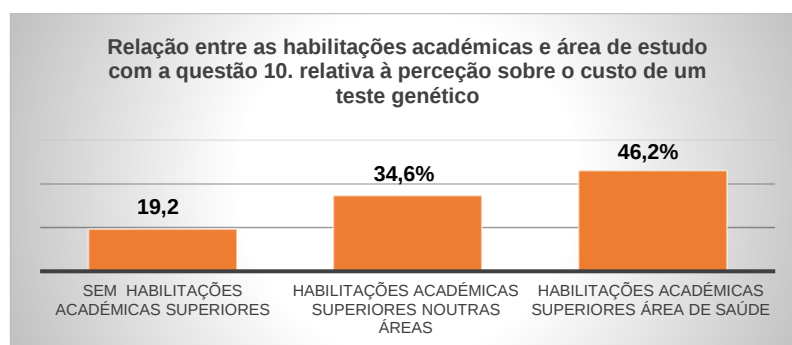


Figura 23 - Representação dos inquiridos que possuíam uma percepção real do custo dos testes genéticos demonstrada na questão 10. com as suas habilitações académicas e a área de estudo.

De um modo geral, como é possível verificar na Figura 24., a maioria dos inquiridos considerou os resultados dos testes genéticos falíveis na questão 12. Apenas três não justificaram corretamente a sua escolha na questão 12.1. A maior parte dos inquiridos informados sobre a falibilidade dos resultados, demonstrou ter noção dos fatores condicionantes na interpretação do resultado de um teste genético.

Deste modo, considerou-se relevante verificar a influência que o conhecimento em Genética, demonstrado anteriormente, pode ter na opinião dos inquiridos relativamente à falibilidade dos testes genéticos. Na Figura 24. foi possível estabelecer essa correlação, verificando-se a enorme prevalência de inquiridos, que tinham uma noção mais aproximada relativamente à falibilidade dos testes genéticos (85%) e tinham aferido um elevado conhecimento sobre testes genéticos anteriormente. Por outro lado, apenas 15% considerou os resultados dos testes genéticos falíveis, não respondendo corretamente a todas as questões de conhecimento.

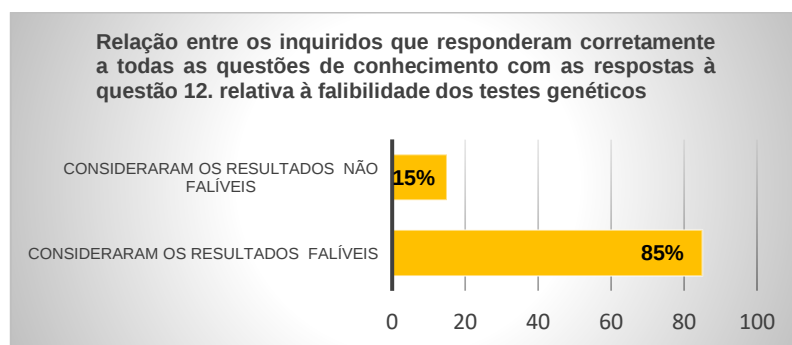


Figura 24 - Relação entre os inquiridos que responderam corretamente a todas as questões de conhecimento com as respostas à questão 12. relativa à falibilidade dos testes genéticos.

Na questão 13., relativa à opinião dos inquiridos sobre a realização de testes genéticos adquiridos diretamente pela internet, a maioria teve uma opinião discordante. Os participantes demonstraram grande preocupação deontológica, relativamente a questões de certificação pelas autoridades de saúde competentes e de privacidade, relativas à proteção de dados.

A relação entre os inquiridos que demonstraram ter uma opinião discordante, e as suas habilitações académicas, assim como a área de estudo encontra-se representada na Figura 25., que permite corroborar a hipótese da existência de uma relação direta entre estas duas variáveis. Verifica-se que 83,7 % dos inquiridos que tinham opinião discordante, apresentavam habilitações académicas superiores, e cerca de 44% possuía formação na área da saúde.

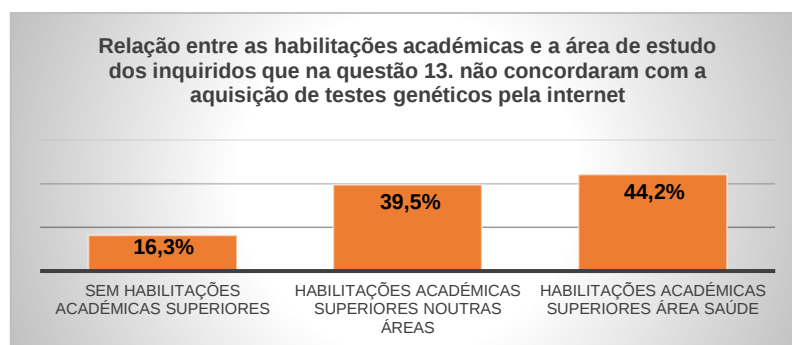


Figura 25 - Relação entre as habilitações académicas e a área de estudo dos inquiridos que na questão 13. concordaram com a aquisição de testes genéticos pela internet.

De um modo geral, na última questão, a maior parte dos inquiridos concordou e achou, relevante a utilização de testes genéticos no diagnóstico e na monitorização de doenças. A maioria das opiniões concordantes foram provenientes de participantes com características sociodemográficas, bastante abrangentes. Contudo, tentou verificar-se a relação entre a existência de alguma tendência dos inquiridos com uma opinião concordante o conhecimento, demonstrado nas questões de conhecimento científico. Pelos resultados obtidos na Figura 26., parece provável a existência de uma correlação entre o conhecimento na área genética, e a importância conferida à relevância, destes testes no futuro da medicina personalizada para o diagnóstico e monitorização precoce de doenças. A generalidade dos indivíduos que demonstrou maior conhecimento na área, concordou com a importância da aplicação dos testes genéticos para benefício da população. Dos restantes inquiridos, apenas 15% discordou da sua utilização, apesar de demonstrar conhecimentos suficientes. A maioria destes revelou discordar por não querer estar sujeita a um diagnóstico precoce de uma doença genética de carácter irreversível.

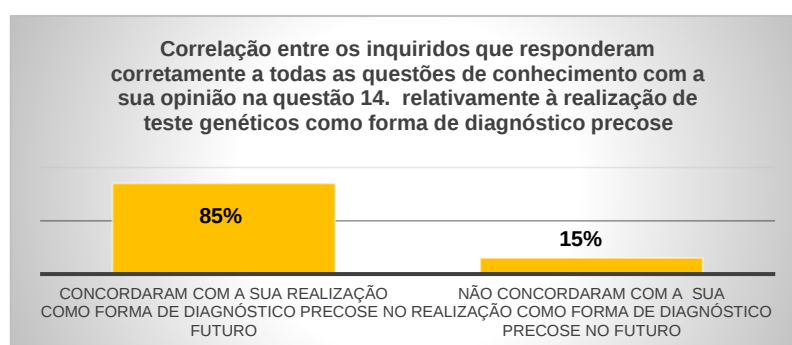


Figura 26 - Correlação entre os inquiridos que responderam corretamente a todas as questões de conhecimento com a sua opinião na questão 14. relativamente à realização de testes genéticos como forma de diagnóstico precoce.

3.4. Discussão dos resultados

Em primeiro lugar, determinou-se que a maioria dos indivíduos que considerava saber o que era um teste genético, na realidade, não demonstrou esse conhecimento, nas suas respostas, às questões relativas a aspetos gerais dos mesmos testes, tal como é possível verificar na Figura 19.

O conhecimento científico demonstrado sobre os testes genéticos foi razoavelmente elevado, pois a maioria errou ou não sabia apenas uma questão, como evidencia a Figura 20.

Posteriormente, verificou-se a relação dos conhecimentos demonstrados com as habilitações académicas e área de estudo dos inquiridos, cujos resultados se traduzem na Figura 21. A partir da sua análise, foi possível averiguar que, quanto mais elevadas forem as habilitações académicas e/ou a experiência na área da saúde como formação de base, maior será a literacia em genética. Tal facto vai ao encontro do que foi referido por em artigos publicados por diversos autores (Chapman et al., 2019; Drummond & Fischhoff, 2017; Schmidlen et al., 2016). Nestes estudos, foi possível aferir que os níveis de alfabetização genética são superiores em inquiridos com níveis de educação superiores, e ainda mais significativos em profissionais de saúde que tenham experiência prévia em educação genética.

Deste modo, considerou-se de interesse verificar a existência de uma relação direta das habilitações académicas e, consequentemente, do poder económico dos inquiridos, com a sua perceção relativa à valorização do custo subjacente aos testes genéticos, que se encontra representada graficamente na Figura 22. Os seus resultados comprovam visivelmente a existência desta relação, pois a maioria dos inquiridos que apresentam habilitações académicas superiores, demonstraram ter uma noção mais próxima do valor real e das variáveis, subjacentes ao custo da realização dos testes genéticos. O estudo de Ries, Hyde-Lay e Caulfield acerca da disposição para pagar por um teste genético (Ries, Hyde-Lay, & Caulfield, 2010) corrobora a hipótese de que um indivíduo mais informado, e com maior poder económico tem uma perceção mais correta, e valoriza mais o custo subjacente a todo o processo de realização de um teste genético.

Analisou-se também a influência que o conhecimento científico demonstrado em Genética pode ter na opinião dos indivíduos, relativamente à falibilidade dos resultados obtidos nos testes genéticos. Os resultados estão representados na Figura 23. Após a análise, foi possível constatar que um maior conhecimento fornece noções

mais reais das variáveis presentes na interpretação e veracidade do resultado de um teste genético.

A existência desta relação foi observada em estudos anteriores (Chapman et al., 2019; Mills Shaw, Van Horne, Zhang, & Boughman, 2008), nos quais os autores referem que os inquiridos que demonstram um maior conhecimento, consideram os resultados dos testes genéticos menos fiáveis e suscetíveis a interpretações incorretas.

A fim de perceber se existe uma correlação direta, entre os inquiridos, que tinham uma opinião discordante relativamente à realização de testes genéticos adquiridos pela internet com a sua formação académica, realizou-se uma análise comparativa. Os resultados obtidos, apresentados na Figura 24., mostraram que a maioria dos inquiridos, que discordaram da realização de testes genéticos adquiridos pela internet possuía habilitações académicas superiores. Em consequência, averigua-se também uma maior preocupação deontológica. Estes resultados suportam a teoria de que, quanto mais elevadas forem as habilitações académicas, maior a literacia e, consequentemente, existe uma maior preocupação com questões deontológicas. Em estudos anteriores (Carere, Kraft, Kaphingst, Roberts, & Green, 2016; Chapman et al., 2019; Puckett et al., 2019), verificou-se que indivíduos com um grau de conhecimento mais baixo tinham maior intenção em realizar este tipo de testes, levantando menos preocupações deontológicas. Por outro lado, entre indivíduos com um conhecimento razoável, havia uma grande percentagem de inquiridos que, ao ter realizado este tipo de testes genéticos, tinha uma baixa capacidade de compreensão de informações sobre os resultados e os riscos genéticos subjacentes (Carere et al., 2016; Chapman et al., 2019; Puckett et al., 2019; Ries et al., 2010).

Por fim, avalíamos a relação entre a literacia e a importância, que os inquiridos conferem à realização dos testes genéticos e os seus benefícios. Através da análise dos dados evidenciados na Figura 25., foi possível observar que os indivíduos, que demonstraram maior conhecimento concordaram com a realização de testes genéticos. Deste modo, é consistente afirmar que um maior conhecimento origina inquiridos mais informados, que reconhecem a importância da realização de testes genéticos para o progresso da medicina personalizada e, consequentemente, o seu benefício na melhoria da qualidade de vida da população. Em trabalhos realizados anteriormente, demonstrou-se que, quanto mais elevado for o conhecimento por parte dos inquiridos, maior a sua aceitação e disponibilidade para compreender os benefícios da sua realização (Chapman et al., 2019; Oksana, Makeeva, Markova, Valentina, Roses, Allen, 2010; Ries et al., 2010).

Em relação às principais limitações deste estudo experimental, destacam-se a reduzida dimensão e a diferenciação da amostra. Por outro lado, esta amostra é maioritariamente oriunda da região de Lisboa, não se podendo extrapolar ou generalizar conclusões para a restante população portuguesa. A amostra não probabilística foi constituída por inquiridos maioritariamente com habilitações na área de saúde, o que pode ter aumentado a percentagem de conhecimento científico revelada. Isto também limitou a possibilidade de extrapolação dos resultados à generalidade da população portuguesa. Todas estas limitações dificultaram a análise dos dados obtidos, aumentando a margem de erro, e diminuindo o intervalo de confiança nos resultados.

Por fim, a ausência de estudos comparativos semelhantes sobre a literacia em Genética e sobre testes genéticos, na população portuguesa, em particular, condicionou e impossibilitou uma análise comparativa fiável, bem como uma discussão mais aprofundada, sobre os resultados obtidos neste estudo.

Aparentemente, este estudo experimental é pioneiro, não tendo sido possível comparar os resultados obtidos com outros estudos semelhantes realizados em Portugal. Neste sentido, torna-se fulcral colmatar essa falha, realizando mais estudos sobre a literacia desta área em várias regiões de Portugal, envolvendo não só a população em geral, mas também os profissionais de saúde. Observa-se ainda que existe a necessidade de uma maior formação, informação e divulgação, por parte dos profissionais de saúde, sobre a importância e as implicações da realização dos testes genéticos.

Conclusão e Perspetivas Futuras

O presente trabalho iniciou-se com uma revisão da literatura, abordando de uma forma geral os testes genéticos. Pretendeu-se assim demonstrar quais os aspetos gerais, que devem ser considerados para um melhor entendimento do impacto da componente genética nas doenças humanas.

Em seguida, foram referidos os testes genéticos mais inovadores com impacto no diagnóstico e monitorização de doenças. No segundo capítulo foram abordados três exemplos representativos dos últimos avanços na sequenciação do genoma humano. Tendo estes testes amplas aplicações na prática clínica, cuja aplicação promete uma melhoria significativa da esperança média e qualidade de vida dos doentes.

Este trabalho teve assim como propósito, demonstrar inequivocamente o impacto positivo dos testes genéticos na prática clínica, assim como referir a possível contribuição benéfica da aplicação dos mesmos por parte dos farmacêuticos.

As farmácias, ao disponibilizarem este serviço de venda de testes genéticos, irão acrescentar valor ao papel do farmacêutico, permitindo também uma maior diferenciação face aos restantes profissionais de saúde. Por outro lado, permitiria igualmente engrandecer o papel do farmacêutico na promoção da saúde pública. No entanto, para a implementação destes testes na prática farmacêutica, torna-se imprescindível, que a população esteja informada e tenha os conhecimentos necessários. Com base nesta problemática, realizou-se um questionário, a fim de aferir o grau de conhecimento da população portuguesa acerca dos testes genéticos, bem como a sua opinião e posição deontológica relativamente aos mesmos. Através da análise dos resultados, este estudo tornou possível chegar a algumas conclusões, nomeadamente que 40% dos inquiridos revelaram ter elevados conhecimentos sobre testes genéticos. As habilitações académicas apresentaram um grau de proporcionalidade direta com o conhecimento demonstrado sobre os testes genéticos, assim como uma melhor perceção das variáveis relativas ao custo de todo o processo.

Paralelamente, demonstraram também uma maior preocupação deontológica relativamente à venda direta de testes genéticos pela internet. Os indivíduos que revelaram maior conhecimento científico na área da genética mostraram maior interesse na sua realização, entendendo a sua importância para a medicina personalizada, embora tivessem considerado que os resultados provenientes dos testes genéticos possam ser falíveis.

Pode assim concluir-se que o grau de literacia em genética é fundamental, para que haja um aumento da procura racional, ponderada e informada por parte da população que procura este tipo de serviço.

Refletindo acerca desta problemática, conclui-se também que seria fundamental melhorar a oferta de formação nesta área aos profissionais de saúde, nomeadamente, aos farmacêuticos, uma vez que estes são muitas vezes o primeiro contato com o utente em resposta às suas necessidades. Assim sendo, fará sentido que os farmacêuticos tenham os conhecimentos necessários, para auxiliar os utentes que desejem usufruir deste serviço.

No que concerne às perspetivas futuras da profissão farmacêutica relativamente a esta temática, a farmácia comunitária deve acompanhar a evolução tecnológica e científica na área da genética. Neste caso concreto, este novo serviço farmacêutico irá redefinir a função farmacêutica, assim como revolucionar o contexto atual da farmácia comunitária, permitindo um aumento da sua sustentabilidade. Além da venda dos medicamentos, passariam a existir este e outros serviços farmacêuticos com os quais as farmácias poderão aumentar a sua rentabilidade. Simultaneamente, permitiria uma maior diferenciação dos serviços disponibilizados, e que o farmacêutico comunitário desempenhe um papel mais interventivo no processo clínico do doente.

Em suma, os avanços na genética humana oferecem novas possibilidades de melhoria da saúde pública e a implementação dos testes genéticos inúmeras oportunidades na prática farmacêutica. A formação em genética para os farmacêuticos e, conseqüentemente, o esclarecimento da restante população permitiriam a capacitação da população na tomada de decisões sobre a utilização de tecnologias genéticas.

Assim, podemos concluir que os testes genéticos vão possibilitar, que os farmacêuticos desempenhem um papel cada vez mais interventivo no diagnóstico, monitorização e tratamento do doente com base no seu perfil genómico, podendo assim considerar que serão a chave para o contributo do farmacêutico no futuro da medicina personalizada.

Referências Bibliográficas

- Alencar, L. (2012). *Tipos de estudo e introdução à análise estatística*.
- Alliance, G. (2009). Chapter 8: Ethical, Legal and Social Issues. *A new york, mid-atlantic guide for patients and health professionals, Chapter 8*. Obtido de <https://www.ncbi.nlm.gov/books/NBK115574/>
- Alvi, M. A., Wilson, R. H., & Salto-Tellez, M. (2017). Rare cancers: The greatest inequality in cancer research and oncology treatment. *British Journal of Cancer*, 117(9), 1255–1257. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.321>
- Associates, V. O. (2019). Advantages and disadvantages of genetic testingTitle. Obtido 21 de Novembro de 2019, de Advantages and disadvantages of genetic testing website: https://virginiacancer.com/treatments-services/services/genetic-testing/advantages-disadvantages-of-genetic-testing/?fbclid=IwAR2nbq72WnG61bUyjdeWqh_WqZGGKGMrzboGau8MJd9zPYIccan1fpqCUvk
- Aswini, Y.B., & Varun, S. (2010). Genetics in public health. *Indian Journal of human genetics*, 16(2), 47–54.
- Aswini, Y. B., & Varun, S. (2010). *Review Article Genetics in public health : Rarely explored*. 16(2). <https://doi.org/10.4103/0971-6866.69326>
- Barbosa, Ana, E. superior de educação João de Deus. (2012). *A relação e a comunicação interpessoais entre o supervisor pedagógico e o aluno estagiário*.
- Batista, R., Vinagre, J., Prazeres, H., Sampaio, C., Peralta, P., Conceição, P., et al. (2019). Validation of a Novel, Sensitive, and Specific Urine-Based Test for Recurrence Surveillance of Patients With Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer in a Comprehensive Multicenter Study. *Frontiers in Genetics*, 10(December), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01237>
- Brezina, P. R., & Kutteh, W. H. (2015). Clinical applications of preimplantation genetic testing. *BMJ (Online)*, 350(December 2007). <https://doi.org/10.1136/bmj.g7611>
- Carere, D. A., Kraft, P., Kaphingst, K. A., Roberts, J. S., & Green, R. C. (2016). Consumers report lower confidence in their genetics knowledge following direct-to-consumer personal genomic testing. *Genetics in Medicine*, 18(1), 65–72. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.34>
- Chapman, R., Likhanov, M., Selita, F., Zakharov, I., Smith-Woolley, E., & Kavas, Y. (2019). New literacy challenge for the twenty-first century: genetic knowledge is poor even among well educated. *Journal of Community Genetics*, 10(1), 73–84. <https://doi.org/10.1007/s12687018-0363-7>
- Church, T. R., Wandell, M., Lofton-Day, C., Mongin, S. J., Burger, M., Payne, S. R., et al (2014).

Prospective evaluation of methylated SEPT9 in plasma for detection of asymptomatic colorectal cancer. *Gut*, 63(2), 317–325. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-304149>

Circulante, D. N. A. T. (sem data). *Análise de DNA Tumoral Circulante no Sangue*. 1–2.

Claustres, M., Kožich, V., Dequeker, E., Fowler, B., Hehir-Kwa, J. Y., Miller, K., ... Barton, D. E. (2014). Recommendations for reporting results of diagnostic genetic testing (biochemical, cytogenetic and molecular genetic). *European Journal of Human Genetics*, 22(2), 160–170. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2013.125>

Contribuição Dos Fatores Genéticos No Desencadeamento. (2009). 61091.

Demczko, Matt, S. K. M. C. of T. J. U. (2018). Disfunções Metabólicas Hereditárias.

Detecção precoce do câncer de cólon em plasma. (sem data).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046000.2013>

DeTolve, G. R. (2016). Newborn screening. *Health Care for People with Intellectual and Developmental Disabilities Across the Lifespan*, 31(May), 631–640.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-18096-0_55

Dossus, L., & Benusiglio, P. R. (2015). Lobular breast cancer: Incidence and genetic and non-genetic risk factors. *Breast Cancer Research*, 17(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13058-015-0546-7>

Drummond, C., & Fischhoff, B. (2017). Individuals with greater science literacy and education have more polarized beliefs on controversial science topics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(36), 9587–9592.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1704882114>

Europa, C. da, & Borry, P. (2012). *Testes genéticos para efeitos de saúde*. Obtido de
http://www.orpha.net/national/data/PT-PT/www/uploads/pt_geneticTests_BAT.pdf

Finegold, David, U. of P. (2017). Defeitos de um único gene.

Fortner, R. T., Poole, E. M., Wentzensen, N. A., Trabert, B., White, E., Arslan, A. A., ... Tworoger, S. S. (2019). Ovarian cancer risk factors by tumor aggressiveness: An analysis from the Ovarian Cancer Cohort Consortium. *International Journal of Cancer*, 145(1), 58–69. <https://doi.org/10.1002/ijc.32075>

Fulda, K. G., & Lykens, K. (2006). Ethical issues in predictive genetic testing: A public health perspective. *Journal of Medical Ethics*, 32(3), 143–147.
<https://doi.org/10.1136/jme.2004.010272>

Genetic Alliance (2009). Cómo entender la genética: Una guía para pacientes y profesionales médicos en la región de Nueva York y el Atlántico Medio. *Como entender la genética*, 117. Obtido de
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132213/%0Ahttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132207/pdf/Bookshelf_NBK132207.pdf

- (2014). Prospective evaluation of methylated SEPT9 in plasma for detection of asymptomatic colorectal cancer. *Gut*, 63(2), 317–325. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-304149>
- Circulante, D. N. A. T. (sem data). *Análise de DNA Tumoral Circulante no Sangue*. 1–2.
- Claustres, M., Kožich, V., Dequeker, E., Fowler, B., Hehir-Kwa, J. Y., Miller, K., ... Barton, D. E. (2014). Recommendations for reporting results of diagnostic genetic testing (biochemical, cytogenetic and molecular genetic). *European Journal of Human Genetics*, 22(2), 160–170. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2013.125>
- Contribuição Dos Fatores Genéticos No Desencadeamento*. (2009). 61091.
- Demczko, Matt, S. K. M. C. of T. J. U. (2018). Disfunções Metabólicas Hereditárias.
- Detecção precoce do câncer de cólon em plasma*. (sem data).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046000.2013>
- DeTolve, G. R. (2016). Newborn screening. *Health Care for People with Intellectual and Developmental Disabilities Across the Lifespan*, 31(May), 631–640.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-18096-0_55
- Dossus, L., & Benusiglio, P. R. (2015). Lobular breast cancer: Incidence and genetic and non-genetic risk factors. *Breast Cancer Research*, 17(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13058-015-0546-7>
- Drummond, C., & Fischhoff, B. (2017). Individuals with greater science literacy and education have more polarized beliefs on controversial science topics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(36), 9587–9592.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1704882114>
- Europa, C. da, & Borry, P. (2012). *Testes genéticos para efeitos de saúde*. Obtido de http://www.orpha.net/national/data/PT-PT/www/uploads/pt_geneticTests_BAT.pdf
- Finegold, David, U. of P. (2017). Defeitos de um único gene.
- Fortner, R. T., Poole, E. M., Wentzensen, N. A., Trabert, B., White, E., Arslan, A. A., ... Tworoger, S. S. (2019). Ovarian cancer risk factors by tumor aggressiveness: An analysis from the Ovarian Cancer Cohort Consortium. *International Journal of Cancer*, 145(1), 58–69. <https://doi.org/10.1002/ijc.32075>
- Fulda, K. G., & Lykens, K. (2006). Ethical issues in predictive genetic testing: A public health perspective. *Journal of Medical Ethics*, 32(3), 143–147.
<https://doi.org/10.1136/jme.2004.010272>
- Genetic Alliance (2009). Cómo entender la genética: Una guía para pacientes y profesionales médicos en la región de Nueva York y el Atlántico Medio. *Como entender la genética*, 117. Obtido de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132213/%0Ahttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132207/pdf/Bookshelf_NBK132207.pdf

- Goldberg, A., W. U. S. of M. (2018). Distúrbios Endócrinos e Metabólicos.
- Goldfeder, R. L., Wall, D. P., Khoury, M. J., Ioannidis, J. P. A., & Ashley, E. A. (2017). Human Genome Sequencing at the Population Scale: A Primer on High-Throughput DNA Sequencing and Analysis. *American Journal of Epidemiology*, 186(8), 1000–1001. <https://doi.org/10.1093/aje/kww224>
- Goodison, S., Rosser, C. J., & Urquidi, V. (2013). Bladder cancer detection and monitoring: Assessment of urine- and blood-based marker tests. *Molecular Diagnosis and Therapy*, 17(2), 71–84. <https://doi.org/10.1007/s40291-013-0023-x>
- Green, E. D., Watson, J. D., & Collins, F. S. (2015). Human Genome Project: Twenty-Five Years of Big Biology. *Nature*, 526, 29–31. Obtido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26432225>
- Guardant Health [GH]. (2020). <https://guardanthealth.com/solutions/#guardant360>.
- Hamilton, Nina, S. K. M. C. at T. J. U. (2018). Anomalias genéticas e cromossômicas, Síndrome do X frágil.
- Hayashi, Y., Fujita, K., Matsuzaki, K., Matsushita, M., Kawamura, N., Koh, Y., et al, N. (2019). Diagnostic potential of TERT promoter and FGFR3 mutations in urinary cell-free DNA in upper tract urothelial carcinoma. *Cancer Science*, 110(5), 1771–1779. <https://doi.org/10.1111/cas.14000>
- Heather, J. M., & Chain, B. (2016). The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics*, 107(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2015.11.003>
- Hill, Manuela, Hill, Andrew, D. centro de estudos. (1998). *Construção de um questionário*.
- Hsieh, J. J., Purdue, M. P., Signoretti, S., Swanton, C., Albiges, L., Schmidinger, M., ... Ficarra, V. (2017). Renal cell carcinoma. *Nature Reviews Disease Primers*, 3, 1–19. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.9>
- Infogene (2012). <http://www.oncoalert.com/faqs.html>
- Instituto Oncoguia. (sem data).
- Ipatimup. (2018).
- Jackson, M., Marks, L., & May, Gerhard (2018). The genetic basic of disease. *Essays Biochem*, 62(5), 643–723. Obtido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6279436/>
- Jaipaul, Navin, L. L. U. S. of M. (2018). Distúrbios Geniturinários/ Doença Renal Cística. Obtido 22 de Novembro de 2019, de Doença renal policística autossômica dominante (DRPAD) website: <https://www.msdmanuals.com/pt-pt/profissional/distúrbios-geniturinários/doença-renal-cística/doença-renal-policística-autossômica-dominante-drpad>
- Kaur, Y., de Souza, R. J., Gibson, W. T., & Meyre, D. (2017). A systematic review of genetic syndromes with obesity. *Obesity Reviews*, 18(6), 603–634.

<https://doi.org/10.1111/obr.12531>

- Kim, S. T., Lee, W. S., Lanman, R. B., Mortimer, S., Zill, O. A., Kim, K. M., et al. (2015). Prospective blinded study of somatic mutation detection in cell-free DNA utilizing a targeted 54-gene next generation sequencing panel in metastatic solid tumor patients. *Oncotarget*, 6(37), 40360–40369. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5465>
- Kraft, S. A., Duenas, D., Wilfond, B. S., & Goddard, K. A. B. (2019). The evolving landscape of expanded carrier screening: challenges and opportunities. *Genetics in Medicine*, 21(4), 790–797. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0273-4>
- Kremer, F. (2019). Omixdata.
- Ladabaum, U., Allen, J., Wandell, M., & Ramsey, S. (2013). Colorectal cancer screening with blood-based biomarkers: Cost-effectiveness of methylated septin 9 DNA versus current strategies. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 22(9), 1567–1576. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-13-0204>
- Lanman, R. B., Mortimer, S. A., Zill, O. A., Sebisano, D., Lopez, R., Blau, S., et al. (2015). Analytical and clinical validation of a digital sequencing panel for quantitative, highly accurate evaluation of cell-free circulating tumor DNA. *PLoS ONE*, 10(10), 1–27. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140712>
- Ma, Z. Y., Law, W. L., Ng, E. K. O., Chan, C. S. Y., Lau, K. S., Cheng, Y. Y., et al. (2019). Methylated Septin 9 and Carcinoembryonic Antigen for Serological Diagnosis and Monitoring of Patients with Colorectal Cancer After Surgery. *Scientific Reports*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46876-4>
- Marzuillo, C., De Vito, C., D'andrea, E., Rosso, A., & Villari, P. (2014). Predictive genetic testing for complex diseases: A public health perspective. *Qjm*, 107(2), 93–97. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hct190>
- Mathai, R., Vidya, R., Reddy, B., Thomas, L., Udupa, K., Kolesar, J., & Rao, M. (2019). Potential Utility of Liquid Biopsy as a Diagnostic and Prognostic Tool for the Assessment of Solid Tumors: Implications in the Precision Oncology. *Journal of Clinical Medicine*, 8(3), 373. <https://doi.org/10.3390/jcm8030373>
- Measure Evaluation, U. from the american people. (2008). *Análise de Dados*. Maputo.
- Medicine, Lister Hill National Center for Biomedical Communications U.S. National Library of Health, N. I. of, & Services, D. of H. & H. (2019). what are the risks and limitations of genetic testing? Obtido de what are the risks and limitations of genetic testing? website: https://ghr.nlm.nih.gov/primer/testing/riskslimitations?fbclid=IwAR0dlx2H4t8O5s3-KfyMeK6CSub38blsk3_MWiOZoMJ-YWu8_F1SLO7fIJU
- Meng, D. G. L. (2005). *Medical , Ethical , Legal and Social Issues In Genetic Testing and Genetic Screening Programmes*. (April), 1–15.

- Mikó, E., Kovács, T., Sebő, É., Tóth, J., Csonka, T., Ujlaki, G., et al., (2019). Microbiome—Microbial Metabolome—Cancer Cell Interactions in Breast Cancer—Familiar, but Unexplored. *Cells*, 8(4), 293. <https://doi.org/10.3390/cells8040293>
- Mills Shaw, K. R., Van Horne, K., Zhang, H., & Boughman, J. (2008). Essay contest reveals misconceptions of high school students in genetics content. *Genetics*, 178(3), 1157–1168. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.084194>
- Molecular, P. (2019). No Title. Obtido de Diagnóstico Genético website: https://www.progenie-molecular.com/Servicio_Diagnostico_DG_ES.html
- Morais, C., I. P. de B. (2005). *Descrição, análise e interpretação de informação quantitativa*.
- Morán, A. (2010). Differential colorectal carcinogenesis: Molecular basis and clinical relevance. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 2(3), 151. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v2.i3.151>
- Mota, R. (sem data). Sequenciamentos de 3.^a e 4.^a geração: ao infinito e mais além.
- Neosprospecta Microbiome Technologies [NMT] (2016).
- Nian, J., Sun, X., Ming, S. Y., Yan, C., Ma, Y., Feng, Y., et al. (2017). Diagnostic accuracy of methylated SEPT9 for blood-based colorectal cancer detection: A systematic review and meta-analysis. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/ctg.2016.66>
- Noonan, D. (2002). Unraveling the genome. *Newsweek*, 139(25), 76.
- Odegaard, J. I., Vincent, J. J., Mortimer, S., Vowles, J. V., Ulrich, B. C., Banks, K. C., et al. (2018). Validation of a plasma-based comprehensive cancer genotyping assay utilizing orthogonal tissue- and plasma-based methodologies. *Clinical Cancer Research*, 24(15), 3539–3549. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-3831>
- Oksana, Makeeva, Markova, Valentina, Roses, Allen, P. V. (2010). *An epidemiologic-based survey of public attitudes towards predictive genetic testing in Russia*. Obtido de <https://www.futuremedicine.com/doi/pdf/10.2217/pme.10.23>
- Pagon, R. A., Hanson, N. B., Neufeld-Kaiser, W. & Covington, M. L. (2001). Gene Scene: Genetic testing. *Western Journal of Medicine*, 174(May), 344–347.
- Picardo, S. L., Coburn, B., & Hansen, A. R. (2019). The microbiome and cancer for clinicians. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 141(March), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2019.06.004>
- Pompeu, Taina; Verzeletti, F. (2015). Diagnóstico genético pré-implantacional e a sua aplicação na reprodução humana assistida. *Sociedade Brasileira de reprodução humana*. Obtido de <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1413208715000436>
- Puckett, M. C., Townsend, J. S., Gelb, C. A., Hager, P., Conlon, A., & Stewart, S. L. (2019). *Education with Inside Knowledge Campaign Materials*. 33(0920), 1285–1293.

- <https://doi.org/10.1007/s13187-017-1245-0>.Ovarian
- Rebbeck, T. R. (2017). Prostate Cancer Genetics: Variation by Race, Ethnicity, and Geography. *Seminars in Radiation Oncology*, 27(1), 3–10.
<https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2016.08.002>
- Reis, Edna, Reis, Ilka, U. F. de M. G. (2002). *Análise descritiva de dados*.
- Ries, N. M., Hyde-Lay, R., & Caulfield, T. (2010). Willingness to pay for genetic testing: A study of attitudes in a canadian population. *Public Health Genomics*, 13(5), 292–300.
<https://doi.org/10.1159/000253120>
- Rodrigues, F. (2013). *Genética Médica: Conceitos elementares e aplicações frequentes*.
- Rohde, K., MacKenzie, K., Hayward, C., Torchin, M. E., Kuris, A. M., & Bray, R. A. (2005). Chapter 9 Zoogeography. Em *Marine Parasitology* (Vol. 347–369).
<https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6622-6>
- Rubin, Michael, W. C. M. C. (2018). Distúrbios do sistema nervoso periférico e da unidade motora.
- Rubin, Michael, W. C. M. C. (2017). Distrofias Musculares e distúrbios relacionados. Obtido 22 de Novembro de 2019, de Outras formas de distrofia muscular website:
https://www.msmanuals.com/pt-pt/casa/problemas-de-saúde-infantil/distrofias-musculares-e-distúrbios-relacionados/outras-formas-de-distrofia-muscular?query=Outras formas de distrofia muscular#v34974724_pt
- Santos, B. B. (sem data). Doenças genéticas: conheça as 5 mais comuns.
- Schmidlen, T. J., Scheinfeldt, L., Zhaoyang, R., Kasper, R., Sweet, K., Gordon, E. S., et al. (2016). Genetic Knowledge Among Participants in the Coriell Personalized Medicine Collaborative. *Journal of Genetic Counseling*, 25(2), 385–394.
<https://doi.org/10.1007/s10897-015-9883-z>
- Serviço Nacional de Saúde [SNS]. (2017). <http://www.insa.min-saude.pt/category/areas-de-atuacao/genetica-humana/> Acedido a 25 de Novembro de 2019, de SNS em www.insa.min-saude.pt;
- Shalev, S. A. (2019). Characteristics of genetic diseases in consanguineous populations in the genomic era: Lessons from Arab communities in North Israel. *Clinical Genetics*, 95(1), 3–9. <https://doi.org/10.1111/cge.13231>
- Sigala-Robles, R., Aguayo-Patrón, S. V., & Calderón de la Barca, A. M. (2018). Genetics, environment, and asthma associated with celiac disease in the extended family of an affected child. *Revista de Gastroenterologia de Mexico*, 83(2), 79–85.
<https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2017.05.006>
- Stewart, K. F. J., Kokole, D., Wesselius, A., Schols, A. M. W. J., Zeegers, M. P., De Vries, H., & Van Osch, L. A. D. M. (2019). Factors Associated with Acceptability, Consideration and

- Intention of Uptake of Direct-To-Consumer Genetic Testing: A Survey Study. *Public Health Genomics*, 21(1–2), 45–52. <https://doi.org/10.1159/000492960>
- Stoler, J. M. (2017). Prenatal and postnatal genetic testing: Why, how, and when? *Pediatric Annals*, 46(11), e423–e427. <https://doi.org/10.3928/19382359-20171023-01>
- Sun, J., Fei, F., Zhang, M., Li, Y., Zhang, X., Zhu, S., & Zhang, S. (2019). The role of mSEPT9 in screening, diagnosis, and recurrence monitoring of colorectal cancer. *BMC Cancer*, 19(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5663-8>
- Taliento, A. E., Dallio, M., Federico, A., Prati, D., & Valenti, L. (2019). Novel insights into the genetic landscape of nonalcoholic fatty liver disease. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(15). <https://doi.org/10.3390/ijerph16152755>
- Tóth, K., Sipos, F., Kalmár, A., Patai, Á. V., Wichmann, B., Stoeher, R., et al. (2012). Detection of Methylated SEPT9 in Plasma Is a Reliable Screening Method for Both Left- and Right-Sided Colon Cancers. *PLoS ONE*, 7(9), 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046000>
- U.S. Department of energy office of science, office of biological and environmental research. (sem data). Human Genome Project. Obtido 7 de Novembro de 2019, de Human Genome Project Information Archive 1990-2003 website: https://web.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/
- UK, G. A. (2016). No Title.
- Van Cauwenberghe, C., Van Broeckhoven, C., & Sleegers, K. (2016). The genetic landscape of Alzheimer disease: Clinical implications and perspectives. *Genetics in Medicine*, 18(5), 421–430. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.117>
- Vaz-de-Macedo, C. (2018). Desenvolvimento E Princípios Do Tpn. *Acta Obstet Ginecol Port*, 12(1), 37–46.
- Wise, Robert, J. H. U. S. of M. (2018). *Doenças Pulmonares Obstrutiva Crônica*.
- World Health Organization [WHO], (2020). Human Genomics in Global Health. https://www.who.int/genomics/elsi/gentesting/en/?fbclid=IwAR3gw7d6JO1pa0pZPKJYv9Fur7zuCZ6fyYcIs_kNsFqKK1HgJHXZkbtYCAw. Acedido a 26 de Março de 2020 de WHO em <https://www.who.int/>.
- Yang, M., Topaloglu, U., Petty, W. J., Pagni, M., Foley, K. L., Grant, S. C., et al. (2017). Circulating mutational portrait of cancer: Manifestation of aggressive clonal events in both early and late stages. *Journal of Hematology and Oncology*, 10(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13045-017-0468-1>
- Yusefi, A. R., Lankarani, K. B., Bastani, P., Radinmanesh, M., & Kavosi, Z. (2018). Risk factors for gastric cancer: A systematic review. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 19(3), 591–603. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.3.591>

Apêndices

Apêndice I

Questionário: “Testes genéticos no Diagnóstico e Monitorização de Doenças Humanas”

Estou a realizar um inquérito sobre os testes genéticos, no âmbito da minha dissertação do mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias de Lisboa, com a finalidade de avaliar o conhecimento populacional, e a sua opinião relativamente aos testes genéticos.

Deste modo, este questionário pretende recolher respostas entre profissionais de saúde de diversas áreas, bem como entre a população em geral.

Os dados recolhidos dos voluntários são utilizados para investigação experimental no âmbito deste tema, a sua identidade é mantida em anonimato. Os resultados obtidos são confidenciais, e apenas utilizados única e exclusivamente com esta finalidade.

1. Qual é o seu género?
 - ☐ Feminino
 - ☐ Masculino
2. Em que faixa etária se encontra?
 - ☐ 15-25
 - ☐ 25-35
 - ☐ 35-45
 - ☐ 45-55
 - ☐ 55-65
 - ☐ 65-75
 - ☐ 75-85
 - ☐ 85-95
3. Quais as suas habilitações académicas?
 - ☐ 1º Ciclo Ensino Básico
 - ☐ 2º Ciclo Ensino Básico
 - ☐ 3º Ciclo Ensino Básico
 - ☐ Ensino Secundário
 - ☐ Curso Tecnológico/ Profissional
 - ☐ Licenciatura
 - ☐ Pós-Graduação
 - ☐ Mestrado
 - ☐ Doutoramento
4. Qual a sua área de estudo/trabalho?
 - ☐ Humanidades
 - ☐ Artes
 - ☐ Gestão/Economia
 - ☐ Saúde

- 4.1. Especifique dentro da sua área de estudo a profissão que desempenha/desempenhou?

5. Sabe o que é um teste genético?

- ☐ Sim
- ☐ Não

6. Possui algum familiar direto portador de uma doença genética?

- ☐ Sim
- ☐ Não

- 6.1. Se respondeu SIM na resposta anterior, mencione qual a doença:

7. Qual das seguintes opções refere, apenas exemplos de testes genéticos?

- ☐ Teste de paternidade, Teste de medição de diabetes, Teste de diagnóstico precoce do cancro.
- ☐ Teste do “pezinho” realizado à nascença, Teste para monitorização da eficácia da terapêutica oncológica num indivíduo, Teste cutâneo de diagnóstico de alergias.
- ☐ Testes de rastreio pré-natal (Ex: trissomia 21), Teste para avaliar o risco de vir a desenvolver uma doença hereditária (Ex: hemofilia), Teste para avaliação da resistência de uma doença oncológica a uma medicação específica.
- ☐ Não sei

8. Qual o tipo de doenças que os testes genéticos podem diagnosticar?

- ☐ Doenças Hereditárias (Ex: Fibrose quística, alguns tipos de cancro da mama e dos ovários ou cancro colón retal hereditário)
- ☐ Doenças Genéticas Multifatoriais (Ex: Diabetes tipo 2, asma, doença de Parkinson, alzheimer, artrite reumatoide, doenças cardiovasculares)
- ☐ Doenças Cromossómicas (Ex: Síndrome de Down, Síndrome de Turner)
- ☐ Todas as anteriores
- ☐ Não sei

9. Em que casos se justifica a realização de testes genéticos? Escolha a resposta que achar mais adequada.

- ☐ No caso de o doente apresentar sintomas, necessitando de um diagnóstico que confirme e/ou em casos com historial familiar de uma doença hereditária.
- ☐ Quando um portador de uma doença hereditária, quer avaliar o risco dos seus descendentes virem a desenvolver a mesma doença hereditária.
- ☐ As duas opções anteriores estão corretas.
- ☐ Não sei

10. Na sua opinião, quanto custa em média a realização de um teste genético?

- ☐ Entre 50 - 100€
- ☐ Não existe um valor estipulado. Os custos estão relacionados com o local, entidade, bem como o carácter do teste, ou seja, o tipo de mutação, contudo o seu valor pode chegar aos 3000€.
- ☐ Entre 500 – 2000€
- ☐ Não sei

11. Como se processa a realização de um teste genético? Escolha a opção que considera mais correta.

- Prescrição médica do teste genético — Recolha da amostra (ex: tecido, sangue, saliva, células internas da bochecha ou líquido amniótico) — Analisada em laboratórios especializados em testes genéticos — Recolha dos resultados no laboratório — Análise e acompanhamento médico na análise dos resultados dos testes genéticos
- Prescrição médica do teste genético — Recolha da amostra (ex: tecido, ou saliva apenas) — Analisada em laboratórios especializados em testes genéticos — Entrega dos resultados ao domicílio sem o acompanhamento médico na análise dos resultados dos testes genéticos
- Não sei

12. Considera os resultados dos testes genéticos infalíveis?

- Sim
- Não

12.1. Se respondeu NÃO na questão anterior, escolha uma das opções que considere mais adequada.

- No caso de obter um resultado positivo num teste genético, não garante obrigatoriamente, que no futuro a doença se vá desenvolver.
- A obtenção de um resultado negativo num teste genético, não garante, que não possa vir a desenvolver a doença, por outra via sem ser a hereditária.
- As duas opções anteriores estão corretas.

13. Concorda com a realização de testes genéticos adquiridos diretamente pelo consumidor através da internet?

- Sim
- Não

13.1. Se respondeu NÃO na questão anterior, escolha qual das seguintes justificações considera mais adequadas.

- Estes testes genéticos adquiridos a partir da internet, que realizam a descodificação do nosso código genético, não garantem que a informação seja confiável, pois a sua qualidade não está comprovada pelas autoridades de saúde.
- Nos testes genéticos adquiridos pela internet, não é realizado aconselhamento genético, que esclareça o doente sobre os riscos e prejuízos dos resultados do respetivo teste, nem a relevância do consentimento informado, para garantir o respeito de todos os princípios de privacidade em relação à proteção dos seus dados.
- Ambas as opções anteriores estão corretas.

14. Concorda com a possibilidade de na medicina, passar a ser possível analisar o seu ADN, para saber que doenças poderá vir a ter no futuro?

- Sim, seria importante antecipar o conhecimento do aparecimento de doenças como diabetes, cancro, alzheimer, etc.
- Não, a utilização dessa informação é cada vez mais questionável, podendo levantar questões éticas e morais.