



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102013022108-2 A2

(22) Data do Depósito: 29/08/2013

(43) Data da Publicação: 24/05/2016

(RPI 2368)



* B R 1 0 2 0 1 3 0 2 2 1 0 8 A

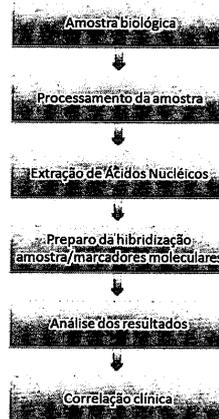
(54) **Título:** PAINEL GENÉTICO NO DIAGNÓSTICO DAS ALTERAÇÕES DO CRESCIMENTO FETAL E PREDISPOSIÇÃO ÀS DOENÇAS METABÓLICAS NO ADULTO

(51) **Int. Cl.:** C12Q 1/68; C07H 21/00

(73) **Titular(es):** JOSÉ LUIZ DE LIMA FILHO

(72) **Inventor(es):** JOSÉ LUIZ DE LIMA FILHO, ANDRIU DOS SANTOS CATENA, CARLOS HENRIQUE MADEIROS CASTELLETTI, DANYELLY BRUNESKA GONDIM MARTINS

(57) **Resumo:** PAINEL GENÉTICO NO DIAGNÓSTICO DAS ALTERAÇÕES DO CRESCIMENTO FETAL E PREDISPOSIÇÃO ÀS DOENÇAS METABÓLICAS NO ADULTO A invenção refere-se a um painel de marcadores genéticos que possuem potencial de diagnóstico e predição no desenvolvimento de síndrome metabólica, doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes tipo 2, não excluindo outras doenças metabólicas em recém-nascidos que apresentam alteração do crescimento fetal, para o diagnóstico precocemente do desenvolvimento destes fenótipos patológicos.



PAINEL GENÉTICO NO DIAGNÓSTICO DAS ALTERAÇÕES DO CRESCIMENTO FETAL E PREDISPOSIÇÃO ÀS DOENÇAS METABÓLICAS NO ADULTO

RELATÓRIO DESCRITIVO

5

Campo da Invenção

A presente invenção refere-se ao campo métodos e dispositivos baseados em painel genético para a identificação de marcadores relacionados à alteração do crescimento fetal e predisposição às doenças metabólicas na vida adulta, como obesidade, cardiopatias, diabetes tipo 2 e síndrome metabólica, não excluindo
10 outras doenças.

Antecedentes da Invenção

Crescimento e desenvolvimento fetal são processos dinâmicos que dependem das sofisticadas interações entre a mãe, placenta e feto para garantir à prole
15 adequadas condições de sobrevivência e crescimento. Estes processos são sensíveis a estímulos, como por exemplo, a taxa de transferência de glicose pela placenta que propicia grande parte da energia para o crescimento fetal, e podem sofrer influência do perfil genético do embrião, dependendo das condições de vida desde o período intrauterino até a idade adulta.
20

Cerca de 90% dos recém-nascidos (RN) a termo nascem com peso na faixa normal, 2.500 a 4.000 g (adequado para a idade gestacional - AIG). Aproximadamente 8% dos recém-nascidos têm peso menor que 2.500 g (pequeno para a idade gestacional - FIG) e cerca de um por cento das crianças nascem com
25 excesso de peso, acima de 4.000 g (grande para a idade gestacional - GIG). Recém-nascidos FIG e GIG podem apresentar os mesmos sintomas na infância, adolescência ou durante a fase adulta, uma vez que ambas as situações contribuem para o desenvolvimento de convulsões, complicações respiratórias, hospitalização prolongada, baixos índices de Apgar, obesidade, hipertensão arterial e síndrome
30 metabólica (SM).

O crescimento intrauterino obedece a padrões reconhecidos, sendo determinado individualmente pelo potencial genético e pela ação de fatores que regulam a utilização de nutrientes. 38% da variação do peso de nascimento são atribuídos a fatores genéticos e os 62% restantes a fatores não genéticos. Dentre esses, metade depende de variáveis maternas, como paridade, nível socioeconômico, raça, altura, fumo, estado nutricional, fatores relacionados à unidade uteroplacentária e hormônios; e a outra metade de causas idiopáticas.

Eventos implicados no desenvolvimento fetal que desregulam a homeostase da unidade uteroplacentária influenciam a saúde do RN ao longo de sua vida. Essa hipótese, conhecida como Hipótese de Barker, sugere que câmbios metabólicos *in útero* estabelecem padrões fisiológicos e estruturais que programam a saúde durante a vida adulta. O estresse oxidativo durante a gravidez, por exemplo, promove a expressão de diversos genes que influenciam em possíveis falhas no desenvolvimento do feto. Além disso, citocinas são secretadas como resposta inflamatória ao estresse oxidativo, interferindo na regulação de diversas moléculas com posterior transcrição gênica. Acredita-se que o maior estresse oxidativo causado durante o período gestacional esteja diretamente relacionado à modulação de genes direcionados à ação da insulina e à modulação da pressão arterial e, portanto, seja um dos mecanismos capazes de explicar a presença da SM na vida adulta.

Relacionar genes específicos à alteração do crescimento e predisposição patológica é de fundamental importância para diagnosticar precocemente o desenvolvimento de futuras doenças comuns da vida adulta. Assim, é extremamente importante o desenvolvimento de marcadores moleculares funcionais, através da análise de sítios polimórficos dentro de genes envolvidos em determinada variação fenotípica.

A patente **EP 2194143 A2** intitulada "*Phenotype prediction*" de 9 de junho de 2010, descreve um método de diagnóstico para a propensão dos indivíduos desenvolverem obesidade ou outra característica fenotípica patológica usando um marcador epigenético. A avaliação é feita utilizando a análise de microarranjo para identificar promotores metilados de genes específicos, como FTO, LEP, LEPR, PPARG e TNF. No entanto, ele não utiliza padrões genéticos de outras patologias metabólicas, como diabetes e doenças cardiovasculares.

Na patente **EP 2164977 A2**, cujo título é "*Biomarkers for pre-diabetes, cardiovascular diseases, and other metabolic-syndrome related disorders and methods using the same*" de 24 de março de 2010, teve como intenção desenvolver métodos para a identificação de biomarcadores correlacionadas com a resistência à insulina, DCV e SM. Biomarcadores de resistência à insulina podem melhor identificar e determinar o risco de desenvolvimento de diabetes num indivíduo pré-diabético e assim monitorar o desenvolvimento e progressão da doença e/ou regressão. No entanto, esse método é indicado para pacientes adultos, não havendo relação entre o desenvolvimento de doenças metabólicas em RNs que apresentam alteração do crescimento.

A patente **WO 2012129198 A1** intitulada "*Genetically modified rat models for obesity and diabetes*", de 27 de setembro de 2012, teve como objetivo analisar camundongos geneticamente modificados ou quiméricos cujo genoma compreende alelos de um gene relacionado à obesidade-diabetes, predispondo o animal a um fenótipo de obesidade e/ou diabetes. Foram analisados diversos genes e suas moléculas, como ApoA5, Apoc3, Apoe, Cacnalb, Enpp1, Foxo1, Fto, Irs1, Irs 2, Lep, Lepr, Nos3, Pparg, Tcf7l2. Nenhum dos genes desta patente está relacionado a presente reivindicação em humanos.

Já a patente **US 20100210025 A1** ("*Common Module Profiling of Genes*") de 19 de agosto de 2010, desenvolveu um sistema para analisar o perfil de sequências genômicas, compreendendo a identificação de genes responsáveis por diversas doenças humanas através de abordagens computacionais, selecionando bons candidatos a marcadores moleculares. Os principais genes identificados para DCV foram ABCA1, MEF2A, LRP6, HSD11B2, NR3C2, PNMT, BMPR2, ACSM3, KCNMB1, RETN, NOS3, NOS2A; e para diabetes tipo 2, PTF1A, TCF7L2, KCNJ11, TCF1, IPF1, IRS2, LIPC, AKT2, GPD2, NEUROD1, IRS1, CAPN10, PTPN1, PPARG, SLC2A2, IGF2BP2. Entretanto, não foi verificada a interação entre estes genes e a susceptibilidade de RNs apresentarem tais fenótipos patológicos caso apresentem alteração do crescimento.

Interessante notar na patente **US 8178536 B2** ("*Sirtuin modulating compounds*"), de 15 de maio de 2012, a descrição de um método para o melhoramento de pelo menos um sintoma da resistência à insulina, compreendendo a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto que

permite a modulação da sirtuína (SIRT). Os moduladores de SIRT previnem uma grande variedade de doenças e distúrbios, como estresse, diabetes, obesidade, doenças neurodegenerativas, DCV, inflamação e câncer, uma vez que essa molécula desempenha um papel importante na regulação metabólica e qualquer alteração poderia provocar a manifestação de diversas patologias.

Nenhuma das patentes citadas acima possui semelhança com o método proposto de um painel para diagnóstico da susceptibilidade dos RNs ao desenvolvimento de SM, como obesidade, DCV e diabetes tipo 2, principalmente para aqueles que apresentaram alteração do crescimento fetal.

Por fim, o objetivo do invento proposto é disponibilizar a identificação e predição precisa dos genes relacionados à expressão de fenótipo patológico de DCV, obesidade, SM e diabetes tipo 2, sendo uma forma de diagnóstico precoce ao risco de desenvolver estas patologias no início da vida do RN.

15 Descrição da Invenção

A presente invenção descreve método baseado em painel genético para a identificação de marcadores moleculares relacionados à alteração do crescimento fetal e predisposição às doenças metabólicas na vida adulta.

O método visa a predição da susceptibilidade em RNs com alteração no crescimento ao desenvolvimento de síndrome metabólica, obesidade, diabetes tipo 2 e cardiopatias na vida adulta. A presente invenção baseia-se em análises de dados, genômicos, metabolômicos, interactômicos e da literatura para a análise destas interações gênicas durante o desenvolvimento fetal corroborando com a possibilidade da predisposição do fenótipo patológico durante a vida adulta.

Especificamente, o primeiro aspecto da presente invenção inclui a composição de um painel genético, incluindo diversas moléculas como potenciais biomarcadores para diagnóstico precoce da susceptibilidade do desenvolvimento de síndrome metabólica na vida adulta em RNs PIG e GIG (Figura 1).

Os genes selecionados foram agrupados com relação, primeiramente, ao fenótipo patológico de síndrome metabólica, doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes tipo 2.

O painel consistirá em um grupo de 21 genes: APOA5, APOE, BUD13, CACNB2, CDKAL1, ENPP1, F5, FOXO3, FTO, IRS1, KCNQ1, KLF4, LEP, LEPR, MYH7, NOS2, NOS3, PPARG, SIRT, TCF7L2 e ZNF259, que serão caracterizados como marcadores moleculares para predição de síndromes metabólicas na vida adulta para pacientes fora do padrão estabelecidos de peso ao nascer em adequada idade gestacional (AIG).

Tipicamente, a análise compreende a detecção de diferentes níveis de expressão gênica dos genes citados acima presentes no painel genético proposto nesta invenção. A tabela 1 descreve o painel genético de forma completa da presente invenção com informações pertinentes aos genes.

Tabela 1

SÍMBOLO	GENE	DOENÇA
APOA5	<i>Apolipoprotein A-V</i>	SM / DCV
APOE	<i>Apolipoprotein E</i>	DCV
BUD13	<i>BUD13 homolog (S. Cerevisiae)</i>	SM
CACNB2	<i>Calcium channel, voltage-dependent, beta 2 subunit</i>	DCV
CDKAL1	<i>CDK5 regulatory subunit associated protein 1-like 1</i>	DM
ENPP1	<i>Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1</i>	OB
F5	<i>Coagulation factor V (proaccelerin, labile factor)</i>	DCV
FOXO3	<i>Forkhead box O3</i>	DCV
FTO	<i>Fat mass and obesity associated</i>	OB
IRS1	<i>Insulin receptor substrate 1</i>	DCV / DM
KCNQ1	<i>Potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 1</i>	DM / DCV
KLF4	<i>Krüppel-like factor4</i>	SM/ OB / DCV
LEP	<i>Leptin</i>	OB
LEPR	<i>Leptin receptor</i>	OB
MYH7	<i>Myosin, heavy chain 7, cardiac muscle, beta</i>	DCV
NOS2	<i>Nitric oxide synthase 2, inducible</i>	SM
NOS3	<i>Nitric oxide synthase 3 (endothelial cell)</i>	SM
PPARG	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i>	DM / OB / DCV
SIRT	<i>Sirtuin</i>	SM
TCF7L2	<i>Transcription factor 7-like 2 (T-cell specific, HMG-box)</i>	DM
ZNF259	<i>Zinc finger protein 259</i>	SM

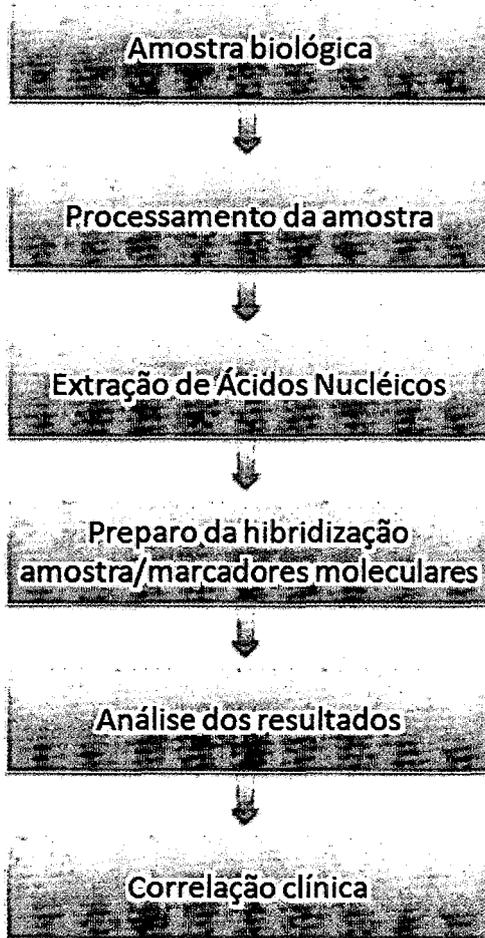
SM: síndrome metabólica. DM: diabetes mellito tipo 2. DCV: doença cardiovascular.

15 OB: obesidade.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo que prevê precocemente a predisposição ao desenvolvimento de síndrome metabólica, doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes tipo 2 em RNs que nasceram com alteração do crescimento fetal, a partir da detecção da expressão de um ou mais biomarcadores selecionados em um grupo consistindo de APOA5, APOE, BUD13, CACNB2, CDKAL1, ENPP1, F5, FOXO3, FTO, IRS1, KCNQ1, KLF4, LEP, LEPR, MYH7, NOS2, NOS3, PPARG, SIRT, TCF7L2 e ZNF259 em que o aumento de um ou mais dos biomarcadores, em comparação com um padrão, indicará uma probabilidade ao desenvolvimento do fenótipo patológico.
2. A análise de amostras biológica a partir do método da reivindicação 1.
3. Processo na forma de detecção dos padrões dos níveis de expressão dos potenciais biomarcadores descritos no método de reivindicação 1.
4. Processo na forma de detecção em amostras de RNs, no que diz respeito a possibilidade de desenvolvimento de síndromes metabólicas a partir dos biomarcadores APOA5, BUD13, IRS1, KLF4, NOS2, NOS3, SIRT e ZNF259 através do método da reivindicação 1.
5. Processo na forma de detecção em amostras de RNs, no que diz respeito a possibilidade ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares a partir dos biomarcadores selecionados a partir do grupo APOA5, APOE, F5, FOXO3, IRS1, KCNQ1, KLF4, MYH7 e PPARG através do método da reivindicação 1.
6. Processo na forma de detecção em amostras de RNs, no que diz respeito a possibilidade ao desenvolvimento de obesidade utilizando os biomarcadores selecionados a partir do grupo ENPP1, FTO, KLF4, LEP, LEPR e PPARG através do método da reivindicação 1.
7. Processo na forma de detecção em amostras de RNs, no que diz respeito a possibilidade ao desenvolvimento de diabetes tipo 2 a partir dos biomarcadores CDKAL1, IRS1, KCNQ1, PPARG e TCF7L2, através do método da reivindicação 1.

Figura 1.



PAINEL GENÉTICO NO DIAGNÓSTICO DAS ALTERAÇÕES DO CRESCIMENTO FETAL E PREDISPOSIÇÃO ÀS DOENÇAS METABÓLICAS NO ADULTO

RESUMO

A invenção refere-se a um painel de marcadores genéticos que possuem potencial de diagnóstico e predição no desenvolvimento de síndrome metabólica, doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes tipo 2, não excluindo outras doenças metabólicas em recém-nascidos que apresentam alteração do crescimento fetal, para o diagnóstico precocemente do desenvolvimento destes fenótipos patológicos.