



PANORAMA DOS ESTUDOS EM BIOLOGIA MOLECULAR COM ÊNFASE NA SAÚDE PÚBLICA EM PERNAMBUCO: MÉTODOS E PERSPECTIVAS

LUDMILA DUDA VICENTE FERREIRA; MARIA EDUARDA DE OLIVEIRA PEREIRA ROCHA; MARIA RITA DE ALBUQUERQUE ALMEIDA NETA

RESUMO

A saúde pública pode ser definida como um conjunto de ações com finalidade de promover a qualidade de vida e reduzir a vulnerabilidade e os riscos à saúde coletiva. Durante o quadriênio 2016-2020, o estado de Pernambuco foi considerado o terceiro estado com maiores taxas de mortalidade devido às doenças tropicais negligenciadas. As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) constituem um dos maiores causadores de mortalidade em países tropicais, havendo-se a necessidade de estudos e ações que visam reduzir sua disseminação, direta ou indiretamente. A biologia molecular, como área unificadora da biologia, surge como uma ferramenta de apoio que busca entender as causas e consequências das DTNs, bem como a aplicabilidade para a saúde pública. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é realizar uma breve revisão sistemática sobre as principais DTNs estudadas no estado de Pernambuco, enfatizando-se nos estudos de biologia molecular para o combate e/ou tratamento destas doenças para a Saúde Pública. A revisão sistemática foi realizada por pesquisa com palavras-chave nos servidores do Pubmed e Google Scholar, focando-se nas principais DTNs do Brasil, como tuberculose, dengue e zoonoses, tendo como caracteres de inclusão artigos escritos por pesquisadores Pernambucanos e publicados nos últimos dez anos. As metodologias empregadas nos artigos também foram comparadas para se ter um panorama das principais tecnologias utilizadas no estado. Ao todo foram selecionados dez artigos que foram subdivididos nas áreas de genômica, transcriptômica e proteômica. A maioria dos trabalhos encontrados foram nas áreas de genômica e proteômica, sobretudo para o estudo da leishmaniose. Durante a revisão dos trabalhos percebeu-se a variação de métodos empregados em pesquisa, desde cultivo celular, a extração de ácidos nucleicos e sequenciamento, como também técnicas de clonagem e montagem de genomas. Apesar da variabilidade de metodologias, foi notado que os trabalhos de transcriptômica são incipientes, além da ausência de artigos que associem técnicas de biologia molecular de última geração, como CRISPR, as problemáticas atuais. A partir deste trabalho espera-se haver um entendimento geral de como as tecnologias estão avançando, abrindo a possibilidade para novas pesquisas na área da temática abordada.

Palavras-chave: Doenças tropicais; Doenças negligenciadas; Genômica; Transcriptômica; Proteômica

1 INTRODUÇÃO

Desde o momento do nascimento até a senescência, o desejo individual de estar saudável preocupa nossos pensamentos. É com esta preocupação que o conceito de Saúde Pública surgiu como forma de promover a qualidade de vida e reduzir a vulnerabilidade e os riscos à saúde da população (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). A Saúde Pública neste sentido analisa os problemas de saúde definidos em termos de mortes, doenças e agravos de forma paralela as

suas ocorrências na coletividade (DE SOUZA, 2014). Em um país tropical como o Brasil, principalmente na região nordeste, é natural que as doenças de maior incidência sejam as Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs), definida como as que se disseminam em meios precários de estrutura sanitária, alimentação e de acesso à saúde adequada (VASCONCELOS *et al.*, 2015).

De acordo com o Ministério da Saúde (2010), algumas das principais DTNs são a dengue, a doença de Chagas, a esquistossomose, a hanseníase, a leishmaniose, a malária e a tuberculose. Uma análise comparativa destas nos permite separá-las em doenças relacionadas a agentes vetores, como a dengue, e aquelas de transmissão horizontal, como a tuberculose. No entanto, a partir desta divisão percebe-se que a maioria das doenças estão associadas a vetores, o que reforça a importância em estudos multidisciplinares de interação vetor-patógeno, bem como das consequências da interação no homem (SILVA *et al.*, 2013).

Diante desta complexidade de fatores a biologia molecular, como área multidisciplinar e associada em áreas ambientais e biomédicas como a evolução, ecologia e a microbiologia, pode ser usada como ferramenta na obtenção de novos tratamentos, diagnósticos e até mesmo na prevenção destas doenças (KATOCH, 2004, LACROIX *et al.*, 2012, PULICE *et al.*, 2016). A região Nordeste do Brasil, sobretudo no estado de Pernambuco – considerado o terceiro estado com maior casos de óbitos por DTNs no nordeste (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024) – possui diferentes núcleos de estudo em genética de DTNs, como os Institutos de Pesquisa e Universidades Públicas. No entanto, existem desafios atrelados a esta associação com a biologia molecular que precisam ser discutidos para o combate destas doenças.

Perante o exposto, o objetivo deste trabalho é realizar uma breve revisão sistemática sobre as principais DTNs estudadas no estado de Pernambuco, enfatizando-se nos estudos de biologia molecular para o combate e/ou tratamento destas doenças para a Saúde Pública. A seguinte revisão propõe discutir de forma assertiva quais aspectos metodológicos são mais frequentemente utilizados e quais desafios estão atrelados a estas abordagens, sobretudo naquelas que envolvem a interface patógeno-vetor-hospedeiro.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A revisão foi realizada tendo como base os principais bancos de dados de pesquisa biológica, como o Pubmed, o SciELO e o Google Scholar, adotando-se o modelo de revisão sistemática onde palavras-chave e os trabalhos mais recentes foram escolhidos para a discussão. Para tanto, foi necessário a utilização de critérios para a escolha dos artigos:

1. O trabalho deve ter sido publicado no período entre 2014-2024.
2. Deve apresentar, na sua metodologia, alguma abordagem da genética e/ou da biologia molecular (contemplando as áreas da genômica, transcriptômica e/ou proteômica).
3. O artigo deve mencionar uma DTN, seja em abordagens que visam o tratamento das doenças ou ações de prevenção.
4. O trabalho precisa ter sido realizado por pesquisadores do estado de Pernambuco, enfatizando-se o primeiro autor.

Na busca foram utilizadas como palavras-chave os seguintes termos de forma combinada: “Genética”, “Genômica”, “Transcriptômica”, “Proteômica”, “Dengue”, “Doença de Chagas”, “Esquistossomose”, “Hanseníase”, “Leishmaniose”, “Malária” e “Tuberculose”, delimitando-se o ano de publicação e removendo os trabalhos realizados por pesquisadores que não estão em grupos de pesquisa em Pernambuco. Destes artigos, foram selecionados 10 para a análise comparativa dos dados a fim de se obter um panorama das principais metodologias utilizadas por pesquisadores pernambucanos no enfrentamento destas DTNs. Após a obtenção dos trabalhos, foi realizada uma filtragem para dividir os artigos em três subtópicos baseados

no objeto de estudo (Genômica, Transcriptômica e Proteômica) a fim de serem apresentados e discutidos separadamente. Foram contemplados tanto resumos escritos em português quanto em inglês.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ARTIGOS SELECIONADOS

Ao todo foram selecionados dez artigos nas buscas pelas plataformas do Pubmed e do Google scholar. Destes, apenas um artigo se encontra disponível na língua portuguesa, sendo o restante respectivos a manuscritos em inglês. Como pode ser visto na **tabela 1**, a maioria dos artigos encontrados são respectivos a genômica (cinco trabalhos), seguidos por trabalhos de proteômica (três trabalhos) e transcriptômica (dois trabalhos). Em relação as DTNs, a maioria dos artigos encontrados refere-se a estudos com a leishmaniose (cinco trabalhos) e esquistossomose (três trabalhos). Para a tuberculose e a dengue, foram encontrados um artigo para cada.

Tabela 1. Artigos de genética e biologia molecular encontrados em plataformas *online* com ênfase nas doenças tropicais negligenciadas.

<i>Palavras-chave</i>	Genômica	Transcriptômica	Proteômica
Dengue	_____	_____	BRASIER <i>et al.</i> , 2015
Doença de Chagas	_____	_____	_____
Esquistossomos e Hanseníase	SILVA <i>et al.</i> , 2014 CONSTANTINO <i>et al.</i> , 2019	_____	JUNIOR <i>et al.</i> , 2021
Leishmaniose	NETO <i>et al.</i> , 2019 DE SÁ <i>et al.</i> , 2019	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2015 SANTOS <i>et al.</i> , 2020	SILVA <i>et al.</i> , 2016
Malária	_____	_____	_____
Tuberculose	ARAÚJO <i>et al.</i> , 2023	_____	_____

3.2 GENÔMICA

Nos trabalhos genômicos nota-se que a maioria dos artigos objetivou estudar métodos de detecção de polimorfismos associados ao agravamento dos sintomas de uma DTN, relacionados muitas vezes a receptores celulares e moléculas do sistema imune (SILVA *et al.*, 2014, CONSTANTINO *et al.*, 2017, ARAÚJO *et al.*, 2023). Estudos de diversidade genética e caracterização genômica também se mostraram comuns, sobretudo para o estudo de espécies do gênero *Leishmania* (NETO *et al.*, 2019, DE SÁ *et al.*, 2019).

Para os estudos de polimorfismos, as principais técnicas empregadas foram as de extração de DNA, reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento. Por outro lado, os trabalhos de diversidade genética e caracterização genômica tiveram como principais metodologias a extração de DNA, PCR, clonagem gênica, sequenciamento, mapeamento dos genomas e construção de árvores filogenéticas. Percebe-se aqui como a triade extração de DNA-PCR-Sequenciamento são importantes para os estudos de genética molecular, dando a entender que os estudos genômicos são amplos e completos na aplicação destas abordagens.

3.3 TRANSCRIPTÔMICA

Para os trabalhos na área da transcriptômica foram encontrados dois referentes a estudos com leishmaniose que, ao serem lidos de forma minuciosa, detectou-se que o manuscrito de Santos *et al.*, (2020) se enquadra nos subtópicos de genômica e proteômica devido as

abordagens mistas. O estudo de Oliveira *et al.* (2015) teve como objetivo avaliar o papel de uma citocina na sinalização de infecções por *Leishmania* spp., semelhante ao trabalho de Silva *et al.*, 2014.

Neste caso, Oliveira e colaboradores utilizaram-se de métodos de transcriptômica como a extração de RNAm, precedidas por cultivo de células mononucleadas de sangue periférico (PBMC). Também foi utilizada a técnica de extração de DNA e genotipagem, mas que neste caso o resultado foi utilizado para complementar os resultados da transcriptômica. Aqui nota-se que os trabalhos com RNAm são incipientes, muitas vezes porque as abordagens genômicas já são suficientes para trazer respostas necessárias a esse tipo de trabalho.

3.4 PROTEÔMICA

Os artigos em proteômica foram variados conforme o organismo estudado, seja a espécie vetor (JUNIOR *et al.*, 2021), o agente etiológico (SILVA *et al.*, 2016) ou o hospedeiro definitivo (BRASIER *et al.*, 2014). De modo geral, as técnicas utilizadas foram a cultura de células, extração de proteínas, quantificação por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas e a citometria de fluxo. As abordagens dos respectivos trabalhos foram igualmente amplas, indicando que a proteômica representa uma área em potencial para estudos de biologia molecular na região, além dos objetivos serem bastante diversos – seja em métodos aplicados a diagnóstico ou tratamento.

4 CONCLUSÃO

As doenças tropicais negligenciadas são um grupo de enfermidades que vêm trazendo preocupação para o governo brasileiro. A região nordeste do Brasil, enfatizando-se o estado de Pernambuco, possui políticas públicas para evitar a disseminação destas doenças no estado, mas que obviamente precisam do apoio de institutos de pesquisa para a obtenção de métodos complementares para tratamento e prevenção. As ferramentas da biologia molecular, tais como sequenciamento, PCR, citometria de fluxo, dentre outras, surgem como forma de auxiliar no entendimento da dinâmica destas doenças e na consequente melhoria da qualidade de vida da população. Apesar de algumas abordagens da biologia molecular não serem tão frequentes nos estudos no estado de Pernambuco, como a transcriptômica, reiteramos que as modalidades de trabalhos são amplas, havendo uma expectativa de que novas técnicas possam ser integradas – como o CRISPR, terapia gênica, entre outras.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, R. M. *et al.* Avaliação da associação entre variantes genéticas do receptor toll-like 4 com o risco de desenvolvimento da tuberculose pulmonar. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 27, p. 103608, 2023.

BRASIER, A. R. *et al.* Molecular classification of outcomes from dengue virus-3 infections. **Journal of Clinical Virology**, v. 64, p. 97-106, 2015.

CONSTANTINO, T. S. C. *et al.* Association between polymorphisms of the mannose-binding lectin and severity of periportal fibrosis in schistosomiasis, in the northeast of Brazil. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers**, v. 21, n. 9, p. 571-576, 2017.

DE SÁ, B. S. L. F., *et al.* Identification of divergent *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* ecotypes derived from a geographically restricted area through whole genome analysis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 6, p. e0007382, 2019.

DE SOUZA, L. E. P. F. Saúde pública ou saúde coletiva. **Rev Espaço Saúde**, v. 15, n. 4, p. 7-21, 2014.

FERREIRA, L. F. G. R. *et al.* Combination of in silico methods in the search for potential CD4+ and CD8+ T cell epitopes in the proteome of *Leishmania braziliensis*. **Frontiers in Immunology**, v. 7, p. 216646, 2016.

JUNIOR, N. C. P. *et al.* A proteomics evaluation of the primary and secondary immune response of *Biomphalaria straminea* challenged by *Schistosoma mansoni*. **Parasitology Research**, v. 120, p. 4023-4035, 2021.

KATOCH, V. M. Newer diagnostic techniques for tuberculosis. **Indian Journal of Medical Research**, v. 120, p. 418-428, 2004

LACROIX, R. *et al.* Open field release of genetically engineered sterile male *Aedes aegypti* in Malaysia. **Plos One**, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Política Nacional de Promoção da Saúde**. 3ª edição. Distrito Federal: Ministério da Saúde, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. **Rev Saúde Pública**, v. 44, n. 1, p. 200-2, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Doenças Tropicais Negligenciadas no Brasil: Morbimortalidade e resposta nacional no contexto dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável. **Boletim Epidemiológico**, 2024.

NETO, A. L. C. *et al.* In silico characterization of multiple genes encoding the GP63 virulence protein from *Leishmania braziliensis*: identification of sources of variation and putative roles in immune evasion. **BMC genomics**, v. 20, p. 1-17, 2019.

OLIVEIRA, P. R. S. *et al.* IL2ra genetic variants reduce IL-2–dependent responses and aggravate human cutaneous leishmaniasis. **The Journal of Immunology**, v. 194, n. 6, p. 2664-2672, 2015.

PULICE, G. *et al.* Molecular farming in *Artemisia annua*, a promising approach to improve anti-malarial drug production. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 172462, 2016.

SANTOS, W. *et al.* Gene design, optimization of protein expression and preliminary evaluation of a new chimeric protein for the serological diagnosis of both human and canine visceral leishmaniasis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 14, n. 7, p. e0008488, 2020.

SILVA, A. G. S. *et al.* Doenças tropicais, estratégias e pesquisas em doenças negligenciadas associadas à pobreza. **Portal Regional da BVS**, 2013.

SILVA, P. C. V. *et al.* Association of SNP (-G1082A) IL-10 with Increase in Severity of Periportal Fibrosis in Schistosomiasis, in the Northeast of Brazil. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers**, v. 18, n. 9, p. 646-652, 2014.

VASCONCELOS, R. S. *et al.* Doenças Negligenciadas: revisão da literatura sobre as

intervenções propostas. **Saúde & Transformação Social/Health & Social Change**, v. 6, n. 2, p. 114-131, 2015.