

M a n u a l d e
Genética
Médica

FERNANDO J. REGATEIRO

(Página deixada propositadamente em branco)



E

N

S

I

N

O

TÍTULO
Manual de Genética Médica

1.ª Edição – 2003
1.ª Reimpressão – 2004
2.ª Reimpressão – 2007

AUTOR
Fernando J. Regateiro

COORDENAÇÃO EDITORIAL
Imprensa da Universidade de Coimbra

CONCEPÇÃO GRÁFICA
António Barros

DIAGRAMAS E PAGINAÇÃO
Victor Hugo Fernandes

EXECUÇÃO GRÁFICA
SerSilito • Maia

ISBN
972-8704-12-7

ISBN DIGITAL
978-989-26-0436-7

DOI
<http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0436-7>

DEPÓSITO LEGAL
202426/03

© 2003, IMPRENSA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

OBRA PUBLICADA COM O PATROCÍNIO EXCLUSIVO DE:



GRUPO FARMACÉUTICO

M a n u a l d e
Genética
Médica

FERNANDO J. REGATEIRO

(Página deixada propositadamente em branco)

PREFÁCIO

Se recordarmos que o número exacto de cromossomas na espécie humana apenas foi estabelecido em 1956 e que, ainda assim, o Genoma Humano já foi quase integralmente sequenciado, é perceptível a velocidade a que o conhecimento científico tem evoluído no domínio da Genética. Contudo, a especificidade deste progresso torna frequentemente difícil e demorada a sua transdução em conhecimento beneficente para o doente ou para quem esteja em risco.

Pela esperança que os avanços científicos da Genética representam para quem sofre, o confronto com a novidade e as suas aplicações reais ou hipotéticas já faz parte do quotidiano dos médicos e demais profissionais de saúde. Os doentes e os cidadãos em geral esperam, particularmente do médico, respostas que enquadrem as suas expectativas ou que serenem as suas inquietudes. Contudo, e dada a vastidão e a complexidade dos progressos da Genética, apenas uma lógica e uma capacidade crítica assentes em conhecimentos fundamentais poderão responder às questões mais frequentes e à necessidade de aprender ao longo da vida.

Neste enquadramento, pareceu útil elaborar um manual de Genética Médica. No elenco de temas seleccionados, foram incluídos os que melhor sustentam o raciocínio em bases genéticas, dando-lhes um cariz objectivo e uma formulação didáctica. Para cada tema, foi seleccionada a informação essencial para a percepção dos conceitos e a construção dos conhecimentos fundamentais. A experiência acumulada com a leccionação nas licenciaturas em Medicina e em Medicina Dentária da Faculdade de Medicina de Coimbra e em cursos de pós-graduação, mestrado e doutoramento foi determinante para as escolhas realizadas.

Na génese deste trabalho, encontra-se o exemplo dos mestres cujo talento e dedicação levaram à elaboração de textos e livros de que o autor pôde desfrutar enquanto estudante. Está também o exemplo do Prof. Doutor Agostinho Almeida Santos, como regente da disciplina de Genética Médica e responsável pela equipa pedagógica que o autor teve o privilégio de integrar, pela atenção e incentivo que sempre deu à preparação de textos de apoio para os alunos. E ainda o exemplo dos seus colegas docentes da Faculdade de Medicina de Coimbra que continuam a deixar nos livros que publicam e nos textos que disponibilizam todo um saber e uma reflexão generosamente postos ao serviço da educação médica, fazendo da edição de livros de ciência médica, uma tradição da nossa Escola. O esforço de aprendizagem a que se obrigam os seus alunos dos cursos pré-graduados e pós-graduados constituiu também um forte estímulo para verter, neste manual, a sua vivência lectiva e experiência pedagógica.

Houve, da parte do autor, a preocupação constante de expurgar o texto de erros conceptuais graves e de omissões grosseiras, para o que pôde contar com as sugestões e a esclarecida ajuda de uma pleiade de colegas que procederam à correcção dos originais e à revisão das provas, no todo ou em parte. Contudo, a responsabilidade pelos erros ou omissões presentes, apenas ao autor deverá ser atribuída. Neste esforço de correcção e de revisão, deseja agradecer, penhoradamente, os valiosíssimos contributos da Prof^a Doutora Tice Anastácio de Macedo, dos Prof^{es} Doutores Agostinho de Almeida Santos, Vasco Bairos, Sérgio Castedo, Jorge Saraiva, Victor Rodrigues e Joaquim Sousa Barros, das Dr^{as} Teresa Almeida Santos e Henriqueta Alexandra Coimbra e dos Dr^{es} Manuel Lemos e António Martinho. Um elevado agradecimento, pelos contributos iconográficos, é também devido aos Prof^{es} Doutores Agostinho Almeida Santos, Júlio Leite e Jorge Saraiva, à Dr^a Teresa Almeida Santos e aos Dr^{es} Manuel Lemos e António Martinho. A apresentação da obra é devida ao primor do conceito estético do Senhor António Barros e a qualidade dos diagramas e da paginação à proficiência do Senhor Victor Hugo Fernandes. A ambos, o autor testemunha profundo agradecimento. No seio da Imprensa da Universidade tem o autor encontrado técnicos e funcionários com um superior sentido de dever e de dedicação merecedor de todo o reconhecimento. Sincera gratidão é ainda devida aos Laboratórios ATRAL, pela generosidade do apoio financeiro concedido.

Que este livro promova o conhecimento da Genética Médica e, através dele, o respeito pela dignidade humana e pela diferença!

ÍNDICE

PREFÁCIO	V
ABREVIATURAS	XVII
CAPÍTULO I. HISTÓRIA E DESENVOLVIMENTO DA GENÉTICA	1
1. Mendelismo	1
2. Bases cromossómicas da Genética	3
3. Bases moleculares da Genética	4
4. Prémios Nobel na área da Genética.....	7
CAPÍTULO II. BASES CELULARES E MOLECULARES DA HEREDITARIEDADE	9
1. Conceito de molécula informacional.....	9
1.1. Demonstração da capacidade informacional do DNA.....	10
1.2. Priões como moléculas informacionais.....	13
2. Estrutura do DNA	14
3. Genes e genoma	19
4. Genoma mitocondrial.....	21
5. Replicação do DNA.....	22
6. Replicação dos vírus de RNA	24
7. Transcrição do DNA	24
8. Tradução do RNA mensageiro.....	26
CAPÍTULO III. REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÉNICA	29
1. Introdução	29
2. Regulação da expressão génica a nível da replicação do DNA ...	31
3. Regulação da expressão génica a nível da transcrição	32
3.1. Regulação epigenética da transcrição	35
3.2. Processamento do RNAhn	36
4. Regulação da expressão génica a nível da tradução	38
5. Regulação da expressão génica a nível da pós-tradução	38
6. Retrorregulação como mecanismo modelador da expressão génica..	40

CAPÍTULO IV. DIVERSIDADE HUMANA. MUTAÇÕES. REPARAÇÃO DO DNA	41
1. Diversidade humana.....	41
1.1. Bases genéticas da diversidade	42
1.1.1. Contributo dos cromossomas	42
1.1.2. Contributo do polialelismo.....	43
1.1.3. Contributo dos polimorfismos de DNA	44
2. Mutações do DNA	46
2.1. Tipos e locais das mutações	49
2.1.1. Mutações pontuais.....	50
2.1.2. Mutações pontuais por substituição de uma base	50
2.1.3. Mutações por deleção ou inserção de uma ou mais bases	52
2.1.4. Mutações dinâmicas.....	52
2.1.5. Mutações por fusão de genes	53
2.1.6. Nomenclatura das mutações	54
2.2. Consequências das mutações	55
2.3. Natureza das mutações	57
3. Reparação do DNA	60
3.1. Reparação por excisão de uma base.....	61
3.2. Reparação por excisão de nucleótidos	62
3.3. Reparação de erros de emparelhamento.....	63
3.4. Reparação de quebras da cadeia de DNA.....	65
CAPÍTULO V. MÉTODOS DE ESTUDO DO GENOMA HUMANO	67
1. Introdução	67
2. Estudos de associação.....	68
3. Estudos de ligação génica.....	70
3.1. RFLPs	71
3.2. VNTRs	74
3.3. Limitações dos estudos de ligação génica.....	75
3.4. Distâncias genéticas	76
4. Recombinação e clonagem de DNA.....	78
4.1. Procedimentos para clonagem de DNA	80
5. Reacção de polimerização em cadeia.....	84
6. Sequenciação do DNA	87
7. Mapeamento físico do genoma	89
8. “Microarrays”	91
CAPÍTULO VI. HISTÓRIA FAMILIAR. HEREDOGRAMA	93
1. Introdução	93
2. Como elaborar uma história clínica em Genética.....	94
2.1. Recolha de dados sobre o <i>propositus</i>	94
2.2. Recolha de dados sobre a história familiar.....	95

2.3.	Exame objectivo e meios complementares de diagnóstico.....	97
3.	Heredograma	98
3.1.	Normas para a elaboração de um heredograma.....	98
3.2.	Indicações para a elaboração de um heredograma.....	102
3.3.	Informações que se podem obter de um heredograma.....	102
3.4.	Dificuldades na elaboração e interpretação de um heredograma..	103
	CAPÍTULO VII. TIPOS DE HEREDITARIEDADE	105
1.	Introdução	105
2.	Conceitos fundamentais para compreender a hereditariedade ...	107
3.	Critérios para identificação e exclusão das situações hereditárias	109
4.	Hereditariedade mendeliana.....	111
4.1.	Hereditariedade autossómica dominante.....	111
4.1.1.	Síndrome de Marfan.....	114
4.2.	Hereditariedade autossómica recessiva.....	114
4.2.1.	Fibrose quística.....	117
4.3.	Hereditariedade recessiva ligada ao cromossoma X	119
4.3.1.	Distrofia muscular de Duchenne	122
4.4.	Hereditariedade dominante ligada ao cromossoma X.....	123
4.5.	Hereditariedade ligada ao cromossoma Y.....	124
4.6.	Dificuldades de identificação das condições hereditárias	125
4.6.1.	Mutações letais.....	125
4.6.2.	Mutações “de novo”	126
4.6.3.	Mosaicismo gonadal	127
4.6.4.	Polialelismo	127
4.6.5.	Heterogeneidade génica	128
4.6.6.	Pleiotropismo	130
4.6.7.	Penetrância incompleta.....	131
4.6.8.	Expressividade variável	132
4.6.9.	Epistasia.....	134
4.6.10.	Influência do sexo.....	135
4.6.11.	Limitação ao sexo	135
4.6.12.	Fenocópias.....	135
4.6.13.	Teratogéneos.....	136
4.6.14.	Paternidade extraconjugal.....	136
5.	Hereditariedade não-mendeliana.....	137
5.1.	Hereditariedade poligénica.....	137
5.2.	Hereditariedade multifactorial	138
5.2.1.	Introdução	138
5.2.2.	Métodos de estudo da hereditariedade multifactorial.....	139
5.2.2.1.	Estudos populacionais.....	140
5.2.2.2.	Estudos de famílias	141
5.2.2.3.	Estudos em crianças adoptadas	141

5.2.2.4. Estudos de gémeos e hereditabilidade	142
5.2.3. Critérios para identificação das condições multifactoriais	144
5.2.4. Factores que influenciam a recorrência de condições multifactoriais	145
5.2.5. Exemplos de patologia de natureza multifactorial.....	147
5.2.5.1. Alcoolismo	147
5.2.5.2. Atraso mental	148
5.2.5.3. Cancro	149
5.2.5.4. Diabetes mellitus.....	149
5.2.5.5. Doença de Alzheimer.....	150
5.2.5.6. Doença cardíaca coronária.....	151
5.2.5.7. Doenças psiquiátricas	152
5.2.5.8. Hipertensão arterial.....	153
5.2.5.9. Obesidade.....	154
5.3. Hereditariedade mitocondrial	155
5.4. "Imprinting" genómico.....	157
5.5. Digenismo	160
5.6. Dissomia uniparental	161
5.7. Mutações dinâmicas e antecipaço.....	162
5.7.1. Síndroma do X-frágil.....	163

CAPÍTULO VIII. GENÉTICA DE POPULAÇÕES	167
1. Introdução.....	167
2. Frequência alélica e genotípica.....	169
3. Equilíbrio de Hardy-Weinberg.....	170
3.1. Factores que afectam o equilíbrio de Hardy-Weinberg	171
4. Consanguinidade e endocruzamento	174
5. Exemplos práticos	176
5.1. Determinação da frequência alélica	176
5.2. Determinação da frequência genotípica.....	177
5.3. Determinação da frequência alélica, por conhecimento da frequência genotípica	178
5.4. Aplicação do equilíbrio de Hardy-Weinberg a condições autossómicas recessivas	178
5.5. Aplicação do equilíbrio de Hardy-Weinberg a genes ligados ao cromossoma X.....	179
5.6. Efeitos da consanguinidade nas frequências genotípicas	180
5.7. Cálculos de consanguinidade e endocruzamento	181

CAPÍTULO IX. CÁLCULOS DE RISCO	187
1. Introdução	187
2. Risco absoluto e risco relativo	188

3.	Risco empírico.....	189
4.	Comunicação do risco	190
5.	Cálculo de probabilidades: exclusão e independência dos acontecimentos	192
6.	O risco genético em casos de casamentos consanguíneos	193
7.	Exemplos práticos de riscos genéticos	194
7.1.	Mutações “de novo”	194
7.2.	Mosaïcismo gonadal	195
7.3.	Hereditariedade mitocondrial	196
7.4.	Hereditariedade multifactorial	196
7.5.	Hereditariedade mendeliana.....	197
7.6.	Cálculo de risco pelo teorema de Bayes	200
7.6.1.	Aplicação do teorema de Bayes numa condição recessiva ligada ao X.....	200
7.6.2.	Aplicação do teorema de Bayes numa condição autossómica dominante de penetrância incompleta.....	202
 CAPÍTULO X. ERROS INATOS DO METABOLISMO. FARMACOGENÉTICA. ECOGENÉTICA.		203
1.	Introdução.....	203
2.	Erros inatos do metabolismo.....	204
2.1.	Fenilcetonúria.....	206
2.2.	Doença de Gaucher	209
3.	Farmacogenética	210
3.1.	Enzimas de metabolismo de genotóxicos	212
3.1.1.	Citocromo oxidase P450	213
3.1.2.	Glutathione S-transferases	215
3.1.3.	N-acetiltransferases	216
3.2.	Deficiência da G6PD e reacções adversas	216
3.3.	Sensibilidade à succinilcolina.....	217
3.4.	Metabolismo da isoniazida	218
3.5.	Hipertermia maligna.....	218
3.6.	Porfíria aguda intermitente	219
3.7.	Acatalásia.....	219
3.8.	Perspectivas futuras.....	220
4.	Ecogenética	220
4.1.	Dieta e hábitos alimentares	222
4.1.1.	Álcool e alcoolismo.....	222
4.1.2.	Hipercolesterolémia familiar	223
4.1.3.	Favismo e deficiência em G6PD	224
4.1.4.	Dieta láctea e hipolactasia	225
4.1.5.	Intolerância hereditária à frutose	225
4.1.6.	Galactosémia	226
4.1.7.	Suplemento alimentar de ferro e hemocromatose.....	227

4.1.8.	Deficiência em ácido fólico e defeitos do tubo neural.....	227
4.2.	Poluentes ambientais	228
4.2.1.	Fumo e poeiras e deficiência em α 1-antitripsina	228
4.2.2.	Insecticidas	229

CAPÍTULO XI. DIVISÃO CELULAR		231
1.	Introdução	231
2.	Ciclo celular	232
3.	Mitose	235
4.	Controlo do ciclo celular.....	237
5.	Meiose	239

CAPÍTULO XII. CARIÓTIPO HUMANO		243
1.	Introdução	243
2.	Cariótipo humano.....	244
3.	Indicações para o estudo do cariótipo	247
4.	Métodos de estudo dos cromossomas.....	248
5.	Bandeamento cromossómico.....	249
5.1.	Padrões de bandas	250
6.	Citogenética molecular	251
6.1.	FISH	252
6.2.	Hibridação genómica comparativa	254
6.3.	PCR <i>in situ</i>	254
7.	Cariótipo de tecidos tumorais.....	255
8.	Acrónimos e símbolos usados em citogenética.....	256
9.	Exemplos de cariótipos	258

CAPÍTULO XIII. ALTERAÇÕES CROMOSSÓMICAS NUMÉRICAS E ESTRUTURAIS		263
1.	Introdução	263
2.	Alterações numéricas	264
2.1.	Poliploidia	265
2.2.	Aneuploidia.....	265
3.	Alterações estruturais.....	268
3.1.	Deleções	270
3.2.	Duplicações.....	273
3.3.	Isocromossoma	274
3.4.	Inversões	275
3.5.	Translocações	276

CAPÍTULO XIV. CROMOSSOMOPATIAS	281
1. Introdução	281
2. Trissomia 21 (síndrome de Down).....	283
2.1. Aspectos clínicos.....	284
2.2. Alterações cromossômicas	287
2.3. Risco de recorrência e aconselhamento	289
2.4. Rastreamento no soro materno durante o período fetal	292
3. Trissomia 18 (síndrome de Edwards).....	294
3.1. Aspectos clínicos.....	294
3.2. Aspectos citogenéticos e aconselhamento	295
4. Trissomia 13 (síndrome de Patau)	296
4.1. Aspectos clínicos.....	297
4.2. Aspectos citogenéticos e aconselhamento	298
5. Síndrome de Turner	298
5.1. Aspectos clínicos.....	299
5.2. Aspectos citogenéticos e risco de recorrência	301
5.3. Tratamento	301
6. Síndrome de Klinefelter	302
6.1. Aspectos clínicos.....	303
6.2. Aspectos citogenéticos.....	304
6.3. Tratamento	304
7. Trissomia XYY	305
8. Trissomia XXX	305
CAPÍTULO XV. GENÉTICA DO DESENVOLVIMENTO	307
1. Introdução.....	307
2. Desenvolvimento embrionário e fetal.....	310
3. Genes homeóticos.....	314
4. Determinação e diferenciação embrionária e fetal.....	316
5. Mola hidatiforme	317
6. Determinação sexual	318
7. Lionização	319
8. Gemelaridade	321
9. Clonagem	323
10. Diferenciação gonadal	326
11. Desenvolvimento sexual masculino	326
12. Desenvolvimento sexual feminino	328
13. Genes envolvidos na diferenciação gonadal e sexual.....	330
14. Tipos de sexo.....	330
15. Hermafroditismo verdadeiro.....	332
16. Pseudo-hermafroditismo.....	333
16.1. Pseudo-hermafroditismo feminino.....	333
16.2. Pseudo-hermafroditismo masculino.....	335

CAPÍTULO XVI. ANOMALIAS CONGÊNITAS	337
1. Introdução.....	337
2. Malformações	338
3. Associação	340
4. Sequências	340
5. Disrupções	341
6. Deformações.....	341
7. Displasias	342
8. Malformações congénitas de causa multifactorial.....	342
9. Malformações de causa monogénica.....	343
10. Malformações de causa cromossómica	344
11. Malformações devidas a doenças maternas	345
12. Síndromas malformativas de causa teratogénica	345

CAPÍTULO XVII. GENES DE REGULAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR.	
APOPTOSE. SENESCÊNCIA	351
1. Genes de regulação da proliferação celular	351
1.1. Protooncogenes e oncogenes	352
1.1.1. Factores de crescimento e receptores de membrana.....	353
1.1.2. Transdução intracelular de sinais.....	353
1.1.3. Factores de transcrição nucleares.....	354
1.2. Oncogenes	355
1.3. Antioncogenes ou genes de supressão tumoral.....	357
1.3.1. Gene <i>RB</i>	360
1.3.2. Gene <i>TP53</i>	362
1.3.3. Gene <i>PTEN</i>	364
1.4. Genes de reparação do DNA	364
1.5. Genes de metabolismo de genotóxicos	365
2. Regulação da proliferação celular normal e neoplásica.....	366
3. Apoptose	369
4. Senescência	371
4.1. O limite proliferativo de Hayflick.....	371
4.2. Progerias	374

XIV	CAPÍTULO XVIII. GENES E CANCRO	377
	1. Introdução	377
	2. O cancro como doença de genes	378
	3. O diálogo entre o genoma e o meio ambiente	379
	4. Consulta de Genética Tumoral	381
	4.1. Finalidades da consulta de Genética Tumoral	381
	4.2. Critérios para acesso a uma consulta de Genética Tumoral.....	382
	4.3. Testes predizentes de susceptibilidade para o cancro.....	383

4.4.	Seguimento dos consulentes	384
4.5.	Declaração de Consentimento Informado	386
5.	Cancro hereditário	387
5.1.	Polipose cólica familiar	387
5.2.	Cancro da mama	390
5.3.	Síndrome de Lynch e carcinoma colorrectal	393

CAPÍTULO XIX. **TERAPIA GÉNICA** 397

1.	Introdução	397
2.	Bases genéticas para a terapia génica.....	398
3.	Critérios de selecção das doenças para terapia génica	400
4.	Abordagens para terapia génica	400
4.1.	Terapia génica somática	400
4.2.	Terapia génica germinal	401
4.3.	Terapia génica <i>ex vivo</i>	401
4.4.	Terapia génica <i>in situ</i>	402
4.5.	Terapia génica <i>in vivo</i>	403
5.	Métodos para terapia génica	403
5.1.	Lipossomas	404
5.2.	Métodos biológicos.....	404
5.2.1.	Retrovírus.....	404
5.2.2.	Adenovírus	407
5.2.3.	Vírus adeno-associados	408
5.2.4.	Vírus herpes	408
5.3.	Modulação da expressão génica	409
5.4.	Recombinação homóloga.....	411
5.5.	Quimeroplastia	411
6.	Exemplos de terapia génica	412
6.1.	Imunodeficiência severa por défice de adenosina desaminase	412
6.2.	Fibrose quística.....	413
6.3.	Tratamento do cancro.....	414
6.4.	Hipercolesterolemia familiar	415
6.5.	Terapia génica de doenças agudas.....	415

CAPÍTULO XX. **ACONSELHAMENTO GENÉTICO** 417

1.	Introdução	417
2.	Etapas do aconselhamento genético.....	418
3.	Indicações para o aconselhamento genético.....	418
4.	Regras básicas para o aconselhamento genético	419

5.	O diagnóstico genético como suporte do aconselhamento.....	421
6.	Opções e seguimento	422
7.	Momentos para o diagnóstico e o aconselhamento genético.....	423
7.1.	Aconselhamento genético pré-matrimonial.....	423
7.2.	Aconselhamento genético pré-concepcional	424
7.3.	Diagnóstico e aconselhamento genético pré-implantatório.....	425
7.4.	Diagnóstico e aconselhamento genético pré-natal.....	427
7.5.	Diagnóstico e aconselhamento genético pós-natal	428
CAPÍTULO XXI. ÉTICA EM GENÉTICA		431
1.	Introdução	431
2.	Princípios éticos.....	432
2.1.	Autonomia e vulnerabilidade	432
2.2.	Beneficência.....	434
2.3.	Não-maleficência.....	434
2.4.	Justiça.....	435
2.5.	Confidencialidade	435
3.	A vida humana, do embrião ao ser adulto	437
4.	Questões associadas à clonagem somática	438
5.	A “descoberta” do genoma humano e o eugenismo.....	440
6.	A questão da “normalidade” à luz da Genética.....	442
7.	A questão das “doenças graves” e de expressão tardia à luz da Genética	443
8.	Questões associadas à terapia génica	444
9.	Questões associadas aos testes genéticos.....	446
9.1.	Testes genéticos pré-sintomáticos ou predizentes	446
9.1.1.	Benefícios e malefícios dos testes genéticos predizentes	448
9.2.	Testes genéticos em crianças	449
9.3.	Testes genéticos pré-natais	450
9.4.	Testes genéticos pré-implantatórios	451
CAPÍTULO XXII. GLOSSÁRIO		455
BIBLIOGRAFIA		483
ÍNDICE REMISSIVO		489

ABREVIATURAS

A	Adenina
ADA	Adenosina desaminase
APC	“adenomatosis polyposis coli”
BAC	Cromossoma artificial de bactéria
bp	Par de bases
C	Citosina
cDNA	DNA complementar
CYP450	Citocromo P450
ddNTP	Di-desoxinucleótido
DMD	Distrofia muscular de Duchenne
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Desoxinucleótido
DPI	Diagnóstico pré-implantatório
DPN	Diagnóstico pré-natal
ESTs	“Expressed sequence tags”
FAP	Polipose cólica familiar (de “familiar adenomatosis polyposis”)
FCU	Fenilcetonúria
FISH	Hibridação “ <i>in situ</i> ” com sonda fluorescente
G	Guanina
G6PD	Desidrogenase da glicose-6-fosfato
GSTs	Glutathiona S-transferases
HNPCC	Carcinoma colorrectal hereditário não-polipótico
LDLs	Lipoproteínas de baixa densidade
LTR	“Long terminal repeat”
MMR	“Mismatch repair”
ORFs	“Open reading frames”
PCR	Reacção de polimerização em cadeia

RFLPs	Polimorfismos do comprimento de fragmentos de restrição
RNA	Ácido ribonucleico
RNAhn	RNA heterogéneo
RNAm	RNA mensageiro
RNAr	RNA ribossômico
RNAt	RNA de transferência
RR	Risco relativo
SCE	“Sister chromatid exchange”
SNP	Polimorfismo de nucleótido único
SSCP	Polimorfismo conformacional de cadeia única
STS	“Sequence-tagged site”
T	Timina
U	Uracilo
VNTR	Sequências repetitivas em número variável
YAC	Cromossoma artificial de levedura

CAPÍTULO I

HISTÓRIA E DESENVOLVIMENTO DA GENÉTICA

1. MENDELISMO

O termo Genética (“Genetics”) foi proposto, pela primeira vez, em 1905, por William Bateson para englobar os conceitos de hereditariedade e de variância. Etimologicamente, este termo está associado à ideia de “gerar”. Na abrangência do seu significado couberam e cabem ainda convicções sobre aspectos de natureza hereditária vindas desde a antiguidade, descritas para a espécie humana e para outros seres vivos. Esta ordem de ideias é ilustrada pelos heredogramas alusivos à transmissão de características das crinas dos cavalos, produzidos pelos habitantes da Caldeia, na Babilónia, há cerca de 6.000 anos, pela percepção da transmissão dos caracteres ao longo das gerações dos seres vivos reveladas pelas semelhanças entre progenitores e descendente ou pela repetição de uma determinada doença em vários membros de uma família. O entendimento empírico da hereditariedade, anteriormente referido, reflecte-se nas determinações expressas no Talmude (livro de registo de leis e tradições do povo judeu) relativamente à isenção da circuncisão nos familiares em risco para a hemofilia, mas também em antigas leis de proibição dos casamentos entre familiares próximos, ou na correlação estabelecida por trabalho de Bemiss em 1857 entre os casamentos consanguíneos e o aumento de frequência de surdez congénita. Também a literatura deu expressão àquele entendimento, como em Shakespeare ao dizer que “quando vaca e toiro, níveis de leite são, / Jamais darão vitelo preto de carvão”.

Os primeiros fundamentos científicos da Genética devem-se a Gregor Mendel, que viveu entre 1822 e 1884. Anteriormente, havia a ideia de que os caracteres dos progenitores se misturavam na descendência, como acontece com a estatura ou a pigmentação cutânea, ainda que esta visão não explicasse situações descontínuas (v.g., hemofilia).

Mendel foi monge do mosteiro de Brno (uma cidade da actual República Checa), onde realizou as suas experiências com ervilheiras de jardim. Os resultados das suas observações foram publicados em 1865. Mendel designou os elementos celulares responsáveis pela transmissão da informação entre as gerações como “factores” e definiu a natureza dominante e recessiva dos caracteres. Pelas suas descrições, é possível verificar como estabeleceu que os alelos de cada par se separam um do outro durante a meiose, recebendo cada gâmeta apenas um dos alelos (1ª lei de Mendel, “law of segregation”).

Para as suas experiências, Mendel escolheu fenótipos determinados por um único gene (donde a designação de hereditariedade mendeliana como sinónimo de hereditariedade monogénica). Por sua vez, os genes encontravam-se em cromossomas diferentes ou tão distantes que não estavam em ligação génica. Pôde assim verificar a segregação independente e deduzir que a transmissão de um gene não influencia a probabilidade de transmissão de outro gene (2ª lei de Mendel, “law of independent assortment”).

Os resultados de Mendel ficaram no esquecimento, sem que fosse possível imaginar a sua importância, até virem a ser publicados de novo por Bateson, em 1901, a data que marcou o início da Genética Médica.

Darwin, um contemporâneo de Mendel, descreveu em 1859, a sua teoria da evolução. Também contemporâneo de Mendel e primo de Darwin, Francis Galton estudou a influência da hereditariedade na determinação de traços humanos, recorrendo sobretudo a gémeos.

Já no princípio do século XX, em 1902, Garrod percebeu que a alcaptonúria é uma condição hereditária devida a alterações num único gene, de natureza autossómica recessiva, o que constituiu a descrição da primeira anomalia humana monogénica. Também a Garrod se deve a designação de “erros inatos do metabolismo” para caracterizar esta e outras situações monogénicas.

Como nota, refira-se que hoje são conhecidas diversas condições que contrariam as leis de Mendel, como sejam a não observância da 1ª lei nas

condições de hemizigotia no sexo masculino, para os genes localizados no cromossoma X. Quando há ligação génica, diferentes pares de alelos também não obedecem à lei da segregação independente. As leis de Mendel não se cumprem igualmente para os genes localizados nas mitocôndrias, quando há “imprinting” genómico, quando há expressividade génica variável, quando ocorre interacção entre os produtos codificados por diferentes genes ou por alelos diferentes de um mesmo gene, ou ainda por acção do meio a nível da expressão génica.

2. BASES CROMOSSÓMICAS DA GENÉTICA

Em 1866, John Langdon Down descreveu clinicamente a condição que veio a ficar conhecida como síndrome de Down. No entanto, as primeiras imagens dos cromossomas humanos, embora sem o nome actual, seriam apenas registadas em 1882, a partir da observação de mitoses de células tumorais por Walther Flemming. A designação “cromossomas” foi escolhida por Waldeyer, em 1888. A proposta de localização de elementos responsáveis pela hereditariedade nos cromossomas, foi prevista por Roux, de Vries e Weissmann, também nesta década de 80.

Em 1903, de forma independente, Sutton e Boveri, estabeleceram que os “factores” de Mendel envolvidos na transmissão das características hereditárias se localizam nos cromossomas, assentando as bases que explicam as leis de Mendel no comportamento dos cromossomas durante a meiose. Já anteriormente, em 1868, Haeckel identificara o núcleo como a sede dos factores hereditários.

Em 1909, Johannsen utiliza o termo “gene” para referir a unidade básica da hereditariedade.

Em 1914, Theodor Boveri enuncia a teoria cromossómica do cancro quando escreve “... in every normal cell there is a specific arrangement for inhibiting, which allows the process of division to begin only when the inhibition has been overcome by a special stimulus. To assume the presence of definite chromosomes which inhibit division... cells of tumours with unlimited growth would arise if those “inhibiting chromosomes” were eliminated...”.

Em 1923, foi identificado o cromossoma Y. Painter descreve a espermatogénese no homem e o sexo cromossómico baseado nos cromossomas XY. Apenas em 1990, viria a ser identificado o gene *SRY*.

A cromatina sexual, conhecida como cromatina de Barr, deve o seu nome a Barr, um dos autores envolvidos na sua descrição, em 1949, em estudos realizados em neurónios de gata.

A descrição do número de 46 cromossomas, como o complemento normal na espécie humana, data de 1956, em artigo da revista *Hereditas* por Tjio e Levan, o mesmo tendo feito Ford e Hamerton na revista *Nature*, no mesmo ano.

Em 1959, Lejeune e colaboradores estabeleceram a associação entre a presença de um cromossoma 21 supranumerário e a existência de síndrome de Down.

A possibilidade de induzir mitoses em linfócitos circulantes por estimulação com fitohemaglutinina foi descrita por Nowell, em 1960.

Em 1976, Yunis introduz a alta resolução em citogenética por estudo de bandeamento cromossómico em células em profase ou em pró-metáfase.

A hibridação "in situ" com sondas fluorescentes (FISH, "fluorescent in situ hybridisation") foi desenvolvida por volta de 1985.

3. BASES MOLECULARES DA GENÉTICA

Em 1867, Miescher isolou uma substância ácida a partir de leucócitos do pús, a que chamou nucleína. Deste termo derivou a designação "ácido nucleico".

Em 1944, Avery, Macleod e McCarty, na sequência do estudo do factor responsável pela transformação de pneumococos não patogénicos em patogénicos, demonstraram que o ácido desoxirribonucleico (DNA) é a molécula com capacidade informacional capaz de transmitir a informação entre gerações.

Watson e Crick, descreveram a estrutura em dupla hélice do DNA, em 1953, o que veio a constituir a base da genética molecular.

Em 1966, Nirenberg, Ochoa e Khorana descreveram o código genético.

Em 1968, Donohue protagonizou o primeiro mapeamento de um gene

humano, com a localização do gene autossómico responsável pelo tipo sanguíneo Duffy, no cromossoma 1.

Cerca de 1970, Werner Arber, Daniel Nathans e Hamilton Smith, descobriram as enzimas de restrição e a sua aplicação a problemas de genética molecular.

Edwin Southern, em 1975, descreveu o método que ficou com o seu nome ("Southern blot"), destinado a evidenciar, através de sondas, a presença de fragmentos de DNA obtidos por acção de enzimas de restrição.

Em 1977, foram apresentadas metodologias para a sequenciação de DNA por Sanger e por Maxam e Gilbert.

No mesmo ano de 1977, foi descrita a clonagem do primeiro gene humano (o gene da somatotrofina coriónica), por J. Shine e co-autores, em artigo publicado na revista Nature.

Em 1978 é descrito o primeiro RFLP ("restriction fragment length polymorphism") por Kan e Dozy, como marcador de ligação génica.

Em 1983, J. Dausset estabelece o Centro de Estudos do Polimorfismo Humano (CEPH) em Paris, constituído por um painel de DNA de famílias, para permitir o mapeamento genético por ligação génica. Trata-se de amostras de DNA de famílias alargadas, contemplando elementos de três gerações sucessivas e um número elevado de membros (os quatro avós, dois filhos e pelo menos oito netos), uma exigência essencial a considerar nas famílias, para serem possíveis os estudos por RFLPs.

A descrição da reacção de polimerização em cadeia (PCR, de "polymerase chain reaction") data de 1986, quando foi descrita por Mullis, Faloona e Scharf.

A primeira proposta para lançamento do "Projecto do Genoma Humano" nos Estados Unidos da América, surge em 1985, acabando por iniciar a sua actividade em 1990, tendo como objectivos: o mapeamento do genoma humano, a sequenciação dos cerca de 3×10^9 pares de bases (bp)⁽¹⁾, o mapeamento e a sequenciação do genoma de outros organismos, o desenvolvimento de tecnologia para análise de DNA e o estudo das implicações éticas, legais e sociais decorrentes do conhecimento do genoma.

⁽¹⁾ No momento actual, com o que se conhece da sequenciação do Genoma Humano e fazendo a analogia com um dicionário, em que cada palavra corresponda a um gene ou a uma determinada sequência de DNA não codificante, encontrar-se-iam quatro grupos de palavras: um grupo para que se conhece a posição no dicionário e o significado da palavra, um grupo para que se conhece a posição mas não se sabe o significado, um grupo de palavras mal escritas (a que pode faltar uma

Previamente, em 1988, fora criada, na Suíça, a “Organização para o Genoma Humano” (HUGO, “Human Genome Organization”) como resultado da vontade de cientistas de 14 países, para coordenar trabalhos de investigação na área do estudo do genoma humano.

Em 1994, a Agência Americana FDA aprovou a comercialização do primeiro organismo geneticamente modificado como alimento – o tomate FLAVR SAVR - afirmando que é tão seguro como os tomates obtidos convencionalmente. Estes tomates, depois de maduros e colhidos, não amolecem durante bastante tempo, ao contrário do que acontece com as espécies de tomates não recombinantes.

A 24 de Setembro de 2003, o total de entradas no catálogo de genes humanos e de doenças genéticas de Victor McKusick (OMIM, “Online Mendelian Inheritance in Man”, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>) era de 14768, das quais 13844 de natureza autossómica, 821 ligadas ao cromossoma X, 43 ligadas ao cromossoma Y e 60 mitocondriais. O total de genes mapeados em cromossomas humanos, era de 8783, com um número máximo de 835 *loci* para o cromossoma 1 e um mínimo de 35 *loci* para o cromossoma Y.

letra) e, finalmente, espaços do dicionário para os quais se presume que haverá uma palavra para o ocupar embora não seja conhecida!

Por outro lado, o Genoma Humano não é património de um único homem. O total da informação genética da espécie humana encontra-se dispersa por múltiplos seres humanos, havendo uma grande parte que se repete em cada homem. Há mesmo uma parte em tudo idêntica a sequências que se encontram em outras espécies. Assim, o programa do Genoma Humano optou por fazer a sequenciação a partir de um “pool” de DNA obtido de 30 pessoas de diferentes etnias, numa tarefa que poderá custar algo como três biliões de dólares! Como fases deste processo, salientam-se:

1. o mapeamento cromossómico, ou seja, a identificação de marcadores moleculares que permitem uma localização aproximada e rápida dos genes (estes marcadores são como marcos quilométricos em relação aos quais se referencia um acidente, sem pormenorizar os metros, ou como as entradas de um dicionário que permitem identificar a página em que está uma palavra antes de a localizar);
2. a divisão dos cromossomas em fragmentos de DNA com extremos comuns;
3. a sequenciação destes fragmentos;
4. a reconstituição da ordem das bases nos cromossomas, recorrendo à sobreposição das regiões comuns dos extremos dos fragmentos;
5. a comparação das sequências entre diversos genes, entre indivíduos ou mesmo entre espécies!

As fases um e dois já foram realizadas. As restantes encontram-se em diversas etapas de concretização para diferentes regiões do genoma, havendo inclusive, alguns cromossomas humanos já integralmente sequenciados.

O anúncio pela Celera Genomics, em 2001, de que atingira a penúltima fase da sequenciação do genoma humano, não explicitou que se tratava do genoma de um único indivíduo, que os pontos quatro e cinco ainda não tinham sido inteiramente cumpridos e que havia o risco de aparecerem hiatos quando a junção dos fragmentos sequenciados fosse feita, como acontecera com a sequenciação de animais com genoma muito menos complexo do que o do homem.

4. PRÉMIOS NOBEL NA ÁREA DA GENÉTICA

Na lista de prémios Nobel atribuídos em Medicina ou Fisiologia, desde 1901 até à actualidade, existe uma percentagem significativa respeitante ao domínio científico da Genética, o que pode ajudar a compreender a importância desta ciência para a Medicina. Na listagem seguinte, estão indicados o ano, os laureados e o âmbito das suas descobertas:

- 2002 – Sidney Brenner, Robert Horovitz e John Sulston pelas suas descobertas sobre a regulação genética da organogénese e da morte celular programada (apoptose);
- 1997 – Stanley B. Prusiner, pela sua descoberta dos príões;
- 1995 – Edward B. Lewis, Christiane Nusslein-Volhard e Eric F. Wieschaus pelas suas descobertas respeitantes ao controlo genético do desenvolvimento embrionário precoce;
- 1993 – Richard J. Roberts e Philip A. Sharp, pelas suas descobertas, de forma independente, dos genes “split”;
- 1989 – J. Michael Bishop e Harold F. Varmus, pela descoberta da origem celular dos oncogenes retrovirais;
- 1987 – Susumu Tonegawa, pela sua descoberta do princípio genético que explica a diversidade dos anticorpos;
- 1985 – Michael Brown e Joseph Goldstein, pelas suas descobertas relativas aos receptores celulares na hipercolesterolemia familiar;
- 1983 – Barbara McClintock, pela descoberta dos elementos genéticos móveis;
- 1980 – Baruj Benacerraf, Jean Dausset e George D. Snell, pelas suas descobertas relacionadas com estruturas da superfície celular, geneticamente determinadas, que regulam as reacções imunológicas;
- 1978 – Werner Arber, Daniel Nathans e Hamilton O. Smith, pela descoberta das enzimas de restrição e a sua aplicação a problemas de genética molecular;
- 1975 – David Baltimore, Renato Dulbecco e Howard M. Temin, pelas suas descobertas relativas à interacção entre os vírus tumorais e o material genético da célula;
- 1969 – Max Delbrück, Alfred D. Hershey e Salvador E. Luria pelas suas descobertas respeitantes aos mecanismos de replicação e à estrutura genética dos vírus;

- 1968 – Robert W. Holley, Hara G. Khorana e Marshal W. Nirenberg, pela sua interpretação do código genético e a sua função na síntese proteica;
- 1965 – François Jacob, André Lwoff e Jacques Monod, pelas suas descobertas relativas ao controlo genético da síntese de enzimas e vírus;
- 1962 – Francis H. C. Crick, James D. Watson e Maurice H. F. Wilkins, pelas suas descobertas relativas à estrutura molecular dos ácidos nucleicos e o seu significado para a transferência de informação no material vivo;
- 1959 – Severo Ochoa e Arthur Kornberg, pela sua descoberta dos mecanismos envolvidos na síntese biológica do ácido ribonucleico (RNA) e do DNA;
- 1958 – George W. Beadle e Edward L. Tatum, pela sua descoberta de que os genes actuam regulando acontecimentos químicos definidos e Joshua Lederberg pela suas descobertas relativas à recombinação genética e à organização do material genético das bactérias;
- 1933 – Thomas H. Morgan, pelas suas descobertas relativas ao papel desempenhado pelos cromossomas na hereditariedade.

Pelos seus reflexos no progresso da Genética refira-se ainda a atribuição, em 1980, do prémio Nobel da Química a F. Sanger e a W. Gilbert, pela descoberta de metodologias para a sequenciação do DNA. Mais recentemente, em 1983, K. Mullis recebeu a mesma distinção, também em Química, pela descoberta da PCR.

CAPÍTULO II

BASES CELULARES E MOLECULARES DA HEREDITARIEDADE

1. CONCEITO DE MOLÉCULA INFORMACIONAL

A transcrição dos primeiros genes, nas fases iniciais do desenvolvimento de um novo ser pluricelular, parece depender de moléculas celulares herdadas com as células germinais, lado a lado com o DNA. Experiências feitas em ovos de rãs, baseadas na transplantação de núcleos, mostraram que se o núcleo do ovo de uma espécie for transplantado para um ovo de outra espécie previamente enucleado, o ovo resultante não apresenta evolução para um ser adulto. Contudo, se a transplantação do núcleo se processar para um ovo enucleado da mesma espécie, é possível o desenvolvimento normal até à forma adulta. Estas experiências parecem demonstrar que o DNA do ovo, para entrar em acção, necessita de moléculas reguladoras localizadas no citoplasma, cuja acção sobre determinadas sequências do DNA vai permitir a sua transcrição. Do que se acaba de descrever, também se infere que, embora o DNA (ou em alternativa o RNA em algumas espécies) seja a molécula informacional por excelência, não pode ser vista de um modo restrito como a única molécula transmissora de informação. O conceito de molécula informacional tem igualmente de contemplar outras moléculas que ocorram nas células germinais de uma forma não ao acaso e que desempenhem funções cruciais no desenvolvimento precoce das espécies em que ocorrem.

O DNA é o suporte informacional da vida mais comumente encontrado. Conjuga em si a capacidade para se replicar e para codificar proteínas.

No entanto, em termos de evolução molecular, o RNA, como molécula informacional, será anterior ao DNA. De facto, para haver continuidade da vida tem de ocorrer duplicação do material genético, o que só é possível por meio de actividade enzimática, condição que pode ser cumprida pelo RNA⁽¹⁾. Posteriormente, o RNA terá mediado a informação para a produção de enzimas proteicas, cada vez mais complexas e com mais potencialidades enzimáticas que o RNA, em virtude das possibilidades de combinação oferecidas pelos vinte aminoácidos, comparativamente com as possibilidades oferecidas pelos quatro nucleótidos. É provável que, em dado momento, se tenha formado uma transcriptase inversa, o que terá permitido a formação de DNA. Produzida a molécula de DNA, a sua maior estabilidade fundamentada na conformação em dupla hélice, terá permitido um armazenamento mais fiel da informação genética e oferecido desse modo mais vantagens biológicas. Estas razões tê-la-ão estabelecido como repósito da informação genética na grande maioria dos seres vivos, já que é através da informação genética transmitida ao longo das gerações e da sua expressão como proteínas que as células exibem as suas características e funções.

1.1. DEMONSTRAÇÃO DA CAPACIDADE INFORMACIONAL DO DNA

A capacidade informacional do DNA foi demonstrada por Griffith em 1928, numa série de experiências de transformação bacteriana, feitas com pneumococos (Fig. II.1). O pneumococo é habitualmente envolvido por uma cápsula viscosa e brilhante, de natureza polissacarídea, que lhe confere patogenicidade – pneumococo S. Os mutantes que não apresentam aquela cápsula não são patogénicos e designam-se por pneumococos R. Nestas experiências verificou-se que os ratinhos injectados com pneumococos S vivos morriam (Fig. II.1-A), comparativamente com os ratinhos injectados com pneumococos S mortos pelo calor (Fig. II.1-B), ou com pneumococos R vivos (Fig. II.1-C) que se mantinham vivos. Contudo, quando os ratinhos eram injectados com uma mistura de pneumococos R vivos e pneumococos S mortos (Fig. II.1-D), verificou-se que morriam e que no sangue dos ratinhos

⁽¹⁾ A molécula de RNA, para além de molécula informacional com capacidade para replicar e para codificar e promover a formação de sequências de aminoácidos, pode ainda provocar “splicing” sobre si próprio e funcionar como suporte estrutural nos ribossomas.

mortos se encontravam pneumococos S vivos. Algum componente dos pneumococos S mortos tinha capacidade para transformar os pneumococos R em formas patogénicas.

Em 1944, Avery *et al.* demonstraram que o DNA encontrado no extracto dos pneumococos S mortos era o componente envolvido na transformação dos pneumococos R em formas patogénicas, por ter a informação genética e a capacidade para transformar os pneumococos R em formas patogénicas. Basearam a demonstração na inactivação diferencial das proteínas por uma protease e do DNA por uma desoxirribonuclease. Quando o DNA era inactivado, não havia transformação patogénica dos pneumococos R em formas patogénicas.

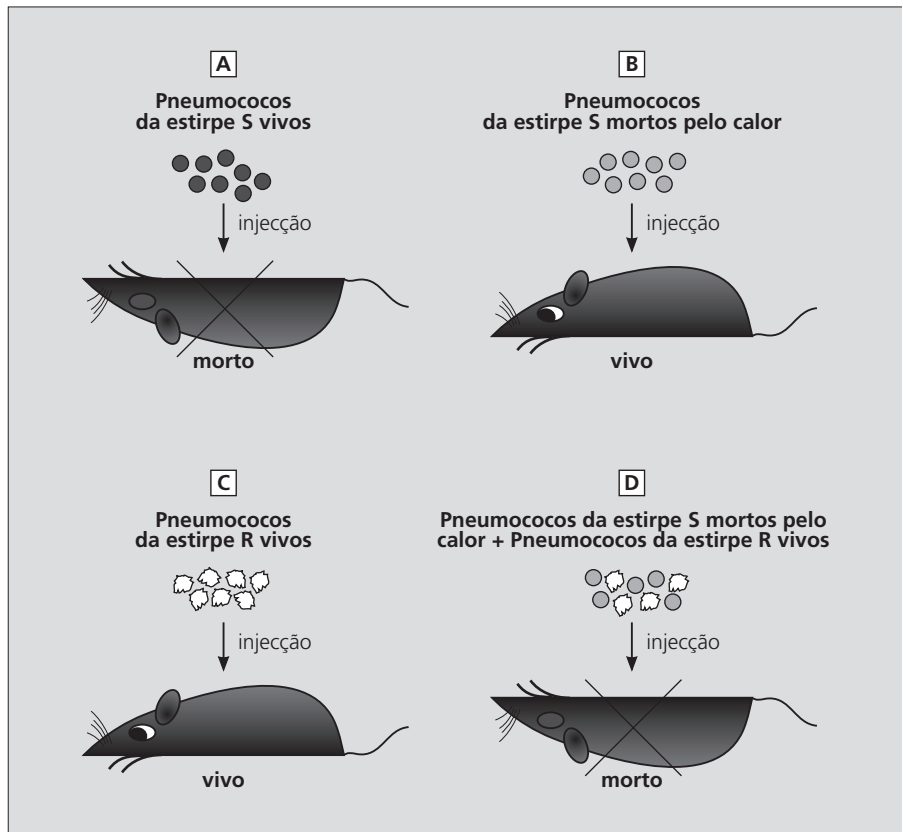


Fig. II.1 – Ilustração das experiências de transformação bacteriana demonstrativas da capacidade informacional do DNA.

As experiências de conjugação bacteriana realizadas com *E. coli* também demonstraram a capacidade informacional do DNA. As células que contêm um plasmídeo designado factor F são designadas como dadoras e as que não contêm o factor F são receptoras. Pela conjugação, o factor F transita da célula dadora para a receptora e esta adquire características das células dadoras. Idêntica demonstração da capacidade informacional do DNA, foi conseguida com a transmissão de genes da resistência bacteriana a um antibiótico ou antibióticos por codificação de enzimas que os inactivam, após conjugação entre bactérias resistentes e não resistentes com passagem de plasmídeos contendo os genes que conferem essa resistência. Os elementos genéticos móveis antes referidos são designados por “transposões” e permitem o rearranjo genético de *loci* não homólogos.

A transdução foi outro mecanismo utilizado para demonstrar a capacidade informacional do DNA. Baseia-se na passagem de informação de um bacteriófago para uma bactéria, no caso presente, da passagem de DNA viral previamente marcado com fósforo radioactivo para a bactéria. Após a transdução e a separação em diferentes fracções do invólucro proteico dos bacteriófagos e das bactérias, foi registada radioactividade na fracção bacteriana, mas não na fracção dos invólucros proteicos. Sabendo-se que o DNA incorpora fósforo (e não as proteínas) e que o DNA é introduzido dentro das células pelos bacteriófagos, a radioactividade presente nas células é devida ao DNA que infectou as células. Subsequentemente, os vírus multiplicaram-se no interior das células e ocorreu destruição das bactérias e libertação de bacteriófagos, o que evidenciou a transmissão da informação pelo DNA.

Nos seres eucariotas, a demonstração de que o DNA era igualmente o material genético informativo, foi inicialmente obtida com experiências de transfecção. Assim, a adição de extractos de DNA a uma cultura celular provocou o aparecimento de células com capacidade para produzir novas proteínas nessa cultura, o que foi entendido como sendo devido à incorporação de alguns fragmentos novos de DNA, originários de outra espécie, no genoma das células em cultura. A microinjecção provou igualmente a capacidade informacional do DNA, quando possibilitou a aquisição de capacidade para produção de um determinada proteína, por células inicialmente deficientes para essa produção, após microinjecção de fragmentos de DNA correspondentes a genes codificadores da proteína em

causa (v.g., fibroblastos com deficiência para a produção de timidinacina, adquirem esta capacidade após transfeção com o fragmento de DNA correspondente ao gene). Para além da aquisição da capacidade em falta, a informação é transmitida às células filhas resultantes da divisão mitótica das células transfectadas.

Na fase actual da evolução dos seres vivos, a forma de vida representada pelo vírus apresenta espécies com um genoma constituído por DNA ou RNA. No próprio genoma humano encontram-se sequências de DNA viral resultantes de infecções ocorridas no passado da evolução do homem.

Há ainda organismos mais pequenos capazes de transmitir informação, como os viróides e os priões. Os viróides são pequenas moléculas de RNA circular, monocatenar, com cerca de 300 nucleótidos.

1.2. PRIÕES COMO MOLÉCULAS INFORMACIONAIS

Em relação aos priões⁽¹⁾, não tem sido possível identificar qualquer sequência de DNA ou de RNA, sendo o seu constituinte principal uma glicoproteína de 28.000 daltons. A forma normal da glicoproteína é expressa na espécie humana e em outras espécies, não sendo conhecida a sua função. É codificada pelo gene *PrP*.

A proteína PrP anormal quando ingerida pelo homem conduz à mutação da proteína PrP expressa no indivíduo na forma normal e provoca doença dos priões. As moléculas PrP normais são assim transformadas em partículas infecciosas. No homem, existe uma forma hereditária rara de doença dos priões. Nestes casos, o gene *PrP* encontra-se mutado.

Como agentes infecciosos, os priões provocam encefalopatia espongiiforme no homem e em outros mamíferos. Observa-se morte dos neurónios, com perda da coordenação motora, demência ou insónia gravíssima. A sobrevivência, após o aparecimento dos sintomas, não se estende habitualmente, para além de ano e meio. A doença de Creutzfeld-Jakob (descrita em associação com a transplantação de córnea e a

⁽¹⁾ Os priões são resistentes a agentes físicos como a radiação penetrante ou a temperatura elevada, bem como às nucleases ou à formamida. São sensíveis a agentes como as proteases, o SDS ou o fenol.

administração de hormona de crescimento obtida de hipófises de cadáveres), o kuru humano (associado a canibalismo de tecido cerebral) e a doença das “vacas loucas” como variante da doença de Creutzfeld-Jakob (comumente associada a consumo de produtos de origem bovina infectados) são doenças provocadas por príões.

2. ESTRUTURA DO DNA

A estrutura do DNA foi descrita em 1953 por Watson e Crick, como resultado da integração de múltiplos conhecimentos que sistematizaram na construção de um modelo que “era demasiado belo para não ser verdade”, como afirmou James Watson no seu livro “A Dupla Hélice”.

O DNA é formado por duas cadeias helicoidais constituídas por nucleótidos que se enrolam à volta de um eixo comum, com orientações opostas (antiparalelas), com as bases nucleotídicas dispostas para o interior da hélice (Fig. II.2). Cada nucleótido é constituído por uma base, uma molécula de desoxirribose e uma molécula de fosfato (Fig. II.3). As bases podem ser púricas, a adenina (A) e a guanina (G), ou pirimídicas, a citosina (C) e a timina (T) (Tabela II.1). Os diferentes nucleótidos usados para a síntese da cadeia de DNA são os ácidos adenílico (a base é a adenina), timidílico (a base é a timina), citidílico (a base é a citosina) e guanílico (a base é a guanina). Ao longo das cadeias de DNA distribuem-se as sequências de bases correspondentes aos cerca de 30.000 a 40.000 genes codificadores da informação hereditária que se calcula que sejam utilizados pela espécie humana durante a ontogénese de cada indivíduo.

Tabela II.1. Bases e nucleótidos usados para a síntese do DNA e do RNA

BASES		BASES			
		PURINAS		PIRIMIDINAS	
		ADENINA	GUANINA	CITOSINA	TIMINA/URACILO (RNA)
Nucleósidos	RNA	Adenosina	Guanosina	Citidina	Uridina
	DNA	Desoxiadenosina	Desoxiguanosina	Desoxicitidina	Desoxitimidina
Nucleótidos	RNA	Adenilato	Guanilato	Citidilato	Uridilato
	DNA	Desoxiadenilato	Desoxiguanilato	Desoxicitidilato	Timidilato



Fig. II.2 – Dupla hélice da cadeia de DNA.

O esqueleto de cada hélice é formado pelas ligações longitudinais entre o açúcar de um nucleótido e o fosfato do nucleótido seguinte, através dos átomos de carbono 5' e 3' da molécula de desoxirribose (Fig. II.3). Os nucleótidos têm polaridade, o que é indicado, para cada cadeia, pela notação 5'→3'.

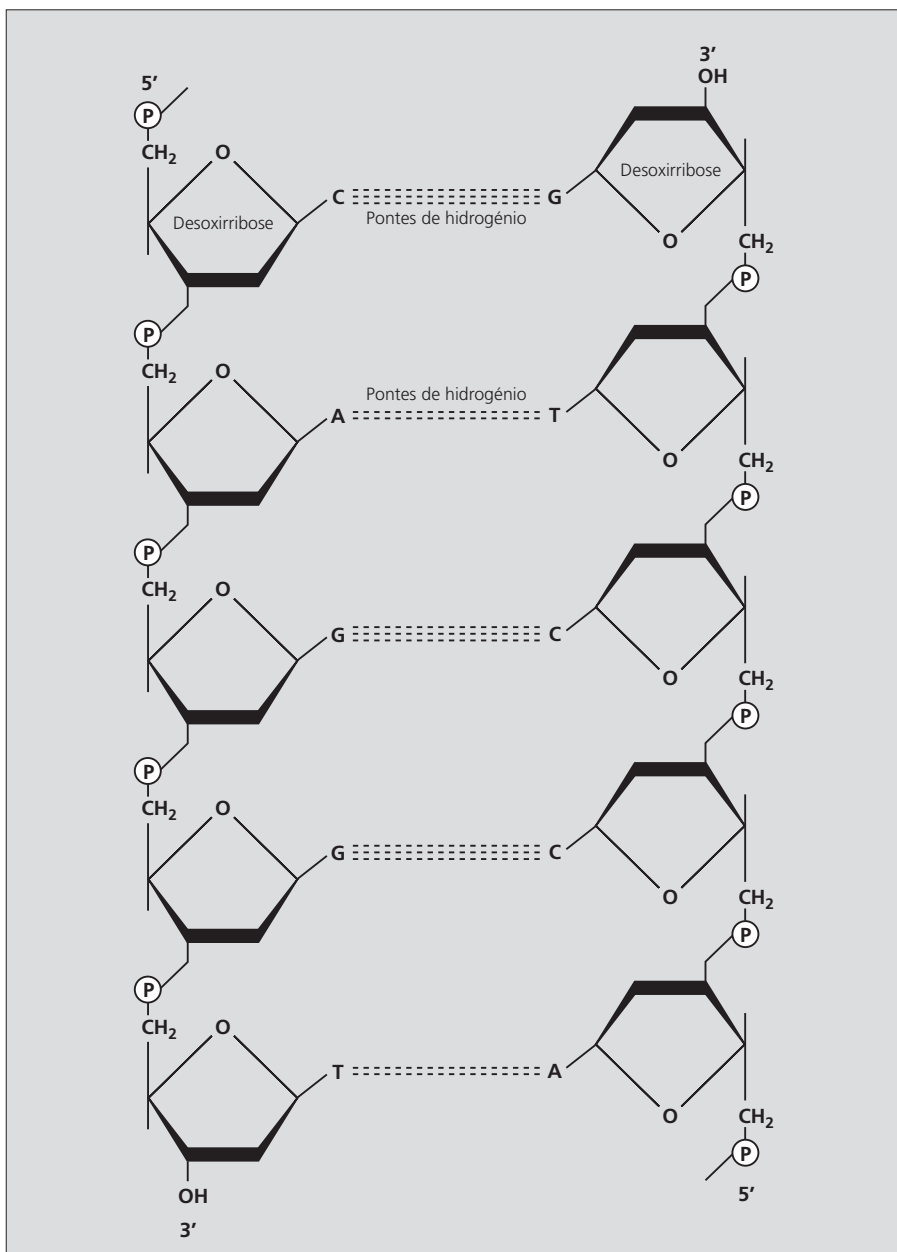


Fig. II.3 – Estrutura do DNA. As duas cadeias de DNA estão dispostas em sentido oposto: a cadeia “sense” na direcção 5'→3' e a cadeia “antisense” na direcção 3'→5'. A “espinha dorsal” do DNA é constituída por duas cadeias de moléculas de desoxirribose e fosfato. À desoxirribose ligam-se as bases nucleotídicas adenina (A), timina (T), citosina (C) e guanina (G). O emparelhamento das bases ocorre entre A-T e C-G. Entre A e T estabelecem-se duas pontes de hidrogénio e entre C e G estabelecem-se três pontes de hidrogénio.

As bases de uma hélice emparelham de modo complementar com as bases da outra hélice, de modo que em frente a uma adenina fica sempre uma timina e em frente a uma citosina fica sempre uma guanina, ligadas por pontes de hidrogénio, sendo duas entre A e T e três entre C e G (Fig. II.3). As pontes de hidrogénio constituem as principais forças de ligação das duas cadeias de DNA de uma dupla hélice. Os fragmentos da dupla hélice que contêm uma maior quantidade de pares de bases G-C são mais estáveis do que os fragmentos em que predominam os pares de bases A-T.

Numa cadeia de DNA, o número de bases A e T é igual, bem como o número de bases C e G. No entanto, a proporção de pares AT e CG é variável para espécies diferentes. Na espécie humana, o valor médio é de 39%, para o par CG.

As ligações de hidrogénio estabelecidas entre as bases do DNA podem ser destruídas (desnaturação do DNA). O aquecimento do DNA, a temperaturas da ordem dos 95° centígrados, conduz à desnaturação. A desnaturação verifica-se também em meio com pH bastante ácido (pH<3) ou bastante alcalino (pH>10). Após desnaturação por elevação da temperatura, o abaixamento da temperatura (para valores da ordem de 50-60° centígrados) permite que as duas cadeias estabeleçam de novo pontes de hidrogénio de um modo complementar, entre as mesmas bases. O restabelecimento das pontes de hidrogénio após desnaturação verifica-se também para cadeias curtas (com cerca de 15 bp).

Os conhecimentos relativos à desnaturação e à renaturação do DNA têm permitido desenvolver diversos tipos de aplicações baseadas na hibridação entre cadeias monocatenares complementares de DNA. A detecção de RFLPs, a hibridação *in situ* e a PCR são as metodologias mais visíveis como aplicações.

Na célula viva, a dupla hélice de DNA, na forma solúvel, enrola-se habitualmente para a direita, numa forma designada por DNA-B. Contudo, em condições experimentais particulares, nomeadamente na presença de elevadas concentrações de sais, a dupla hélice de DNA pode ocorrer com enrolamento para a esquerda, na forma designada por DNA-Z. Esta forma de DNA parece também ocorrer em condições de concentração normal de sais, quando os resíduos citosina se encontram metilados em regiões ricas em CpG.

As moléculas de DNA são muito pouco espessas, com cerca de 20 Angstroms. Em comparação, são muito longas: o cromossoma gigante da *Drosophila melanogaster* chega a ter 2,1 cm e, no seu conjunto, o total do DNA de uma célula humana diplóide mede 2×99 cm de comprimento. As moléculas longas e delgadas do DNA podem-se apresentar com configuração linear, circular ou em superenrolamento. Nesta última forma, a dupla hélice sofre um segundo enrolamento.

Durante um ciclo celular, desde o início da profase até à metafase, as moléculas de DNA sofrem condensações sucessivas dentro do núcleo das células. Este processo ocorre de um modo ordenado e funcional, participando nele as proteínas histónicas e algumas das proteínas não histónicas, como a nucleoplasmina.

As proteínas histónicas são cinco (H_1 , H_{2A} , H_{2B} , H_3 e H_4). As proteínas histónicas e múltiplas proteínas não histónicas, das quais a polimerase do RNA é uma das mais importantes, encontram-se associadas ao DNA. Algum RNA também se encontra associado ao DNA. Neste conjunto, designado por cromatina, o DNA representa sensivelmente um terço da massa total.

A associação do DNA com as histonas é feita em unidades designadas por nucleossomas constituídos por 146 bp enroladas no exterior de um octâmero formado por duas histonas de cada tipo (H_{2A} , H_{2B} , H_3 e H_4), localizando-se a histona H_1 no exterior. Os nucleossomas estão ligados entre si por DNA. A cadeia constituída pelos nucleossomas ligados por DNA, numa segunda fase de condensação da cromatina, forma arranjos helicoidais com seis nucleossomas em cada volta, originando as fibras de 30 nm. Subsequentemente ao arranjo helicoidal, a cromatina sofre nova condensação, por novo enrolamento, atingindo o DNA o seu máximo de condensação nos cromossomas metafásicos (cromossomas, ou seja, corpos que coram). O grau de compactação do DNA linear, devido à formação dos nucleossomas é de seis vezes. Com a formação das fibras de 30 nm, a compactação é de 36 vezes. A compactação atinge um grau superior a 100.000 vezes nos cromossomas metafásicos.

Num núcleo interfásico, há zonas com um nível elevado de condensação da cromatina. A cromatina com estas características designa-se por heterocromatina. Na maior parte do núcleo, a cromatina apresenta-se pouco condensada, designando-se por eucromatina. É nas regiões de eucromatina que se localiza a generalidade dos genes acessíveis à transcrição.

3. GENES E GENOMA

O genoma de um organismo ou vírus diz respeito à totalidade do seu complemento genético. Nos vírus e nos organismos unicelulares o genoma corresponde ao total de sequências nucleotídicas presentes, enquanto que nos organismos pluricelulares, o genoma diz respeito ao total de sequências nucleotídicas presentes numa das células nucleadas do organismo.

Há genomas constituídos por um número reduzido de nucleótidos como o genoma de *E. coli* com $4,64 \times 10^6$ bp, em comparação com o genoma diplóide humano com cerca de 6×10^9 bp. Contudo, o número de pares de bases de um organismo vivo não se articula directamente com a sua complexidade e/ou tamanho, sendo exemplo desta condição o caso das tulipas que transportam no genoma de cada célula cerca de dez vezes mais DNA do que as células humanas, à semelhança, aliás, do que se observa em muitas outras espécies vegetais (v.g., a *Fritillaria assyriaca* transporta um genoma com 120.000 Mb).

O genoma humano tem uma componente nuclear e uma componente mitocondrial. O genoma nuclear encontra-se nos 23 pares de cromossomas presentes no ovo ou zigoto. O genoma mitocondrial encontra-se nas mitocôndrias do ovo. Cada célula nucleada do corpo humano (cerca de 10^{14} células num indivíduo adulto) possui a totalidade do genoma humano.

O genoma haplóide humano presente nos gâmetas é constituído por cerca de 3×10^9 bp. Sendo o homem um ser diplóide, o número de pares de bases é de $2 \times 3 \times 10^9$. Uma parte do genoma diz respeito aos cerca de 30.000 a 40.000 genes da espécie humana.

Em média, um gene é constituído por 1×10^4 bp. No entanto, há genes que podem ascender a $2,3 \times 10^6$ bp e serem constituídos por mais de 70 exões, como o gene da distrofina. Realce-se que o seu RNAm, com 14 kb, resulta da transcrição de menos de 1% do total do gene. No extremo oposto, encontram-se genes de reduzidas dimensões como o gene *SRY*, com 700 bp e apresentando apenas um único exão na sua constituição. Os genes dos seres vivos que se dividem e crescem muito rapidamente, como as leveduras e as eubactérias, perderam os intrões, que se mantêm nos genes ancestrais.

Um gene define-se como uma sequência da cadeia nucleotídica de DNA portadora de informação biológica, com capacidade para ser expressa sob a forma de uma molécula de RNA e/ou proteína. As extensões de DNA que não correspondem a genes são designadas por DNA intergénico, em que abundam sequências repetitivas. Algumas sequências intergénicas estáveis, resultantes de alterações em genes ancestrais por duplicação, perda de grelha de leitura ou de codões "stop", são designadas por pseudogenes. Podem ser transcritas, mas não são traduzidas. Calcula-se que haja cerca de 20.000 pseudogenes na espécie humana, tendo sido identificados 384 no cromossoma 21.

Na espécie humana foram identificados 1077 blocos de genes duplicados, pelo que é de admitir que a perda dos alelos de alguns *loci* não tenha o efeito de anular integralmente a produção de determinada proteína. Este conhecimento deve ser aplicado aos estudos de "knock-out" em experimentação animal e ao cuidado a ter com as ilações decorrentes dos resultados: a anulação dos alelos de um *locus*, pode ser contrariada pela existência de duplicação no genoma.

Num gene há sequências designadas por exões e sequências designadas por intrões (Figs. II.6 e III.3). Os exões são transcritos em RNA heterogéneo (RNAhn) e posteriormente traduzidos em proteínas. O seu tamanho pode variar, sendo o exão 15 do gene *APC* ("adenomatosis polyposis coli"), com 6.500 bp, o mais longo até hoje descrito. Em média, os exões contêm cerca de 50 codões e os intrões são muito mais extensos, com alguns a ultrapassarem as 10 kb. Os intrões são transcritos no RNAhn, mas as suas sequências são posteriormente excisadas durante o "splicing" do RNAhn (Fig. II.6).

No total, apenas cerca de 3% a 5% das sequências de DNA correspondem aos exões e são, por isso, codificadoras. A grande maioria dos genes codifica polipeptídeos. Alguns codificam moléculas de RNA funcionais (v.g., RNA de transferência, RNA ribossómico, pequenas moléculas de RNA nuclear e de RNA citoplasmático e ribozimas).

A sequência de um gene pode conter, em si mesma, regiões que se expressam como genes independentes, de que é exemplo o gene *NF1*. Este gene está localizado no braço longo do cromossoma 17 (17q11.2), sendo constituído por 350 kb de DNA genómico e 59 exões. Pode dar origem à transcrição de duas moléculas de RNA, uma com 11 kb e outra com 13 kb.

Por outro lado, partes da sua sequência correspondem também a três pequenos genes embebidos no intrão 27 β codificados pela sequência “antisense”. Dois dos genes são predominantemente específicos de tecidos linfóides e o outro estará envolvido na mielinização. Outro exemplo é oferecido pelo gene *MTS1*, também conhecido como *CDNK2A*, ao codificar duas proteínas diferentes, em função da sequência promotora utilizada. Um promotor leva à transcrição dos exões 1 α , 2 e 3 que codificam a proteína p16^{INK4A}, enquanto que o outro promotor leva à transcrição dos exões 1 β , 2 e 3 e a uma grelha de leitura diferente que conduzem à produção da proteína p19^{ARF}. Desta forma, são produzidas duas proteínas diferentes, com funções diferentes, embora ambas actuem a nível da regulação do ciclo celular.

4. GENOMA MITOCONDRIAL

O genoma mitocondrial tem origem exclusivamente materna. O seu DNA é uma molécula com 16.569 bp, bicatenar e circular, que não está sujeita a “crossing-over”. A maioria das mitocôndrias contém entre 5 e 10 cópias do cromossoma mitocondrial. O DNA mitocondrial não contém intrões e não está complexado com proteínas histónicas. Quatro dos codões têm especificações diferentes das que se encontram para o código genético do DNA nuclear.

Treze dos 37 genes presentes no DNA mitocondrial codificam enzimas envolvidas na cadeia respiratória necessária para a fosforilação oxidativa e produção de ATP e os restantes codificam RNAt e RNAr.

O DNA mitocondrial sofre mutações ao longo da vida de um indivíduo, nomeadamente sob a forma de deleções e mutações pontuais, que têm sido relacionadas com o processo de envelhecimento e alterações degenerativas.

Para além da identificação de mutações associadas a doenças mitocondriais, o estudo do genoma mitocondrial tem-se ainda revelado de particular interesse no âmbito médico-legal, no esclarecimento de dúvidas de natureza histórica, como a ascendência de determinadas personalidades, e na caracterização da evolução humana.

5. REPLICAÇÃO DO DNA

A replicação do DNA é crucial para a vida ao permitir a duplicação do genoma, com a consequente multiplicação dos organismos unicelulares e o crescimento dos organismos pluricelulares. A complementaridade (A-T, C-G) do emparelhamento das bases do DNA, é o fundamento da capacidade de auto-replicação do DNA.

Para além da complementaridade, a replicação é também semi-conservativa, na medida em que uma das cadeias da dupla hélice serve de modelo para a replicação e fica como constituinte da nova dupla cadeia.

Para que se inicie a replicação do DNA, é necessário que, por acção da enzima helicase, a dupla hélice de DNA seja desenrolada e sejam desfeitas as ligações de hidrogénio que ligam as bases complementares entre as duas cadeias de DNA (Fig. II.4). Este fenómeno inicia-se em regiões ricas em pares de bases A-T que, devido à menor estabilidade das ligações de hidrogénio estabelecidas entre si, facilitam o afastamento das cadeias. O afastamento das cadeias de DNA, num determinado ponto da dupla hélice, dá lugar a uma forquilha de replicação. As forquilhas de replicação formam-se, simultaneamente, em diversos pontos da dupla hélice de DNA, constituindo-se assim múltiplas unidades de replicação independentes. Nas forquilhas de replicação, por acção de uma polimerase designada primase, geram-se pequenas sequências de RNA complementares para sequências das duas cadeias de DNA a serem replicadas. A partir de cada uma destas sequências de RNA, por acção da polimerase I do DNA, inicia-se a replicação das cadeias originais de DNA.

O crescimento das cadeias novas de DNA tem de ocorrer na direcção $5' \rightarrow 3'$, dado que a polimerase do DNA apenas consegue adicionar nucleótidos ao topo da cadeia que contenha um grupo $3'-OH$. Esta exigência permite que a cadeia nova que tem como modelo a cadeia original de DNA com orientação $3' \rightarrow 5'$ seja sintetizada com orientação $5' \rightarrow 3'$, em contínuo (Fig. II.4). Contudo, para a cadeia nova que tem como modelo a cadeia original com orientação $5' \rightarrow 3'$ a síntese com orientação $5' \rightarrow 3'$ só é possível se for iniciada mais tardiamente, em sentido oposto, para sucessivas secções da cadeia modelo (Fig. II.4). Formam-se, deste modo, vários fragmentos que têm a designação de fragmentos de Okazaki. Posteriormente, são unidos uns aos outros para formarem uma cadeia contínua, por acção de uma ligase.

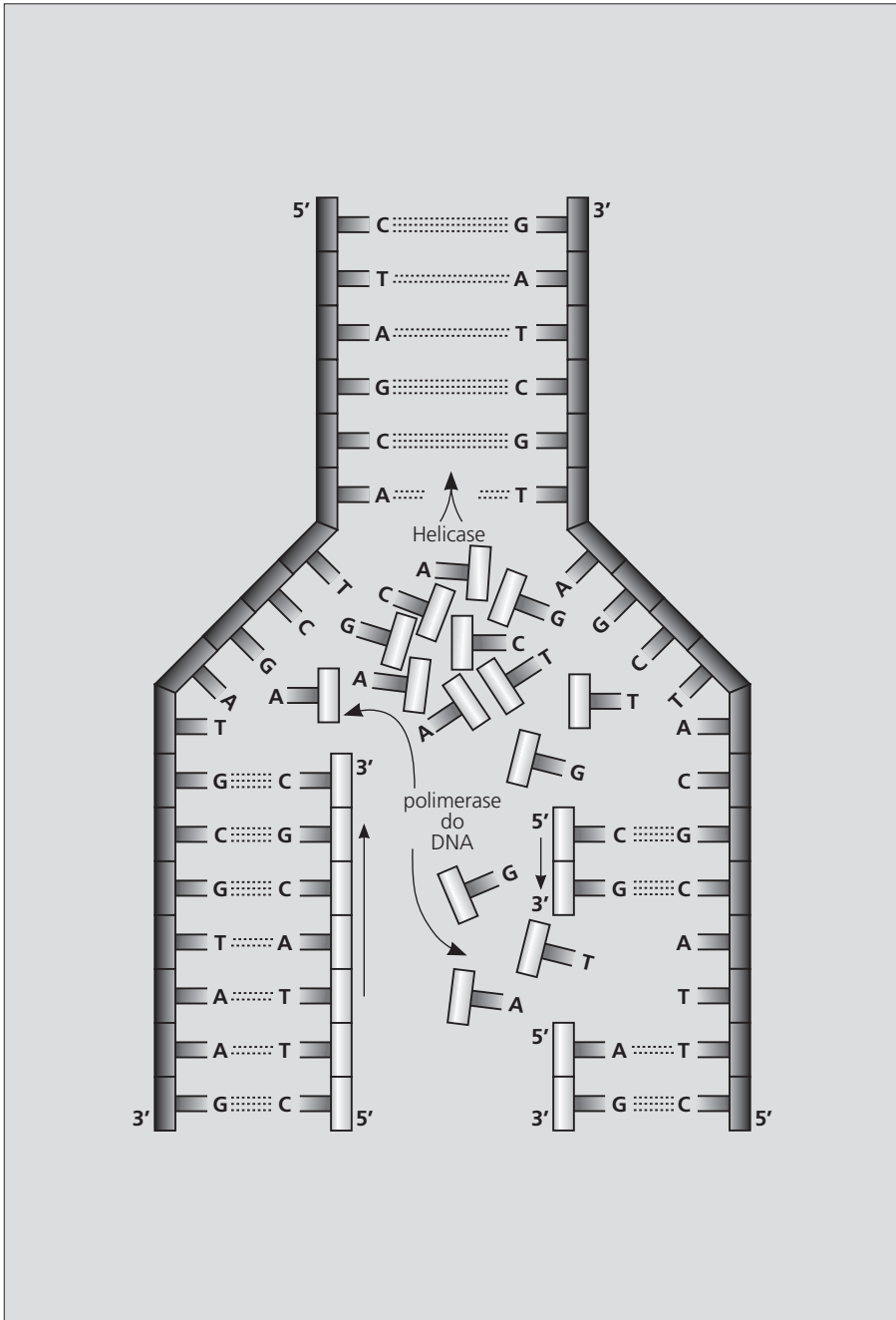


Fig. II.4 – Replicação do DNA. A helicase separa as cadeias complementares de uma dupla cadeia de DNA em fase de replicação. Por acção da polimerase do DNA e por complementaridade, tendo como modelos as cadeias monocatenares originais, formam-se duas novas cadeias de DNA.

6. REPLICAÇÃO DOS VÍRUS DE RNA

No que respeita aos vírus de RNA, a replicação assenta na sua capacidade para codificar a transcriptase inversa. Mediante a acção desta polimerase, forma-se uma cadeia de DNA complementar (cDNA) a partir do seu RNA, razão pela qual este tipo de vírus se designa por retrovírus. Esta cadeia simples de DNA serve de molde para a formação de uma cadeia de DNA complementar, originando-se assim um fragmento bicatenar de DNA, que pode ser integrado no genoma da célula hospedeira. Uma vez integrado, é replicado conjuntamente com o DNA da célula. Quando aquela porção de DNA é transcrita, formam-se RNA viral e proteínas virais que se organizam em novos retrovírus.

7. TRANSCRIÇÃO DO DNA

A transcrição do DNA diz respeito ao processo pelo qual a célula sintetiza RNA a partir do modelo proporcionado pelo DNA. A transcrição do RNA é feita de um modo complementar, como a replicação do DNA. No RNA, em lugar do nucleótido de timina é utilizado o nucleótido de uracilo e a desoxirribose é substituída por ribose.

Há vários tipos de RNA: o RNA ribossómico (RNAr), que representa cerca de 80% do RNA celular, o RNA de transferência (RNAt), que representa 15%, o RNA mensageiro (RNAm), que representa cerca de 5%. Nas células eucariotas, há ainda a produção de pequenas moléculas de RNA nuclear que participam na junção dos exões de RNA, e pequenas moléculas de RNA citoplásmico que participam na sinalização de proteínas sintetizadas. Para a síntese dos diferentes tipos de RNA, a célula utiliza diversas polimerases: a polimerase I para a síntese do RNAr, a polimerase II para o RNAm e a polimerase III para o RNAt, o RNA nuclear e o RNA citoplásmico.

24

A ordem dos codões num gene é conhecida como grelha de leitura ("reading frame"). O fragmento com a ordem de codões codificadores designa-se por cadeia "sense" e a cadeia complementar é a cadeia "antisense" (Fig. II.5). Na cadeia "sense" os codões estão alinhados na direcção 5'→3' correspondente ao código genético. Na cadeia "antisense" os codões estão alinhados na direcção 3'→5'. A parte do gene que codifica a proteína designa-se como "open reading frame" (ORF).

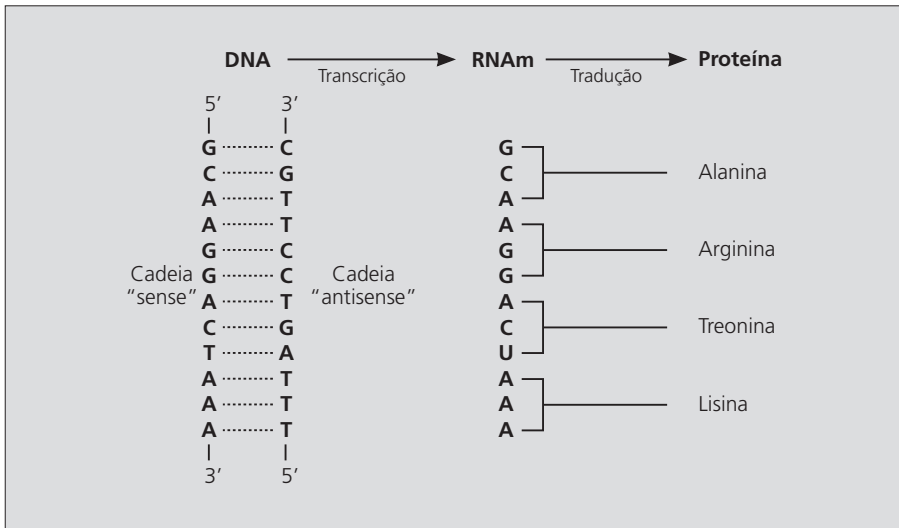


Fig. II.5 – Sequ\u00eancia de acontecimentos que conduzem do DNA \u00e0 prote\u00edna. A dire\u00e7\u00e3o da transcri\u00e7\u00e3o \u00e9 5' \u2192 3'. A cadeia usada como modelo para obten\u00e7\u00e3o do RNA_m \u00e9 a cadeia "antisense". Cada conjunto de tr\u00eas bases constitui um cod\u00e3o. Na sua grande maioria, os cod\u00e3os correspondem a um amino\u00e1cido. A prote\u00edna formada durante a tradu\u00e7\u00e3o tem uma sequ\u00eancia de amino\u00e1cidos que respeita a sequ\u00eancia dos cod\u00e3os do RNA_m.

Para que na sequ\u00eancia de tripletos do RNA_m haja reprodu\u00e7\u00e3o da informa\u00e7\u00e3o gen\u00e9tica presente na cadeia "sense" do gene, \u00e9 necess\u00e1rio que a transcri\u00e7\u00e3o ocorra tomando como modelo a cadeia de DNA "antisense", por adi\u00e7\u00e3o de bases complementares (Fig. II.6). No RNA_m est\u00e3o presentes as sequ\u00eancias correspondentes aos ex\u00f5es e aos intr\u00f5es.

Ainda dentro do n\u00facleo, ocorre o "splicing" do RNA_m, pelo qual s\u00e3o excisados os intr\u00f5es e reorganizado os ex\u00f5es (Fig. II.6). Apenas a partir dos ex\u00f5es, forma-se o RNA mensageiro (RNA_m). A remo\u00e7\u00e3o dos intr\u00f5es durante o "splicing" ocorre por a\u00e7\u00e3o de pequenas ribonucleoprote\u00ednas nucleares (snRNPs ou "snurps") constitu\u00eddas por mol\u00e9culas de RNA (ribozimas) associadas a prote\u00ednas. O processo de "splicing" depende da presen\u00e7a de sequ\u00eancias espec\u00edficas "dadoras" e de sequ\u00eancias "aceitadoras", localizadas nos limites entre os intr\u00f5es e os ex\u00f5es.

O "splicing" \u00e9 a \u00faltima parte do processamento do RNA_m dentro do n\u00facleo, de forma a ser produzido o RNA_m. Previamente, ocorre o "cap" que consiste na adi\u00e7\u00e3o de um res\u00edduo de 7-metilguanossina ligado ao terminal 5' do RNA por uma liga\u00e7\u00e3o fosfato e a adi\u00e7\u00e3o de cerca de 150 a 200 adenosinas "poli(A) tail".

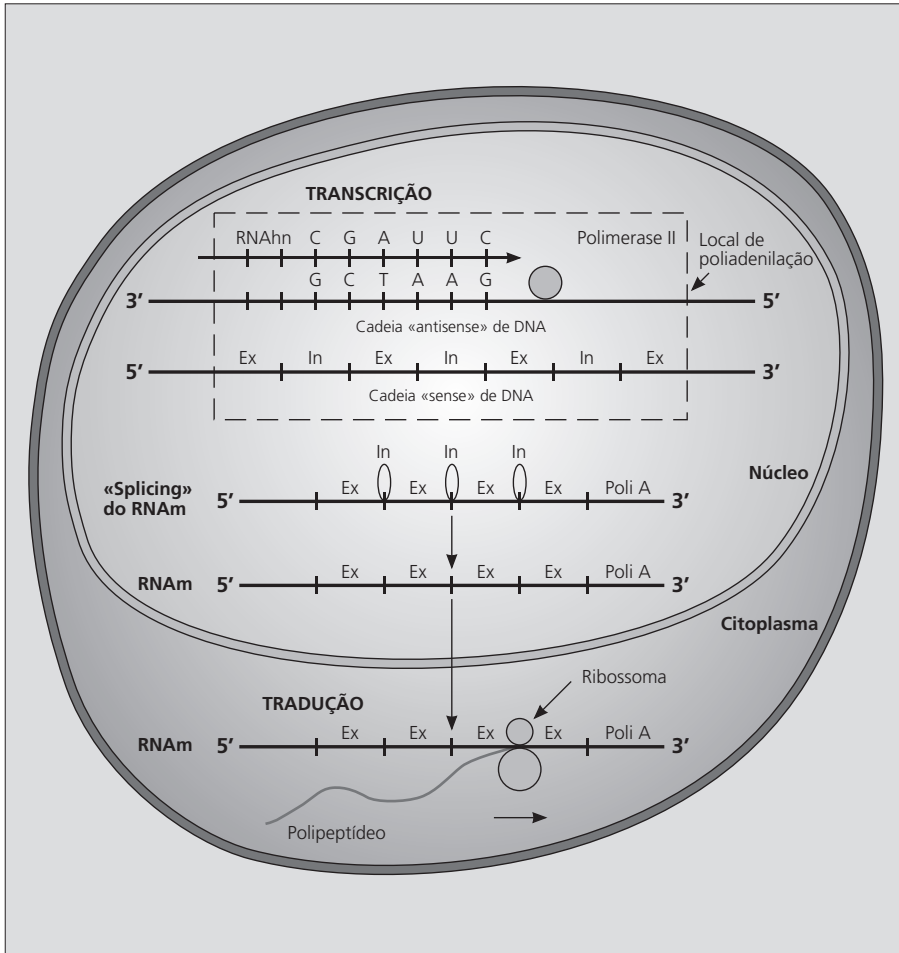


Fig. II.6 – Esquema ilustrativo da transcrição do DNA em RNA, do “splicing” do RNAhn e da tradução do RNAm em proteína. Ex – exões; In – intrões.

8. TRADUÇÃO DO RNA MENSAGEIRO

O produto final dos genes é constituído pelas proteínas sintetizadas a partir do RNAm, por mecanismos bioquímicos complexos designados por tradução. A tradução do RNAm envolve a acção dos vários RNAs e de dezenas de polipeptídeos no ambiente proporcionado pelos ribossomas.

Cada sequência de três bases do RNAm designa-se por codão. Assim, havendo quatro bases disponíveis, podem ocorrer sessenta e quatro codões diferentes (4^3). Uma vez que na síntese das proteínas estão envolvidos apenas 20 aminoácidos, há aminoácidos que são codificados por mais do que um codão, dando assim origem a um código “degenerado”. De facto, há 61 codões que especificam para aminoácidos e três (TGA, TAG e TAA) que determinam a paragem da síntese da cadeia polipeptídica (codões “stop”) (Fig. II.7). Contudo, essa degenerescência acarreta vantagens biológicas, pois minimiza o efeito deletério das mutações e permite variar a composição das bases do DNA, dentro de uma gama alargada, sem alterar a sequência das proteínas por ele codificadas.

O código genético constituído pelos tripletos de nucleótidos que determinam cada um dos aminoácidos é quase universal, no sentido de que os mesmos codões especificam os mesmos aminoácidos em todos os organismos vivos. Apenas a nível mitocondrial, há quatro codões que são interpretados de modo diferente do código genético nuclear (AGA e AGG que são intepretados na mitocôndria como codão “stop” em vez de especificarem para arginina, AUA como codão para metionina em vez de isoleucina e UGA como codão para triptofano em vez de codão “stop”). Também há algumas diferenças no código genético de algumas espécies que se ramificaram muito precocemente na evolução dos eucariotas, como os ciliados.

		SEGUNDA BASE				
		U	C	A	G	
PRIMEIRA BASE	U	Fenilalanina Fenilalanina Leucina Leucina	Serina Serina Serina Serina	Tirosina Tirosina Codão “stop” Codão “stop”	Cisteína Cisteína Codão “stop” Triptofano	TERCEIRA BASE
	C	Leucina Leucina Leucina Leucina	Prolina Prolina Prolina Prolina	Histidina Histidina Glutamina Glutamina	Arginina Arginina Arginina Arginina	
	A	Isoleucina Isoleucina Isoleucina Metionina	Treonina Treonina Treonina Treonina	Asparagina Asparagina Lisina Lisina	Serina Serina Arginina Arginina	
	G	Valina Valina Valina Valina	Alanina Alanina Alanina Alanina	Ac. aspártico Ac. aspártico Ac. glutâmico Ac. glutâmico	Glicina Glicina Glicina Glicina	

Fig. II.7 – Codões de RNA e sua correspondência em termos de aminoácidos. Note-se a “degenerescência” do código genético.

Ao nível dos ribossomas, a cada triplete de bases do RNAm constituindo um codão, vai-se ligar, por complementaridade, o anticodão — o triplete de um RNAt — que, por sua vez, transporta um aminoácido determinado. Devido à complementaridade das bases na ligação entre o codão e o anticodão, a sequência dos aminoácidos, que se vão unindo por ligações peptídicas para formar o polipéptido, traduz a sequência inicialmente codificada pelos codões da sequência “sense” do gene (Fig. II.5). A ordem dos aminoácidos numa proteína é responsável pela sua estrutura tridimensional e pela sua actividade bioquímica.

Pelas razões anteriormente expostas, haverá cerca de 100.000 a 150.000 proteínas diferentes, apesar de se calcular que o número de genes na espécie humana seja da ordem dos 30.000 a 40.000.

É pela acção das proteínas, pela interacção entre estas e ainda pela interacção entre as proteínas e o meio ambiente que se estabelece a “linguagem da vida”.

CAPÍTULO III

REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÉNICA

1. INTRODUÇÃO

A regulação da expressão génica ocorre no contexto de uma rede complexa de interacções génicas, de interacções entre os genes e o meio e de efeitos pleiotrópicos. Por sua vez, um mesmo resultado funcional pode ser originado por agentes diferentes mas igualmente envolvidos na rede de interacções e uma mesma proteína pode ter diversas funções (v.g., a polimerase do DNA, pode funcionar como polimerase, mas também como exonuclease 3'-5' ("revisor de provas") ou como ligase). Um gene pode originar mais do que um RNAm e, conseqüentemente, mais do que uma proteína.

Como exemplo de interacção génica refira-se o efeito modificador sobre a penetrância do gene *BRCA1* mutado quando determinado alelo raro do locus *HRAS1* está presente num indivíduo, acarretando um aumento de risco para cancro do ovário 2,1 vezes superior ao de portadores da mutação e de alelos comuns para aquele locus.

A penetrância de uma mutação pode, ela própria, ser modificada, como ocorre com o aumento do número de unidades repetitivas CAG localizadas no exão 1 do gene que codifica o receptor de androgéneos ao provocar uma diminuição da resposta aos androgéneos. Nas mulheres com um alelo que contenha, pelo menos, 28, 29 ou 30 unidades repetitivas CAG no gene do receptor dos androgéneos e mutações em *BRCA1*, o cancro da mama manifesta-se mais precocemente, respectivamente, 0,8, 1,8 e 6,3 anos, em comparação com as mulheres com alelos com tamanho normal. Este efeito

parece dever-se ao facto de a proteína BRCA1 interagir fisicamente e de ser um co-activador do promotor do gene do receptor para androgéneos.

Por outro lado, a “normalidade” da expressão génica não pode ser olhada de uma forma absoluta e linear. Devem ser consideradas nesta avaliação as variáveis relativas à quantidade, à qualidade, ao tempo de ocorrência (o momento) e ao lugar.

No que respeita à quantidade, é aparente que uma célula em que um gene se apresente com um número de cópias superior ao normal (v.g., por pressão de selecção ou por erro na disjunção durante a divisão mitótica), passa a codificar um maior número de cópias de RNAm e, subsequentemente, um excesso de proteína que pode afectar o equilíbrio funcional e conduzir a comportamentos celulares anormais. Uma redução do número de cópias ou a ausência de qualquer cópia do gene pode igualmente conduzir a anomalias a nível celular por redução ou falta do produto codificado. Estas condições resultam do efeito de dosagem génica. São exemplos de alterações que levam a aumento do efeito de dosagem génica, as trissomias, a amplificação génica, ou as translocações em que um gene passa a ficar sob a influência de uma região reguladora muito activa. As monossomias ou as deleções génicas são exemplos de alterações que conduzem a redução do efeito de dosagem génica.

A qualidade do produto codificado por um gene, pode ser modificada de uma forma fisiológica por “splicing” alternativo, ou por uma mutação que não afecte a viabilidade da célula nem a transcrição do gene em causa.

A variável tempo é aparente na expressão sequencial, ao longo da evolução ontogenética, de diversos genes com funções idênticas, que estão activos em determinadas fases e quiescentes noutras fases. Como exemplo, refira-se a expressão sequencial dos genes das hemoglobinas.

Para ilustrar a variável lugar sejam lembradas as experiências que demonstraram a regressão do fenótipo tumorigénico observada quando células de teratocarcinoma são inseridas no ambiente de um blastocisto, dependendo a reversão do fenótipo tumorigénico do lugar em que são inseridas, para além da quantidade de células transferidas.

No âmbito patológico, o desenvolvimento da generalidade das neoplasias e de um número considerável de doenças não neoplásicas está associado a alterações da expressão génica.

De uma forma geral, a regulação da expressão génica ocorre a diversos níveis: DNA, transcrição em RNA, processamento do RNA, tradução e pós-tradução (Fig. III.1).

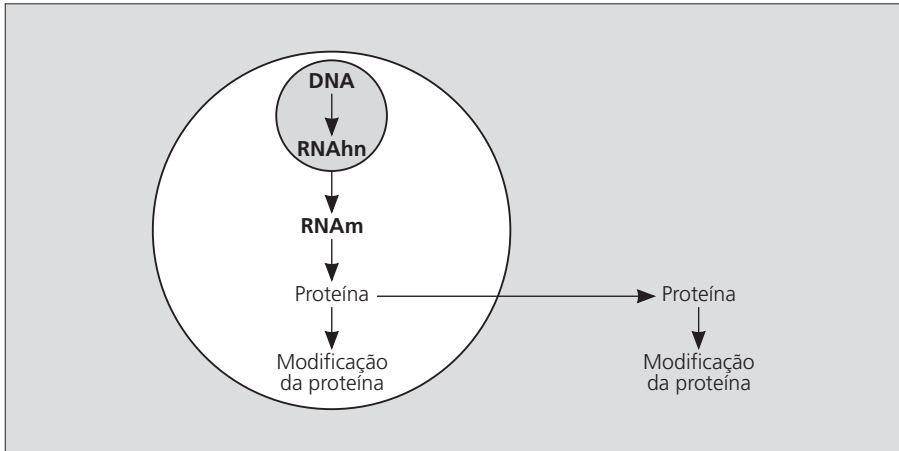


Fig. III.1 – Níveis de regulação da expressão gênica, em termos de localização nos compartimentos intracelulares ou no meio extracelular.

2. REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA A NÍVEL DA REPLICAÇÃO DO DNA

Entre os factores que influenciam a expressão gênica a nível do DNA (Fig. III.2), incluem-se os genes reguladores e os factores que interferem no início da replicação do DNA como as proteínas histónicas e as proteínas não histónicas, bem como as primases, as enzimas iniciadoras da replicação e a polimerase do DNA, de entre as mais de vinte proteínas diferentes que intervêm de um modo coordenado na replicação.

Por vezes, ocorre um aumento do número de cópias de um determinado gene, tendo por base a amplificação gênica, o que se traduz em aumento significativo da expressão. A redução da expressão gênica também se pode observar, quando há perda de um alelo ou dos dois alelos presentes num *locus*. Os rearranjos do DNA também podem intervir na regulação da expressão gênica, seja de modo quantitativo, seja de modo qualitativo.

A regulação da replicação articula-se com o desenvolvimento do ciclo celular. Pode também conduzir à paragem do processo de replicação quando estiverem presentes agressões do DNA que sejam passíveis de reparação. A proteína TP53 como “vigilante do genoma” tem um papel crucial nesta “decisão”. Se estiver alterada a sua função, a paragem da replicação pode

não ocorrer e as cadeias de DNA a distribuir pelas células filhas reproduzem alterações da sequência do DNA que podem originar perturbações da regulação da proliferação celular.

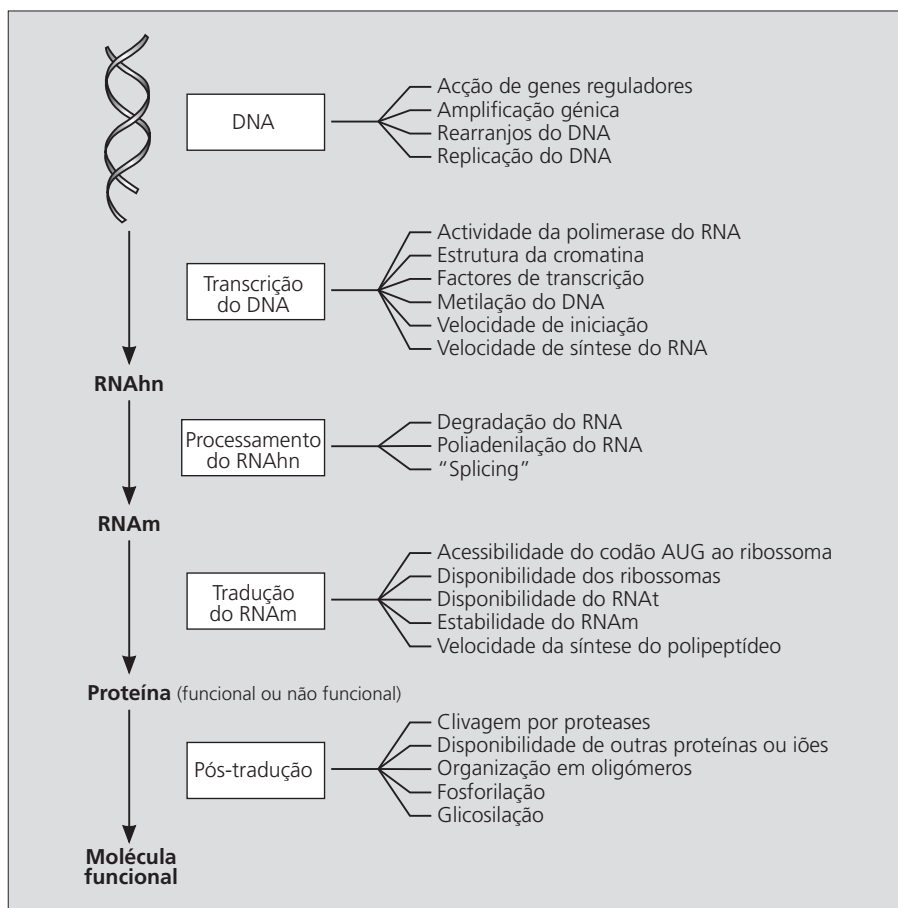


Fig. III.2 – Níveis e mecanismos de regulação da expressão gênica.

3. REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA A NÍVEL DA TRANSCRIÇÃO

Os mecanismos subjacentes à conversão de um gene quiescente num *locus* transcrito activamente, constituem um problema central da biologia molecular dos seres eucariotas superiores, uma vez que a transcrição é o nível

mais importante para a regulação da expressão génica. Entre os factores que influenciam a transcrição (Fig. III.2) contam-se a actividade da polimerase do RNA, a estrutura da cromatina, os factores de transcrição, a metilação do DNA, a velocidade de iniciação e a velocidade de síntese do RNA. A nível da cromatina, verificam-se modificações da sua sensibilidade às nucleases, em regiões próximas ou nos locais em que se inicia a transcrição activa de genes.

A regulação da transcrição de um determinado gene, nos seres eucariotas superiores, envolve sequências promotoras e sequências intensificadoras (Fig. III.3). A sequência promotora está localizada imediatamente antes do ponto em que se inicia a transcrição. A sequência intensificadora pode-se localizar antes da sequência promotora à distância de algumas quilobases (2kb ou mais), a seguir ao gene (no sentido em que se processa a transcrição), interposta no próprio gene ou ainda na cadeia de DNA complementar do gene em causa.

Um promotor típico apresenta, numa zona próxima da sequência a ser transcrita, uma região rica em bases adenina e timina, a sequência TATAAT, ("TATA box"), cuja função é determinar o local preciso de início da transcrição e a cadeia que serve de modelo, pela ligação nessa região da polimerase do RNA (Fig. III.3). Outra região do promotor, um pouco mais afastada do início da transcrição, apresenta um conjunto de sequências designadas por elementos promotores de montante (UPEs, "upstream promotor elements"), em que se encontram sequências de bases características, como CAAT e outras. A função dos UPEs é controlar a velocidade de transcrição, regulando a frequência da sua iniciação. A força do promotor da transcrição é determinada pelo número e pelo tipo de UPEs.

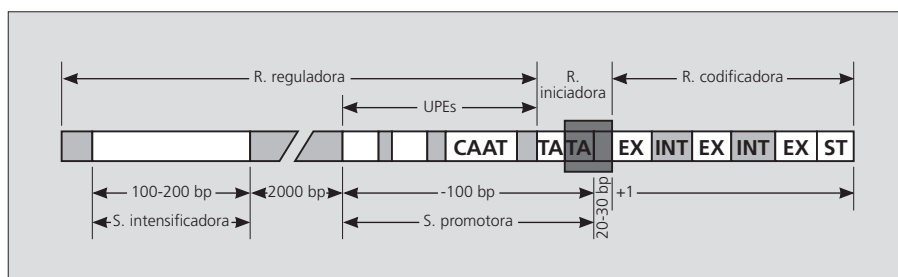


Fig. III.3 – Gene e estruturas associadas à transcrição. O quadrado escuro assinala o local de ligação da polimerase II do RNA. Na região reguladora, as zonas ponteadas dizem respeito a sequências que não se relacionam com a expressão do gene. UPEs – elementos promotores de montante; bp – pares de bases; EX – exões; INT – intrões; ST – sequência terminal. A extensão dos elementos representados não obedece a escala.

A sequência intensificadora da transcrição aumenta a velocidade de transcrição, controlada de um modo basal pela sequência promotora, aumentando o número de moléculas de polimerase do RNA que se movem ao longo do gene, promovendo a sua transcrição.

Há dois tipos de sequências intensificadoras: as que respondem a alterações do meio ambiente (induzíveis) e as que são activadas apenas em momentos específicos durante o desenvolvimento do organismo, ou somente em tecidos específicos (intensificadores específicos de tecido ou do período de desenvolvimento). De entre os factores capazes de actuar sobre os intensificadores induzíveis, destacam-se os factores de crescimento e as hormonas esteróides. O gene do interferão β e o oncogene *FOS* são alguns exemplos de genes com intensificadores induzíveis associados. De entre as sequências intensificadoras específicas para tecidos e dependentes do período de desenvolvimento, a melhor caracterizada está associada aos genes das imunoglobulinas.

A especificidade dos intensificadores está relacionada com a disponibilidade, no local e no tempo, de determinadas proteínas, designadas factores de transcrição. Os factores de transcrição também actuam sobre as sequências promotoras. Esta acção dos factores de transcrição sobre as sequências promotora e intensificadora poderá explicar como as sequências intensificadoras exercem a sua acção sobre a sequência promotora, embora localizadas à distância. Um modelo plausível para este mecanismo sugere que os factores de transcrição, ao ligarem-se às duas sequências promotora e intensificadora, promovem a sua aproximação mercê da exclusão do DNA interposto, pela formação de uma ansa. A ligação da polimerase do RNA ao promotor é providenciada pela ligação dos factores de transcrição às sequências reguladoras do gene, não se verificando na ausência desses factores. Por acção dos factores de transcrição tem lugar o desenrolamento local da cadeia de DNA, o que torna a cadeia que serve de modelo acessível à transcrição. A transcrição processa-se ao longo do gene, na direcção 3'→5', para os exões e para os intrões, até que a polimerase do RNA encontre a sequência que assinala o fim da transcrição e se dissocia do DNA, com subsequente libertação da cadeia de RNA sintetizada.

A especificidade dos factores de transcrição poderá estar na origem da especificidade de algumas infecções virusais para determinadas células ou

tecidos de uma espécie animal ou para determinada espécie animal, cujos factores de transcrição se liguem aos elementos regulares dos genes virusais, permitindo a sua transcrição.

Há outras sequências de DNA denominadas “silenciadoras”, cuja função é reprimir a transcrição, quando ficam sob a influência de factores específicos, exercendo um controlo negativo da transcrição, o que também constitui um aspecto importante da especificidade tecidual da indução da expressão génica. Aparentemente, os estímulos indutores da transcrição causam a remoção do factor proteico inibidor, permitindo que o factor de transcrição positivo se ligue aos elementos reguladores da transcrição.

3.1. REGULAÇÃO EPIGENÉTICA DA TRANSCRIÇÃO

A metilação das bases citosina e a alteração da estrutura da cromatina constituem outras formas importantes de modificar o DNA e, dessa forma, influenciar a expressão génica de uma forma estável. Estas modificações são de natureza epigenética já que não se baseiam na alteração da sequência do DNA. Mecanismos como a diferenciação celular, a lionização e o “imprinting” são de natureza epigenética. Em relação a alguns genes verifica-se inclusive que o “imprinting” ocorre apenas em algumas fases do desenvolvimento ou apenas em alguns tecidos do organismo, fazendo deste mecanismo uma forma muito fina de regulação da expressão génica.

O grau de metilação das bases citosina (5-metilcitosinas) das regiões promotoras de genes que estão a ser transcritos (loais CpG, em que p significa a ligação fosfodiester 3'-5' entre C e G) influencia a transcrição. A hipometilação corresponde a um estado em que a transcrição é activa, enquanto que a hipermetilação corresponde à inibição da transcrição. A metilação é, assim, um mecanismo epigenético envolvido na diferenciação celular, no controlo da proliferação celular e na transformação neoplásica. Factores ambientais como os folatos, a colina, a metionina e a vitamina B12 promovem a hipermetilação, enquanto que o etanol e os hidrocarbonetos aromáticos promovem a hipometilação.

A metilação das citosinas pode funcionar como um mecanismo mutagénico espontâneo, já que as moléculas de 5-metilcitosina podem desaminar e sofrer mutação para timina. Efectivamente, mais de um terço

de todas as mutações pontuais responsáveis por doenças humanas têm origem na alteração de CpG para TpG.

A metilação das bases citosina poderá interferir ao nível da transcrição na ligação dos factores de transcrição do DNA. Um mesmo gene pode apresentar diferentes níveis de metilação em diferentes células de um ser pluricelular, consoante esse gene esteja ou não a ser transcrito, apresentando hipermetilação nas células cuja diferenciação não implica a sua transcrição.

Logo após a replicação do DNA, o padrão de metilação da nova cadeia é objecto de manutenção cuidada pela célula, dado que não se encontra metilada. Assim, pouco tempo após a replicação, esta cadeia é metilada por acção de uma metiltransferase de manutenção que adiciona os radicais metilo aos locais CpG da cadeia recém-sintetizada correspondentes aos locais metiladas na cadeia de DNA que serviu de modelo à replicação.

Como consequência da regulação epigenética refira-se o que ocorre com o gene *WT1*, que na forma mutada está associado ao tumor de Wilms. Na espécie humana, este gene apresenta uma expressão bi-alélica no rim e uma expressão monoalélica de origem materna no cérebro e na placenta, devido à metilação do outro alelo.

Relativamente à alteração da estrutura da cromatina, deve-se ter presente o efeito da poli-ADP ribosilação das histonas. As proteínas histónicas H1, H2B e lamina B, uma vez ribosiladas, perdem a afinidade para o DNA, devido à carga altamente negativa dos polímeros de ADP-ribose. Assim, este processo pode constituir uma forma relativamente simples de desfazer a ordem mais elevada da organização da cromatina, de modo a facilitar o acesso dos factores de transcrição às sequências reguladoras da expressão génica.

3.2. PROCESSAMENTO DO RNAhn

36

A forma como se opera o processamento do RNAhn também se reflecte na regulação da expressão génica, em relação com a degradação, a poliadenilação e o "splicing" (Fig. III.2). Este processo consiste na introdução de alterações da sequência original dos exões. Desta forma, a célula pode gerar diferentes RNAm a partir de um único gene e, conseqüentemente, produzir diferentes proteínas. O "splicing" alternativo veio demonstrar que o dogma "um gene, uma proteína" não é defensável como verdade absoluta.

Nos actuais cerca de 11.000 RNAm conhecidos, cerca de 2,4% resultam de "splicing" alternativo. No entanto, estudos realizados por alinhamento com ESTs ("expressed sequence tags") sugerem que cerca de 60% dos genes humanos poderão evidenciar "splicing" alternativo, uma das razões para a complexidade da expressão génica no homem.

Entre outros genes em que foi identificado "splicing" alternativo, incluem-se o protooncogene *KIT*, o gene *NF1* (cujas formas mutadas se associam a neurofibromatose), o gene *AT* (cujas formas mutadas originam ataxia telangiectasia quando em homocigotia), o gene *WT1* e o gene *BCLX*. O gene *WT1* tem dois locais de "splicing" alternativo, pelo que pode originar quatro proteínas que diferem pela sua especificidade de ligação ao DNA e pelas funções reguladoras. O protooncogene *BCLX* origina por "splicing" alternativo duas proteínas com propriedades diferentes: *BCLX_L* que mimetiza a proteína *BCL2* e inibe a apoptose e *BCLX_S*, uma variante mais curta que funciona como um inibidor dominante de *BCL2*, induzindo, por isso, a apoptose. A glicosilase do DNA (uracil DNA glicosilase) transita para o núcleo ou para as mitocôndrias em função do "splicing" alternativo.

Ao "splicing" alternativo pode-se associar o recurso pela célula a promotores alternativos, como ocorre com o gene *SF1* (factor esteroideogénico). Deste gene, podem ser codificadas as proteínas SF1 e ELP.

O papel dos intrões não é claro, apesar do seu envolvimento no "splicing" dos exões e na formação de diversos RNAm a partir de um único RNAhn, por "splicing" alternativo. No entanto, para a maioria dos intrões não se tem encontrado qualquer função, tendo sido demonstrado que um gene pode funcionar normalmente após excisão de um intrão. Pequenas inserções ou deleções ocorridas num intrão geralmente não comprometem a função do gene, embora as mutações que atinjam as sequências dos intrões envolvidas no "splicing" tenham repercussões na organização final do RNAm. Há ainda a possibilidade de os intrões serem vestígios de genomas virusais que terão infectado as células, ou de genes antigos actualmente não funcionais.

A expressão génica baseada em vários exões e no "splicing" poderá ser, ainda, uma forma de facilitar a evolução.

4. REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÉNICA A NÍVEL DA TRADUÇÃO

A eficácia da tradução do RNAm é influenciada pela acessibilidade do codão AUG ao ribossoma, a disponibilidade dos ribossomas, a disponibilidade do RNAt, a estabilidade do RNAm e a velocidade da síntese de cada molécula polipeptídica (Fig. III.2). O controlo da expressão génica pela estabilidade do RNAm foi verificado no processo de síntese da tubulina, em que se observou uma diminuição do número de moléculas de RNAm em correlação com um aumento do número de dímeros de tubulina.

A fosforilação da proteína EIF-2, ao traduzir-se na repressão do início da tradução constitui uma das formas de regulação a este nível. Na verdade, na condição fosforilada, não ocorre a ligação de uma molécula de GTP à molécula EIF-2, uma condição necessária para que esta molécula providencie o transporte do RNAt iniciador para a unidade menor do ribossoma. Aliás, o grau de fosforilação das proteínas constitui uma das formas mais comuns de regulação pós-tradução da expressão génica.

5. REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÉNICA A NÍVEL DA PÓS-TRADUÇÃO

A nível da pós-tradução do produto de codificação de um gene, a regulação pode ser operada pela clivagem das proteínas por proteases, pela disponibilidade de outras proteínas ou iões, pela eventual organização em oligómeros, bem como pelo grau de fosforilação ou de glicosilação (Fig. III.2). Na verdade, um polipeptídeo pode não ser funcional na forma em que é produzido a nível ribossómico, como ocorre com o pepsinogénio ou a pró-insulina, sendo necessária a sua clivagem prévia para que a molécula possa actuar. Por outro lado, a clivagem depende de enzimas presentes no ambiente em que se encontra o produto. A modificação da estrutura de um polipeptídeo pode ainda ocorrer por acção de proteases que levem à sua cisão em diferentes locais, de modo a originar moléculas com actividade diferente em função do local em que se opera a cisão. Quando o produto codificado por um gene entra na constituição de moléculas complexas em que os polipeptídeos se associem a iões metálicos, a sua actividade depende da disponibilidade dos iões. É o caso da hemoglobina, em que pode haver

deficiência devida a falta de ferro, para uma capacidade normal de síntese proteica.

A forma como as moléculas se organizam após a tradução também pode influenciar a expressão funcional, sendo necessário conhecer a forma como actuam as proteínas para interpretar os efeitos de alterações observadas a nível génico. O produto codificado por um gene pode actuar de uma forma monomérica ou associar-se a outras moléculas polipeptídicas iguais ou diferentes. Nos caso em que se formam oligómeros, embora haja a produção inicial de um número equivalente de monómeros normais e de monómeros com mutação ainda que não dominante, a capacidade funcional dos oligómeros que incorporam monómeros mutados é afectada, havendo uma perda de função bastante mais acentuada do que a que se observa para idênticas condições de heterozigotia, quando a molécula funcional é um monómero.

Como exemplos de organização dimérica, refira-se a molécula funcional que resulta da expressão do gene *APC*. As proteínas G são exemplos de heterotrímeros (moléculas constituídas por três subunidades diferentes) em cuja constituição entram elementos $G\alpha$ (de um grupo de 16 subunidades α), elementos β (de um grupo de cinco subunidades) e elementos γ (de um grupo de sete subunidades). O colagénio é outro exemplo de um trímero constituído por duas moléculas idênticas codificadas por um gene e uma terceira molécula codificada por outro gene, que se organizaram numa tripla hélice. Como organização funcional em que entram quatro subunidades idênticas (tetrâmeros), refira-se a dos polipeptídeos codificados pelo antioncogene *TP53*.

O grau de fosforilação das proteínas, a nível da serina, da treonina e da tirosina, pode influenciar a sua actividade, como se verifica com a proteína p105RB codificada pelo gene *RB*. Trata-se de uma forma de regulação fina, mediada por um balanço entre a actividade das proteinacinasas (envolvidas na fosforilação) e a actividade das fosfatases (com capacidade para removerem os fosfatos). A fosforilação da proteína inibe a formação de complexos com proteínas específicas, deixando-as livres. Tratando-se da complexação de factores de transcrição como a proteína E2F, a manutenção na forma livre vai possibilitar a sua ligação à região reguladora dos genes alvo e a promoção da sua expressão. Pelo contrário, no estado não fosforilado, observa-se a formação de complexos com a proteína alvo, o que inibe a sua acção.

Também a formação de pontes dissulfeto, a hidroxilação, a metilação, ou a ribosilação das proteínas são formas de modificar a capacidade funcional das proteínas e, conseqüentemente, de regular a expressão gênica.

6. RETORREGULAÇÃO COMO MECANISMO MODELADOR DA EXPRESSÃO GÊNICA

Grande parte do conhecimento que temos da regulação da expressão gênica resulta dos estudos pioneiros de Jacob e Monod, realizados em *E. coli*. O modelo de regulação proposto por estes dois prêmios Nobel foi descrito em 1961. Segundo este modelo, a sequência operadora tem uma localização adjacente aos genes estruturais e controla a sua transcrição. A sequência promotora da transcrição serve para a ligação da polimerase do RNA e conseqüente início da transcrição. Na ausência de substância indutora, por exemplo a lactose para os genes estruturais associados ao seu metabolismo, o gene repressor é transcrito e a proteína repressora resultante da tradução do seu RNAm liga-se à sequência operadora. Esta ligação é de alta especificidade e interfere com a ligação da polimerase do RNA à sequência promotora, originando, como conseqüência, a escassez de moléculas de RNAm transcritas a partir dos genes estruturais. Na presença de indutor no meio de cultura das *E. coli*, forma-se um complexo entre a proteína repressora e o indutor. A ação da proteína repressora sobre a sequência operadora é assim inibida e, nestas condições, a polimerase do RNA liga-se à sequência promotora, com a conseqüente transcrição dos genes estruturais e a síntese de um grande número de moléculas da enzima codificada por estes genes.

A nível humano, são exemplos de retroregulação como mecanismo modelador da expressão gênica:

- a manutenção dos níveis intracelulares de colesterol por retroregulação mediada pelo colesterol livre, através da síntese de receptores das LDLs, bem como da redução da velocidade de síntese de colesterol endógeno "de novo";
- a manutenção dos níveis de insulina por processamento da pró-insulina mediada por uma protease, como resultado da velocidade maior ou menor com que se processa a clivagem da pró-insulina sob a influência da glicémia.

CAPÍTULO IV

DIVERSIDADE HUMANA. MUTAÇÕES. REPARAÇÃO DO DNA

1. DIVERSIDADE HUMANA

A diversidade dos seres vivos não parece assentar apenas no número de genes presentes em cada espécie, ou no aparecimento de novos genes com o emergir de novas espécies. Em particular, o aumento de complexidade de uns seres vivos em relação a outros terá muito a ver com a selecção de formas mais sofisticadas de regulação da expressão génica e com a duplicação de genes já existentes.

Como factores mais significativos da diversidade humana encontram-se as mutações. A recombinação genética que implique genes de diferentes *loci* e a imigração desde que possibilite a adição de novos alelos ao fundo génico original são também causas de diversidade.

A diversidade humana resulta do efeito aditivo dos genes e das suas mutações, da interacção entre as alterações genéticas devidas a mutações, da capacidade de adaptação ao meio (físico e relacional humano) e da selecção decorrente de doenças.

Ao longo do genoma, há regiões com variabilidade maior ou menor em relação a um valor médio, havendo *loci* como os do sistema de histocompatibilidade HLA, em que se observa a mais elevada variabilidade entre os indivíduos.

As variações subjacentes à diversidade podem ser contínuas ou descontínuas. As variações contínuas estão associadas à expressão de vários genes (poligenia) em conjugação com a acção do meio ambiente (v.g., estatura). Nestes casos há adição dos efeitos parcelares de cada gene, sem fenómeno de dominância génica, nem interacção génica. Pelo contrário, as variações descontínuas permitem uma classificação em classes e são de causa monogénica.

Entre os genomas de dois seres humanos, as diferenças são apenas de cerca de 1 bp por cada 1250 bp, o que permite inferir uma elevada identidade genómica.

1.1. BASES GENÉTICAS DA DIVERSIDADE

1.1.1. CONTRIBUTO DOS CROMOSSOMAS

Após ocorrer replicação (na meiose), os cromossomas homólogos de cada par juntam-se e ocorre o "crossing-over", com troca de material entre si, normalmente numa, duas ou três regiões (Fig. IV.1). Em cada meiose humana há cerca de 50 "crossing-overs". Contudo, os locais em que ocorre "crossing-over" não são constantes, pelo que um mesmo par de cromossomas pode originar cromossomas com informação diferente em células diferentes (v.g., um cromossoma 2 herdado do pai, pode ter alguma informação genética diferente em dois gâmetas do mesmo indivíduo).

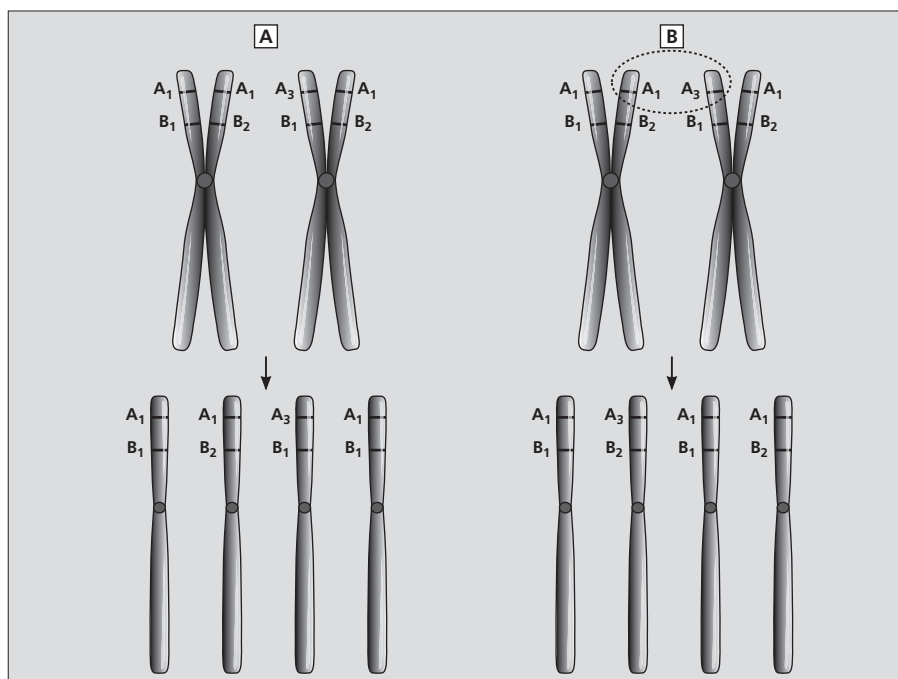


Fig. IV.1 – Demonstração da forma como o "crossing-over" contraria a ligação génica. A – na ausência de "crossing-over", os dois loci são ocupados pelos mesmos alelos no progenitor e nos gâmetas; B – quando ocorre "crossing-over", há recombinação dos alelos, com aparecimento de novas combinações nos gâmetas (a combinação dos alelos A3,B2 não estava presente antes da meiose).

Durante a formação do fuso, na metafase da meiose, os dois cromossomas de cada par de homólogos ligam-se a fibras do fuso: um a fibras de um dos pólos da célula e o outro a fibras do outro pólo da célula. No entanto, não há qualquer selectividade. Assim, o homólogo de origem paterna do par 1 pode ligar-se às fibras de um dos pólos e o homólogo de origem paterna do par 2 pode ligar-se às fibras do outro pólo ou do mesmo. Trata-se de uma distribuição ao acaso que está na base da segregação independente que fundamenta a 2ª lei de Mendel e permite que haja recombinação do complemento cromossómico das células filhas por mistura de cromossomas de origem paterna e materna, com a probabilidade de se formarem 2^{23} (8.388.608) combinações diferentes nos gâmetas. Sendo idêntica a probabilidade de se formar um número igual de gâmetas diferentes no outro membro do casal, o número possível de zigotos diferentes que se podem originar por fecundação de um ovócito por um espermatozóide é de $(2^{23})^2$, ou seja, algo mais do que 70 triliões de possibilidades diferentes. Para comparação das ordens de grandeza envolvidas, refira-se que o número actual de seres humanos é apenas de cerca de 6 biliões!...

À diversidade resultante da segregação independente, junta-se a que advém do “crossing-over” durante a meiose e do polialelismo que se descreve seguidamente. No seu conjunto, considerando apenas um “crossing-over” por cada par de homólogos de cromossomas e que as diferenças entre o conteúdo alélico paterno e materno são da ordem de 10%, chega-se à conclusão de que poderão ser produzidos mais do que 6×10^{43} zigotos diferentes na espécie humana. O número assim obtido é maior do que o número total de seres humanos que terão existido, desde sempre, à face da Terra, o que é demonstrativo da unicidade de cada ser humano, no plano estrito da combinação única de informação genética, a nível nuclear. No entanto, os valores anteriores não contaram com o contributo dos polimorfismos e das mutações.

1.1.2. CONTRIBUTO DO POLIALELISMO

O polialelismo é outra das causas da diversidade. Para cada *locus* de um indivíduo, há dois alelos, ou seja, duas formas alternativas de um gene (com excepção da hemizigotia para o cromossoma X no sexo masculino e da maioria dos genes do cromossoma Y). Contudo, numa população podem existir múltiplos alelos em “competição” por um mesmo *locus*, como ocorre,

por exemplo com os alelos do grupo sanguíneo ABO ou com os genes HLA do sistema major de histocompatibilidade. Em relação ao genes HLA, a grande variabilidade alélica está na base das razões porque é difícil encontrar compatibilidade entre doadores e receptores de órgãos para transplantação (v.g., HLA-A com 266 alelos, HLA-B com 511 alelos, HLA-C com 128 alelos, HLA-DRB com 397 alelos).

As leis de Mendel permitem múltiplas combinações de pares de alelos (genótipos) para um determinado *locus*, em indivíduos diferentes, de acordo com a fórmula $x = [n(n+1)]/2$, em que x é o número de genótipos e n representa o número de alelos alternativos para o *locus* em causa.

Os dois alelos presentes num *locus* podem-se encontrar em homozigotia ou em heterozigotia. Uma medida da variabilidade genética numa população é dada pela frequência de indivíduos heterozigóticos para um determinado *locus*. Quanto maior for a frequência de um único alelo em comparação com os outros alelos que concorrem para um mesmo *locus*, menor a frequência de heterozigotos. Se numa população houver vários alelos para um *locus*, com frequências semelhantes, a frequência de heterozigotos será elevada.

1.1.3. CONTRIBUTO DOS POLIMORFISMOS DE DNA

Quando as formas alternativas de um gene ou de uma sequência intergénica, têm uma frequência igual ou superior a 1% numa população, são designadas como polimorfismos de DNA. Os polimorfismos são considerados variações normais numa população, pelo que nenhuma das formas afecta significativamente o seu portador. No que respeita aos genes, cerca de um terço apresenta sequências polimórficas.

Designam-se como variações raras, as formas alternativas de um gene ou de uma sequência intergénica cuja frequência é inferior a 1%.

Os polimorfismos de DNA são herdados de uma forma mendeliana e são fonte de grande diversidade interindividual. As mutações que ocorrem em DNA intergénico (não codificante), por não estarem habitualmente associadas a pressão de selecção, estão na base de um maior polimorfismo observado nestas regiões do genoma. As sequências de DNA codificadoras em que ocorram mutações sinónimas ou mutações “missense” que não afectem de modo significativo a função da proteína também podem ser mantidas numa população como polimorfismos.

Por vezes, os polimorfismos são tão extensos que se traduzem em diferenças do comprimento dos cromossomas (heteromorfismos).

Os polimorfismos de DNA podem ser RFLPs, VNTRs (“variable number of tandem repeats”) ou SNPs (“single nucleotide polymorphisms”).

Os RFLPs são fragmentos de DNA de diversos tamanhos, observáveis após digestão do DNA por enzimas de restrição (Fig. V.1).

Os VNTRs são polimorfismos de comprimento, que resultam da repetição sequencial de um mesmo conjunto de bases. As sequências de bases que se repetem podem ser minissatélites ou microssatélites (Fig. IV.2). A designação minissatélites é devida à sua localização numa camada de sedimentação de menor densidade, próxima da camada principal de DNA, quando o DNA genómico é sujeito a ultracentrifugação em gradiente de densidade de cloreto de céσιο, após restrição enzimática. Nos minissatélites, as unidades repetitivas têm habitualmente um comprimento entre 9 e 70 bp. Estes polimorfismos evidenciam heterozigotia em cerca de 70% das pessoas.

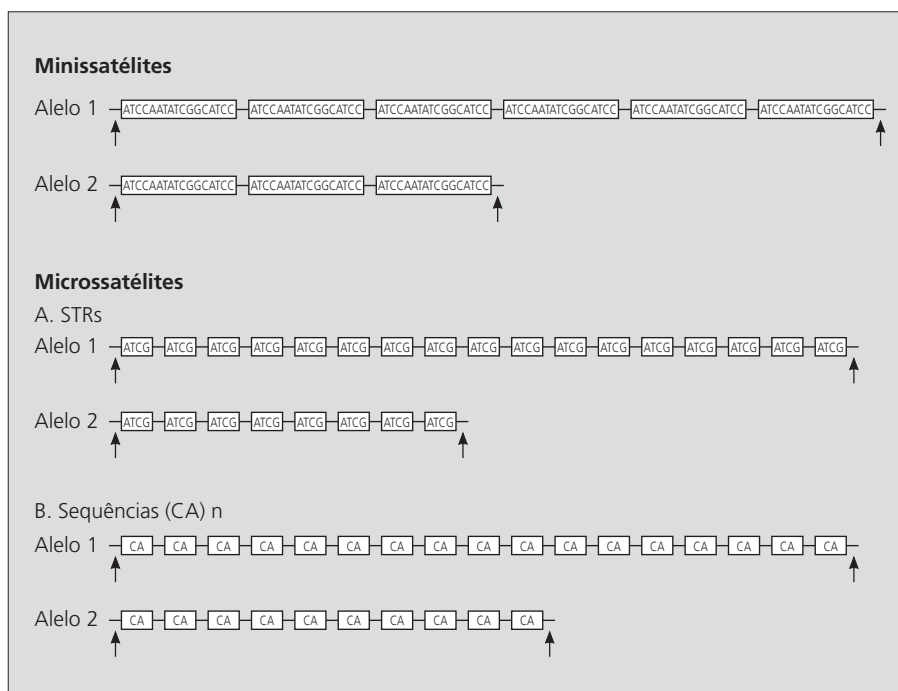


Fig. IV.2 – VNTRs. Esquema demonstrativo da constituição dos minissatélites e dos microssatélites. A seta indica o ponto em que actua a enzima de restrição para detecção dos minissatélites e o local de ligação dos “primers” para detecção dos microssatélites.

Por centrifugação, detecta-se ainda uma camada correspondente a sequências polimórficas designadas microssatélites, em que as unidades repetitivas são constituídas por sequências com 2 a 4 bp. Os microssatélites encontram-se dispersos sobretudo por regiões não codificantes do genoma e são particularmente susceptíveis para erros de replicação. Dentro dos microssatélites, as unidades repetitivas podem ser trinucleotídicas ou tetranucleotídicas, originando extensões de DNA designadas por STRs (“short tandem repeats”), ou serem dinucleotídicas, a maioria das vezes sequências (CA)_n.

As sequências STRs encontram-se distribuídas pelo genoma humano normal em média entre cada 150 a 500 kb. Apresentam elevada variabilidade do número de unidades repetitivas.

As sequências polimórficas (CA)_n resultam da repetição em série de unidades repetitivas dinucleotídicas CA:GT, constituídas por um número variável de unidades (entre 10 a 60 cópias) e que aparecem no genoma entre 30.000 e 50.000 vezes. A variabilidade do número de unidades repetitivas é bastante elevada, encontrando-se diferenças polimórficas em cerca de 70% dos casos, entre cromossomas homólogos.

Os SNPs são polimorfismos que assentam na mutação de um único nucleótido. Para serem considerados como polimorfismos devem ter uma frequência igual ou superior a 1% na população. No genoma humano haverá cerca de 12 a 16 milhões de SNPs. Os SNPs parecem ser responsáveis pela maior parte da variabilidade genética humana interindividual (v.g., memória, habilidades, criatividade, coordenação motora). Nesta variabilidade, inclui-se ainda a diversidade de respostas individuais a uma mesma terapêutica farmacológica.

2. MUTAÇÕES DO DNA

As mutações definem-se como alterações permanentes provocadas na sequência de DNA. A taxa de mutação define o número de mutações/gene/geração (sendo a geração a unidade de tempo).

As taxas de mutação na espécie humana são calculadas a partir da incidência das mutações “de novo” de natureza dominante. Reflectem a

probabilidade de ocorrência de uma alteração grave num gene e não a totalidade das mutações que um gene ou o genoma podem sofrer. Apenas evidenciam as mutações que se expressam. Nesta perspectiva, são assumidos como pressupostos a penetrância completa e a ausência de heterogeneidade. As fenocópias devem ser excluídas.

As taxas de mutação na espécie humana variam consoante os genes. A nível do DNA nuclear, são tipicamente, da ordem de 10^{-4} a 10^{-6} por gâmeta. A neurofibromatose tipo I é uma das doenças com uma maior taxa de mutação “de novo”, da ordem de 10^{-4} . Para a acondroplasia a taxa calculada é da ordem de 10^{-5} . O gene da coreia de Huntington tem uma das mais baixas taxas, com um valor inferior a 10^{-6} por gâmeta.

A taxa de mutação do DNA mitocondrial é 5 a 10 vezes mais alta do que a que é observada no DNA nuclear, dando origem a múltiplos polimorfismos com frequências diversas em diferentes populações (v.g., entre as populações de diferentes continentes). As mutações podem ocorrer por substituição de bases ou por rearranjos (deleções e/ou inserções). A elevada taxa de mutação do DNA mitocondrial poderá resultar da combinação de uma capacidade de reparação do DNA menos eficientes do que a nível nuclear e de um ambiente altamente mutagénico resultante da produção de radicais livres durante a respiração.

A probabilidade de ocorrência de uma mutação num gene depende de factores intrínsecos (mutações espontâneas) e de factores extrínsecos (mutações induzidas). As mutações induzidas ocorrem, normalmente, com uma frequência muito mais elevada do que as mutações espontâneas.

As alterações do DNA podem também decorrer de erros de replicação.

Relativamente aos factores intrínsecos ao DNA, subjacentes às diferentes taxas de mutação observadas para genes diferentes, indicam-se:

- a extensão do gene, sendo que, quanto maior é a extensão, maior é a probabilidade de ocorrência de uma mutação;
- o número e a extensão dos intrões, pela maior probabilidade de erro durante o “splicing”;
- o tipo de bases presente – nas posições ocupadas por bases púricas (adenina ou guanina) pode ocorrer depurinação do DNA, ficando um lugar apurínico por perda de uma base púrica, quando há interrupção da ligação glicosídica entre a base e a desoxirribose; nas regiões de

DNA com maior percentagem de bases citosina haverá uma maior probabilidade de ocorrência de mutações por desaminação da forma 5-metilcitosina em timina;

- a presença de sequências repetitivas, nomeadamente de tripletos devido à possibilidade de expansão do número de tripletos presente (v.g., na síndrome do X-frágil, em relação com o aumento do número de tripletos CGG).

Os factores extrínsecos ao DNA que provocam mutações designam-se mutagénicos. Nestes factores, incluem-se os agentes ambientais de natureza química e de natureza física.

Como exemplos da acção de agentes químicos, refira-se a incorporação no DNA de análogos das bases normalmente encontradas (v.g., 5-bromouracilo que é um análogo da timina e que causa transições de bases, ou 2-aminopurina que é um análogo da adenina e que pode provocar transições ao poder emparelhar com citosina). Refira-se também o efeito da proflavina e dos corantes de acridina que, como moléculas que se intercalam na cadeia nucleotídica, podem provocar mutações “frameshift”. Os carcinogénicos químicos podem provocar metilação (reparada directamente pela enzima O⁶-metilguanina-DNA metiltransferase) ou modificações covalentes do DNA que originam aductos (reparadas pelas enzimas de excisão). Os aductos podem também ser provocados por espécies livres de oxigénio.

Para além destes agentes químicos, há centenas de outras moléculas mutagénicas como o benzeno, o formaldeído, os agentes alquilantes (v.g., etilmetanosulfonato, nitrosoguanidina), o nitrito de sódio, o cloreto de vinilo ou a aflatoxina B1 (gera locais apurínicos).

Nos agentes de natureza física contam-se as radiações ionizantes (raios X, radiação γ , partículas α e β e neutrões) associadas a troca de bases ou a quebra da dupla cadeia de DNA, e as radiações não ionizantes, como a radiação ultra-violeta, capazes de provocar ligações covalentes entre bases pirimídicas adjacentes (v.g., dímeros de timidina).

A agressão oxidativa do DNA por radicais livres gerados durante os processos biológicos, uma reduzida capacidade para o metabolismo de genotóxicos ou para a reparação do DNA (seja durante a replicação, seja após agressão), constituem outros tantos factores mutagénicos.

2.1. TIPOS E LOCAIS DAS MUTAÇÕES

As mutações podem ser muito extensas e visíveis por microscopia de luz, implicando alterações do número de cromossomas (v.g., alteração da ploidia, ganho ou perda de um cromossoma) ou da estrutura dos cromossomas (v.g., translocações, deleções, inversões), ou podem ser de menor dimensão (mutações génicas). A nível do gene podem-se traduzir em deleção parcial ou integral de um gene, em duplicação ou inserção de um gene, ou ainda em alterações de um ou mais codões ou de uma ou mais bases. Quando está envolvida uma única base, designam-se como mutações pontuais.

Quanto ao local, as mutações podem ocorrer em regiões génicas codificadoras (exões) ou em regiões não codificadoras (intrões, regiões flanqueadoras em posição 5' em que se encontram sequências reguladoras da expressão génica, sequências flanqueadoras em posição 3', bem como em locais das extensas regiões intergénicas).

As mutações que ocorrem em exões alteram o RNAm e, na maioria das vezes, a composição em aminoácidos das proteínas. As mutações em regiões não codificadoras, habitualmente, não afectam a composição das proteínas em aminoácidos. Mesmo as mutações que ocorrem em exões podem não afectar a sequência de aminoácidos das proteínas, sobretudo se ocorrerem no terceiro nucleótido de cada codão, o que, na maioria das vezes, não altera o aminoácido, devido à degenerescência do código genético (ver Fig. II.7).

Refira-se, no entanto, que as mutações em regiões não codificadoras também podem afectar a expressão génica. É exemplo, uma mutação do primeiro intrão do gene da globina β que, ao provocar "splicing" anormal, origina níveis reduzidos de RNAm para esta globina, com acção patogénica traduzida em talassémia β . São também exemplos de mutações patogénicas as que ocorrem nas regiões não codificadoras dos genes da globina β correspondentes à região promotora em 5', com consequente redução dos níveis de transcrição, e mutações na sequência de poliadenilação em 3', com consequente transporte anormal do RNAm para o citoplasma e igualmente redução da produção da proteína.

2.1.1. MUTAÇÕES PONTUAIS

As mutações pontuais podem resultar da substituição de uma base por outra, ou da inserção ou deleção de uma única base. Se uma purina for substituída por outra purina (v.g., A→G), ou uma pirimidina por outra pirimidina (v.g., C→T), a mutação é designada como transição. Se uma purina for substituída por uma pirimidina ou vice-versa, a alteração é designada como transversão. As transições são mutações mais comuns do que as transversões, nomeadamente a transição C→T é bastante frequente. Frequentemente, a transição C→T deve-se à desaminação da base citosina metilada (5-metilcitosina), o que origina timina, cabendo lembrar que a metilação da citosina é um mecanismo importante no processo de regulação da expressão do DNA. O facto de a desaminação das bases citosina metiladas ser um mecanismo de mutação frequente explica a redução da frequência das sequências nucleotídicas CpG no genoma dos vertebrados.

2.1.2. MUTAÇÕES PONTUAIS POR SUBSTITUIÇÃO DE UMA BASE

As mutações pontuais que resultam da substituição de uma única base podem funcionar como mutações sinónimas, mutações “missense” ou mutações “nonsense” (Tabela IV.1).

As mutações sinónimas, ou silenciosas, são responsáveis por cerca de 25% das mutações pontuais. São mutações pontuais que resultam da substituição de uma base nucleotídica, em posição que não altera a codificação para o aminoácido em questão, embora altere o codão. São exemplos de mutações sinónimas pontuais a alteração do codão UCU para UCC, UCA, UCG, sem que se altere a codificação para serina, ou a alteração do codão CGU para CGC, CGA ou CGG, mantendo-se a codificação para arginina. Contudo, a presença de um codão alternativo para um mesmo aminoácido pode interferir com a precisão e a velocidade da transcrição de RNAm e com a velocidade e a precisão da tradução devido a reduzida disponibilidade de moléculas de RNA de transferência específicas.

As mutações “missense” ocorrem por substituição de uma base nucleotídica de forma que o codão resultante codifica um aminoácido diferente. As consequências patogénicas deste tipo de mutação pontual

podem ser moderadas ou graves, tendo em consideração a intensidade com que afecta a actividade funcional da proteína que o gene codifica. Um exemplo de mutação “missense” pontual consiste na alteração do codão seis do RNAm produzido a partir do gene da globina β mutado, de GAG para GUG. Esta alteração provoca a substituição do aminoácido glutamina por valina, o que tem um efeito patogénico, ao traduzir-se em drepanocitose. A alteração de apenas um aminoácido altera a hemoglobina adulta normal (Hb A) para hemoglobina S (Hb S).

Tabela IV.1. Demonstração do efeito de diversos tipos de mutação, por analogia com as alterações na frase “Mel com pão boa côr dâo”

TIPO DE MUTAÇÃO	NÚMERO DE BASES	RESULTADO
“Missense”	1 (pontual)	MEL COM PÃO BOA D ÔR DÂO
“Nonsense”	1 (“stop”)	MEL COM
“Frameshift”	1 (Deleção) 1 (Inserção)	MEL COM (P) ÂOB OAC ÔRD ÂO MEL COM PÂ M OBO ACÔ RDÂ O
Deleção	3 bases	MEL COM () BOA CÔR DÂO
Mutação dinâmica (expansão)	Repetição de tripletos (codões)	MEL COM PÃO BOA BOA BOA BOA BOA BOA BOA BOA BOA CÔR DÂO

Nota: Cada conjunto de três letras corresponde a um codão.

As mutações “nonsense” resultam de alterações pontuais do DNA que convertem um codão que codifica para um aminoácido em codão “stop” no RNA (UAA, UAG, UGA). A designação “nonsense” deve-se ao facto de o codão não especificar para nenhum aminoácido. No momento da tradução do RNAm, a presença de um codão “stop”, em posição anormal, gera o sinal que os mecanismos de tradução interpretam como se estivesse completa a tradução da proteína. Nestas condições, forma-se uma proteína truncada, por paragem prematura da tradução. Se a mutação for proximal (em relação ao extremo 5’ do gene), o polipéptido traduzido não terá actividade funcional e será rapidamente degradado. Se for mais distal (próxima do extremo 3’) pode ser relativamente estável e ter actividade funcional.

Pode acontecer que uma mutação transforme um codão “stop” em codão codificador de um aminoácido. Neste caso, durante a tradução do RNAm, forma-se um polipéptido mais longo do que o normal. Um exemplo é dado pela produção de hemoglobina “Constant Spring”, em que uma

mutação do gene da globina α transforma o codão “stop” UAA, da posição 142, em codão CAA, codificador para o aminoácido glutamina. Como resultado, a globina α é mais longa e os portadores desenvolvem talassémia α .

2.1.3. MUTAÇÕES POR DELEÇÃO OU INSERÇÃO DE UMA OU MAIS BASES

As deleções ou inserções de um ou mais codões não alteram a grelha de leitura do RNAm, mas originam proteínas em que faltam, ou se encontram em excesso, um ou mais aminoácidos, consoante o caso. As consequências da falta ou do excesso destes aminoácidos na proteína têm a ver com a sua localização e com a intensidade com que afectam a função da proteína.

Quando as deleções ou as inserções dizem respeito a um número de nucleótidos que não é múltiplo de três, a mutação origina uma alteração da grelha de leitura (mutação “frameshift”) (Tabela IV.1). Assim, a reorganização da sequência de nucleótidos do DNA codificador em tripletos vai dar origem a um nova sequência de codões diferentes, sem relação com a sequência de codões original. Consequentemente, a composição em aminoácidos da proteína codificada é diferente, a partir do local em que ocorreu a mutação, sem relação com a sequência codificadora original.

Frequentemente, o novo reagrupamento dos nucleótidos em codões origina, a breve trecho, um codão “stop” que vai interromper prematuramente a formação da proteína.

As sequências de DNA causadoras de mutações “frameshift” por inserção, podem resultar de transposições (“jumping genes”). Estes “elementos móveis” do genoma têm capacidade para se replicarem e para produzirem múltiplas cópias de si mesmos. As cópias podem, posteriormente, inserir-se noutros locais do genoma. Se a sequência inserida não for um múltiplo de três, vai alterar a grelha de leitura. Por outro lado, podem ainda interferir com a transcrição do gene em que se inserem. Entre as situações de doença atribuídas à inserção de transposições encontram-se casos familiares de cancro da mama e de polipose cólica e casos de hemofilia.

2.1.4. MUTAÇÕES DINÂMICAS

As mutações dinâmicas consistem na expansão do número de unidades repetitivas tipicamente constituídas por tripletos (v.g., CAG), presentes num

determinado gene ou na sua vizinhança (Tabela IV.1). Em condições normais, um indivíduo é portador de um número reduzido de tripletos repetidos sequencialmente. A expansão repetitiva do número de tripletos presentes no progenitor ocorre durante a meiose, durante as fases precoces do desenvolvimento fetal devido a instabilidade mitótica pós-zigótica, ou ainda durante as duas fases. A transmissão das expansões correspondentes às mutações dinâmicas pode ocorrer por via paterna e materna como na distrofia miotônica, apenas por via materna como na síndrome do X-frágil, ou por via paterna como acontece quase sempre na forma juvenil da coreia de Huntington.

Até um certo número de unidades repetitivas, a expansão não afecta a expressão normal do fenótipo, designando-se esta fase como de pré-mutação. O número de unidades repetitivas não se mantém constante durante o processo de transmissão entre as gerações podendo aumentar ou diminuir. A partir de um determinado número de tripletos, que varia consoante as doenças, observa-se um efeito patogénico em relação com essa expansão.

2.1.5. MUTAÇÕES POR FUSÃO DE GENES

As mutações por fusão de genes constituem uma importante fonte de variabilidade genética, pela possibilidade de o gene de fusão resultante se poder expressar como uma proteína com uma nova função ou um aumento de função.

Podem também ocorrer efeitos deletérios devidos a genes de fusão. Um exemplo consiste na alteração qualitativa subjacente ao desenvolvimento da leucemia mielóide crónica. Neste caso, ocorre uma translocação $t(9;22)(q34;q11)$ que origina a transposição do protooncogene *ABL* do cromossoma 9 para o cromossoma 22 onde se recombina com a região BCR. A sequência híbrida BCR-*ABL* resultante produz uma proteína de fusão com actividade tirosinacinaase aumentada. Outro exemplo consiste nas perturbações de visão para as cores vermelha e verde que resultam do "crossing-over" assimétrico entre os genes contíguos do cromossoma X (Xq28) responsáveis pela codificação das opsinas associadas à visão da cor vermelha e das opsinas associadas à visão da cor verde. Quando há emparelhamento assimétrico dos dois cromossomas X, formam-se genes híbridos, por recombinação de partes das sequências codificadoras de cada tipo de genes. As anomalias de visão

do vermelho e do verde presentes habitualmente em indivíduos do sexo masculino, dependem da extensão da alteração das opsinas respectivas.

2.1.6. NOMENCLATURA DAS MUTAÇÕES

A posição de uma mutação deverá ser identificada com base na numeração dos nucleótidos da sequência do cDNA ou em alternativa, de acordo com a numeração dos aminoácidos codificados.

Para a numeração dos nucleótidos, o primeiro nucleótido (+1) corresponde à adenina do codão de iniciação ATG. A contagem dos nucleótidos no sentido 3' representa-se por +2, +3, +4, e assim sucessivamente. A contagem no sentido 5' representa-se por -1, -2, -3, e assim sucessivamente. A substituição de um nucleótido representa-se pelo número do nucleótido seguido da substituição (v.g., 1224T>G corresponde à substituição do nucleótido timina por uma guanina na posição 1224). Uma deleção é representada pela abreviatura "del" colocada após o número do nucleótido (v.g., 894delT corresponde à deleção de uma timina na posição 894; 894-896del ou 894-896delTGA corresponde a uma deleção de 3 nucleótidos, que poderão ser discriminados, com início na posição 894). A indicação de uma inserção é feita de forma semelhante, utilizando a abreviatura "ins" (v.g., 1126-1127insA corresponde à inserção de uma adenina entre as posições 1126 e 1127). Quando as alterações se localizam em intrões, é referenciado o número do nucleótido do respectivo intrão (v.g., IVS3 +1G>T, para a substituição de uma guanina por uma timina no primeiro nucleótido do terceiro intrão (IVS, de "intervening sequence")). Mais frequentemente, a alteração é referenciada em relação ao exão mais próximo (v.g., 821 +1G>T em que o nucleótido 821 é o último do exão precedente, ou 822 -2A>C em que o nucleótido 822 é o primeiro nucleótido do exão seguinte).

Em relação à sequência de aminoácidos, o primeiro codão corresponde ao codão de iniciação, que codifica a metionina. Pode ser utilizada a representação dos aminoácidos pelo código de uma ou de três letras. Quando ocorre substituição, o número do codão separa o aminoácido normal do novo aminoácido (v.g., R120C ou Arg120Cys corresponde à substituição de uma arginina por uma cisteína no codão 120; R120X ou Arg120Stop corresponde à substituição de uma arginina por um codão de terminação). As deleções e as inserções de aminoácidos representam-se de forma análoga (v.g., F508del

corresponde à deleção de uma fenilalanina no codão 508; D58-59ins corresponde à inserção de um aspartato entre os codões 58 e 59).

Para além destas designações, há outras para mutações mais complexas. Através da Internet, é possível aceder a bases de registo de mutações conhecidas (v.g., <http://www.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/hgmd0.html>).

2.2. CONSEQUÊNCIAS DAS MUTAÇÕES

A caracterização da patogenicidade de uma mutação é demonstrada quando segrega com a doença em famílias, quando é rara na população geral (inferior a 1%) e quando têm um efeito funcional na proteína resultante.

A gravidade das consequências das mutações depende das alterações que provocam a nível da capacidade funcional da proteína que codificam (em relação com o local do gene em que ocorrem e com o tipo de aminoácido que é substituído) e do impacto dessa função no organismo no seu todo. Algumas mutações não acarretam grandes problemas (v.g., daltonismo e incapacidade para distinguir entre vermelho/verde, amarelo/azul, todas as cores/cinzentos). Outras mutações acarretam doenças graves (v.g., fibrose quística, fenilcetonúria (FCU), coreia de Huntington, distrofia muscular de Duchenne (DMD), algumas formas de cancro).

Pode acontecer que mutações diferentes num mesmo gene originem fenótipos patológicos diferentes. Um exemplo é dado pelas mutações do gene da distrofina, das quais pode resultar a DMD ou a distrofia muscular de Becker.

Uma mutação pode afectar apenas uma função ou, por outro lado, provocar a alteração de diversas funções ou estruturas do organismo, o que traduz um efeito pleiotrópico.

No que respeita aos efeitos das mutações, podem ser deletérias, neutras ou benéficas. Nas mutações deletérias, os efeitos em termos individuais e de descendência, têm a ver com a penetrância (completa/incompleta, precoce/tardia) e com a expressividade. As mutações deletérias estão sujeitas à pressão de selecção, sendo eliminadas da espécie as que criam desvantagem biológica. Nas mutações neutras, o portador não é afectado, e nas mutações benéficas, há vantagem para o seu portador, directamente em termos de capacidade reprodutiva ou por melhor adaptação ao meio. Assim, os alelos

que concedem vantagem, tendem a ser mais frequentes nas populações em que este efeito se observa.

Uma mutação por deleção de uma base, aparentemente neutra, como a que se encontra no gene que codifica o receptor CCR5 presente na superfície dos linfócitos T “helper”, passa a ser um benefício muito importante para os indivíduos portadores da mutação que sejam infectados pelo retrovírus HIV. Para que os vírus HIV infectem os linfócitos necessitam de se ligar a este receptor e ao receptor de membrana CD4. Quando a mutação está presente em homozigotia, as moléculas CCR5 não migram para a superfície das células, pelo que não se verifica a infecção dos linfócitos, ao contrário do que ocorre quando as moléculas CCR5 são normais. Trata-se de uma condição em que indivíduos “deficientes” (cerca de 1% a 2% dos caucasianos residentes nos Estados Unidos) têm vantagem biológica, comparativamente com indivíduos “normais”. Na ausência de infecção, não há comprometimento das defesas imunológicas e os indivíduos, embora sejam seropositivos, não desenvolvem SIDA (síndrome de imunodeficiência adquirida), pelo que não são doentes. Nos indivíduos heterozigóticos observa-se um desenvolvimento mais lento da SIDA, comparativamente com os indivíduos homozigóticos para o alelo normal.

As mutações neutras e as mutações benéficas incluem-se entre os mecanismos responsáveis pela enorme diversidade humana.

As mutações que não afectam de forma sensível a capacidade reprodutiva (v.g., mutações de expressão tardia) podem ocorrer em vários membros de uma família desde longa data, sendo herdadas de geração em geração, através das células germinais. Nos indivíduos com origem num ovo portador da mutação, todas as células nucleadas do organismo são portadoras da mutação (inclusive as células da linha germinal), designando-se esta condição como constitucional.

56

Ocasionalmente, uma mutação pode ocorrer “de novo” num membro de uma família, a nível dos gâmetas, do ovo, das primeiras fases do desenvolvimento embrionário, em etapas mais avançadas do desenvolvimento embrionário ou fetal, ou mesmo após o nascimento. Se os gâmetas forem portadores da mutação “de novo” e esta originar uma doença ou anomalia, sem afectar significativamente a capacidade reprodutiva, inicia-se assim a instalação na família em causa, já referida.

Contudo, uma mutação “de novo” pode ser um “letal genético” ou seja, pode não permitir a reprodução, embora sem afectar a sobrevivência do seu portador (o que, em termos genéticos, equivale à “morte” daquele genoma, dada a impossibilidade de se reproduzir). Aplica-se um raciocínio idêntico às mutações letais nos primeiros anos de vida. Nas duas circunstâncias anteriores, o aparecimento de novos casos de doença, apenas se verifica por mutação “de novo”, sendo a frequência da doença aproximadamente igual à taxa de mutação do gene em causa, se não houver aumento da mortalidade pré-natal associada à mutação. Por vezes, uma mutação é letal *in utero* para um dos sexos, pelo que só nascem indivíduos do sexo oposto e que se apresentam na família como os únicos com eventuais anomalias associadas à mutação.

Quando uma mutação ocorre numa fase do desenvolvimento ontogénico posterior à determinação celular que origina as células germinais (células precursoras dos ovócitos e dos espermatozóides) e não atinge estas células, a mutação não se transmite à descendência. É uma mutação somática que, naquela família, afecta apenas o indivíduo em causa e origina uma eventual condição esporádica de doença (v.g., as mutações somáticas responsáveis pelos casos esporádicos de cancro).

As mutações somáticas podem ser letais e levar à morte da célula ou permitir a sua divisão, instalando-se no genoma das células filhas. E embora as células possuam mecanismos de reparação das lesões do DNA, quando a quantidade das mutações é grande ou quando ocorrem em organismos em que haja deficiência para proceder a essas reparações, as alterações não são reparadas e instalam-se nas células descendentes.

2.3. NATUREZA DAS MUTAÇÕES

As mutações de um gene podem ser de natureza dominante, recessiva ou dominante negativa. Nas mutações dominantes há expressão fenotípica em heterozigotia, independentemente do mecanismo subjacente, enquanto que nas mutações recessivas apenas ocorre expressão do fenótipo em homozigotia para a mutação.

A natureza dominante de uma mutação pode ser devida a um ganho de função, a aquisição de nova função ou à produção de uma proteína mutada com efeito tóxico (Tabela IV.2). O ganho de função pode ocorrer por

efeito de dosagem génica (trissomias, duplicação génica), ou por aumento da actividade enzimática (v.g., aumento da actividade tirosinacinaase nas mutações do protooncogene *RET* associadas a carcinoma medular da tiróide). Como exemplo de uma condição em que a mutação se traduz em aquisição de novas funções com um padrão dominante, refiram-se as mutações da α 1-antitripsina que convertem a sua actividade inibidora sobre a elastase, em actividade inibidora sobre a trombina com consequentes perturbações hemorrágicas graves. As alterações génicas que conduzem à produção de uma proteína mutada com efeito tóxico têm como exemplo o que ocorre com a polineuropatia amiloidótica familiar, em que a transtirretina mutada tem uma maior resistência à proteólise, o que conduz a multimerização e acumulação de fibrilhas dentro das células.

Tabela IV.2. Formas de manifestação das mutações dominantes

FORMAS DE MANIFESTAÇÃO
1. Ganho de função: – por efeito de dosagem génica; – por aumento de actividade enzimática.
2. Aquisição de nova função
3. Proteína mutada com efeito tóxico

A natureza recessiva de uma mutação está associada a perda de função motivada por uma mutação que conduza à inactivação física ou funcional de um gene. Como resultado, e se foi afectado apenas um alelo de um *locus* autossómico (condição heterozigótica), faltam 50% da quantidade de proteína codificada em condições de homozigotia para o alelo normal. Habitualmente, não há consequências patogénicas significativas, desde que o efeito de dosagem génica não se verifique para os produtos do *locus* em causa. Se os dois alelos sofreram mutação, há ausência completa da proteína codificada e instalam-se as consequências patológicas correspondentes.

Nos casos de haplo-insuficiência, embora haja heterozigotia (Aa), com perda de função de um alelo e produção de 50% de proteína normal pelo outro alelo, o facto de a quantidade de proteína produzida não ser suficiente para manter a função normal, vai expressar-se como condição dominante. Um exemplo de haplo-insuficiência encontra-se na mutação de um dos alelos do *locus* que codifica os receptores das lipoproteínas de baixo peso molecu-

lar (LDLs) que está subjacente a uma condição de hipercolesterolemia familiar de natureza autossômica dominante. Na presença de heterozigotia, a concentração de colesterol circulante duplica e o risco para doença coronária cardíaca aumenta significativamente. Idêntica condição se verifica para a porfiria aguda intermitente, uma vez que a função normal apenas se expressa quando os dois alelos são normais, correspondendo a heterozigotia a uma falha de função.

As condições dominantes negativas também resultam de uma mutação de natureza não dominante num dos alelos. O genótipo presente é heterozigótico (Aa). Nestes casos, há 50% de proteína normal e 50% de proteína mutada, em termos de monómeros produzidos. A proteína mutada, isoladamente, não provoca expressão de fenótipo anormal. Contudo, se o produto do gene actuar como complexos multiméricos, a percentagem de moléculas com actividade funcional pode ser muito reduzida. Assim, se o complexo for dimérico apenas 25% dos dímeros são constituídos exclusivamente por monómeros não mutados, o que pode equivaler a 75% de redução da actividade em vez de 50% no caso de a actividade funcional

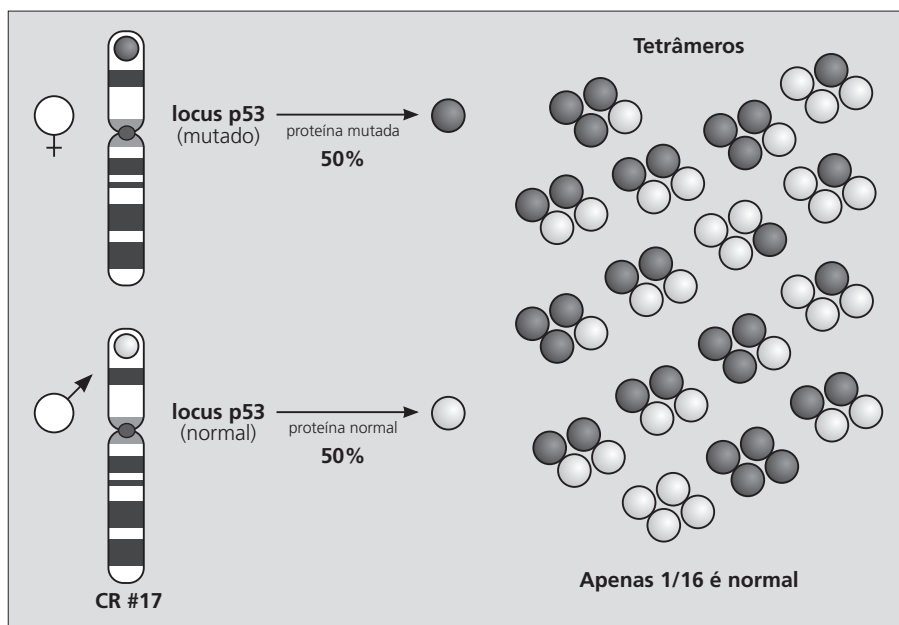


Fig. IV.3 – Esquema do funcionamento da dominância negativa para uma condição de heterozigotia para o locus do gene *TP53*.

ser exercida directamente pelos monómeros. Se o complexo for tetramérico, apenas 1/16 dos tetrâmeros é constituído exclusivamente por quatro monómeros normais, o que poderá equivaler à perda de mais de 90% da actividade funcional. A proteína antioncogénica TP53 é um exemplo de uma molécula que forma complexos funcionais tetraméricos (Fig. IV.3).

3. REPARAÇÃO DO DNA

Apesar da complexidade da replicação, a fidelidade com que o DNA é replicado em cada ciclo celular é notável, verificando-se uma taxa de erro por par de bases inferior a 10^{-9} .

A estabilidade do DNA é assegurada pela regulação do ciclo celular que conduz à sua paragem nos “pontos de restrição” quando há lesões do DNA, para que tenha lugar a reparação. Este facto implica que haja proteínas com capacidade para reconhecerem as lesões do genoma e para repararem essas lesões ou as assinalarem para que outras proteínas procedam à sua reparação.

A eficiência da reparação do DNA não é igual ao longo do genoma, sendo mais eficaz junto dos genes que estão a ser transcritos e, em particular, nas cadeias que estão a ser transcritas.

Se as mutações não forem reparadas, ou se as células não pararem de se dividir ou não morrerem, as alterações acumuladas no DNA serão reproduzidas durante a replicação do DNA e constituir-se-á um clone celular com a mutação, eventualmente tumorigénico. Por isso, foram seleccionados mecanismos variados para manter a integridade do genoma (Tabela IV.3), de modo a que o ciclo celular seja suspenso nos pontos de restrição quando o DNA está lesado e actuem as enzimas de reparação.

Um dos primeiros mecanismos celulares para manter a integridade do genoma consiste na capacidade discriminativa da polimerase do DNA em relação ao emparelhamento correcto ou incorrecto das bases durante a replicação da cadeia complementar, em parte devido ao facto da polimerase I possuir um domínio com actividade enzimática de exonuclease, pela qual elimina bases mal emparelhadas.

Há ainda um mecanismo de reparação directa capaz de remover dímeros de pirimidina (dímeros de timidina ou de citidina). As enzimas envolvidas são fotoliasas activadas pela luz visível, com capacidade para desfazerem as duplas

ligações que originam os dímeros. Estas enzimas foram identificadas em bactérias, em microorganismos eucariotas e em plantas.

Outros mecanismos de reparação, baseam-se na excisão de bases ou de nucleótidos. A reparação pode ocorrer por excisão de uma base (BER, “base excision repair”) ou por excisão de uma sequência monocatenar que inclua o nucleótido (NER, “nucleotide excision repair”).

Tabela IV.3. Mecanismos para manter a integridade do genoma

MECANISMOS
1. Discriminação pela polimerase do DNA
2. Reparação directa
3. Reparação por excisão: – de uma base (BER); – de nucleótidos (NER); – após reconhecimento de erros de replicação (MMR).
4. Por recombinação

Quando a alteração resulta de um erro de emparelhamento, em que não há qualquer anomalia química, intervêm proteínas de reconhecimento do erro e, posteriormente, desenvolve-se o processo de excisão do fragmento monocatenar que inclui o nucleótido mal emparelhado. Os erros de emparelhamento tendem a ocorrer em regiões dos cromossomas com microsátélites (pequenas sequências repetitivas de DNA).

Quando as lesões do DNA se traduzem em quebras da dupla cadeia, a reparação é feita por recombinação do DNA.

3.1. REPARAÇÃO POR EXCIÇÃO DE UMA BASE

Na BER, é removida a base alterada por acção de uma glicosilase, o que origina um local apurínico ou apirimidínico semelhante ao que se forma na agressão pelo calor (Fig. IV.4). As glicosilases têm capacidade para remover do DNA, por exemplo, o uracilo que se forma pela desaminação da citosina (por remoção do grupo NH₂), bem como bases alquiladas. Segue-se a intervenção de uma endonuclease que corta as ligações fosfodiester e de uma fosfodiesterase que remove o nucleótido sem a respectiva base.

Desta intervenção resulta um hiato monocatenar na dupla cadeia de DNA. A 5'-3' DNA polimerase refaz a dupla cadeia e a DNA ligase repõe as ligações longitudinais do nucleótido. O processo BER está também envolvido na reparação de lesões espontâneas apurínicas ou apirimidínicas.

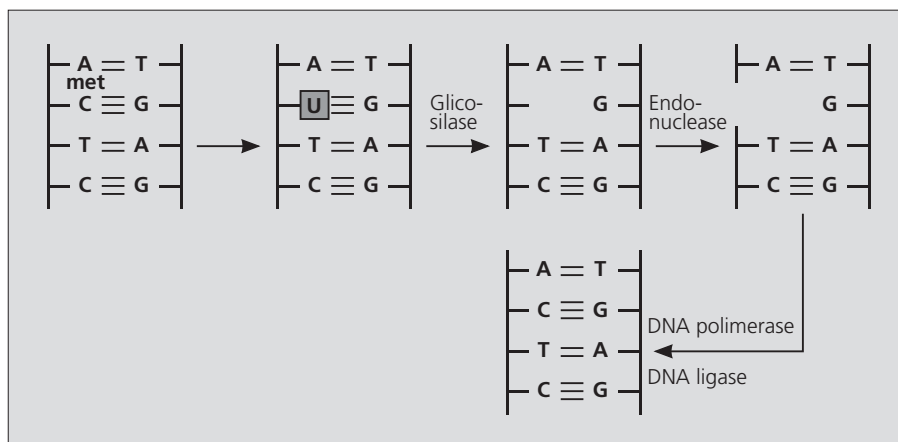


Fig. IV.4 – Reparação de lesões do DNA por excisão de uma base.

3.2. REPARAÇÃO POR EXCISÃO DE NUCLEÓTIDOS

O processo NER é activado face à presença de agressões mais extensas de uma das cadeias do DNA, sob a forma de "crosslinks" intracatenares, formação de aductos químicos (em que as bases são modificadas pela ligação de grupos químicos grandes) e também de dímeros de timidina. Começa pela actividade de uma exonuclease que executa dois cortes na cadeia de DNA em que se encontram os nucleótidos a excisar (Fig. IV.5).

62

Na espécie humana, os cortes na cadeia de DNA delimitam um fragmento, com 24 a 29 nucleótidos, que inclui os nucleótidos a excisar. O fragmento é removido e, a partir da cadeia monocatenar íntegra, é replicado o fragmento monocatenar complementar em falta, por acção da polimerase epsilon do DNA. É um processo que requer cerca de 30 proteínas, em que se incluem as que se encontram alteradas no *xeroderma pigmentosum*. Estas proteínas actuam como moléculas heteroméricas complexas que podem agrupar sete subunidades.

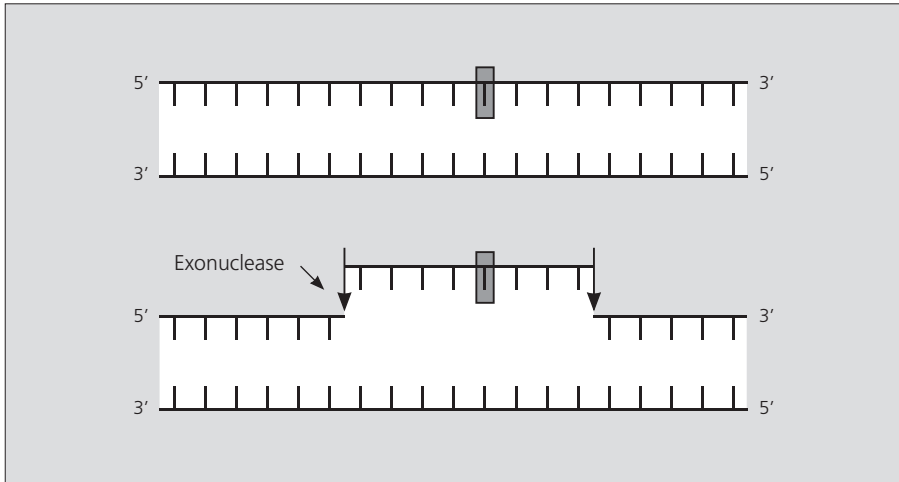


Fig. IV.5 – Reparação de lesões do DNA por excisão de nucleótidos.

3.3. REPARAÇÃO DE ERROS DE EMPARELHAMENTO

Durante a replicação do DNA podem ocorrer erros de emparelhamento (“mismatch”), por incorporação de um nucleótido errado pela DNA, por polimerase ou por inserção/deleção de sequências resultante de um desvio das cadeias durante a síntese de sequências repetitivas ou durante fenómenos de recombinação. A sua detecção e reparação requerem a intervenção de proteínas com capacidade para procederem à “revisão de provas” (proteínas abreviadamente designadas por MMR, de “mismatch repair”), no sentido de detectarem falhas da complementaridade A-T, C-G entre as duas cadeias e de excisarem pequenos fragmentos monocatenares de DNA. O estudo da instabilidade genética em bactérias com taxas elevadas de mutações espontâneas e no homem em tumores da síndrome HNPCC levaram à identificação de genes que codificam as proteínas envolvidas, no homem designados por: *MLH1*, *MSH2*, *PMS1*, *PMS2*, *MSH6*, *MSH3* e *MLH3*.

Os genes de reparação de “mismatch” actuam em sequência: (1) reconhecimento do erro de emparelhamento; (2) recrutamento de factores adicionais do sistema MMR; (3) identificação da cadeia anómala recém-sintetizada e excisão de uma sequência de DNA com 1-2 kb em que se inclui o local com o erro de emparelhamento; (4) ressíntese da cadeia excisada.

Este complexo sistema participa também noutras funções celulares como a reparação por excisão de nucleótidos acoplada à transcrição de dímeros de pirimidina induzidos pela radiação UV, na constituição das sinapses para o “crossing-over” e, provavelmente, também no desencadear da apoptose na sequência da reparação de aductos de DNA provocados por carcinogéneos químicos, em associação com a proteína TP53.

A falência do sistema MMR origina instabilidade genética e é considerada como uma importante via da carcinogénese. Os tumores associados a mutações dos genes que codificam as proteínas MMR caracterizam-se por elevadas taxas de mutações de microssatélites, designadas por instabilidade de microssatélites (MI) e de mutações pontuais. Na ausência de um mecanismo eficaz de reparação do DNA, a dimensão dos alelos de cada microssatélite pode variar em relação com a dimensão original, o que pode ser constatado analisando o DNA tumoral em comparação com DNA constitucional (Fig. IV.6).

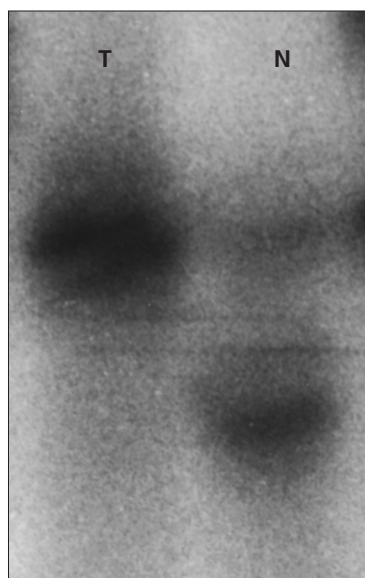


Fig. IV.6 – Detecção de erros de replicação em tumores esporádicos do cólon. Foi utilizada a sonda D9S171. T – Bandas obtidas com DNA extraído de tecido tumoral; N – Bandas obtidas com DNA extraído de tecido normal para controlo. Observa-se uma menor extensão da migração electroforética do DNA tumoral, comparativamente com a do DNA controlo, devido a aumento de comprimento dos fragmentos.

Os indivíduos heterozigóticos para mutações patogénicas de genes do sistema MMR têm uma maior susceptibilidade para o desenvolvimento de tumores (v.g., tumores do espectro da síndrome HNPCC). A aquisição do fenótipo tumoral só ocorre, no entanto, nas células em que o segundo alelo do gene também é inativado.

A falência do sistema MMR, evidenciada pelo fenómeno de MI, pode também surgir em tumores esporádicos, mas parece associar-se a inactivação dos genes MMR por metilação e não por mutação.

3.4. REPARAÇÃO DE QUEBRAS DA CADEIA DE DNA

As lesões do DNA provocadas por agentes genotóxicos como os radicais livres de oxigénio, as radiações ionizantes ou os agentes alquilantes podem ocorrer como quebras numa das cadeias de DNA. Estas quebras surgem também como resultado da incisão enzimática do DNA.

Na Tabela IV.4 estão indicadas algumas doenças em que se observa instabilidade cromossómica resultante de deficiência da reparação do DNA. Indicam-se também a sua frequência, a deficiência presente e as respectivas características.

Tabela IV.4. Doenças devidas a deficiência de reparação do DNA

DOENÇA	FREQUÊNCIA	DEFICIÊNCIA	CARACTERÍSTICAS
Anemia de Fanconi	1/360.000	Excisão	Hereditariedade autossómica recessiva, pancitopenia progressiva (dos 5 aos 10 anos), pigmentação cutânea, malformações congénitas (rádio), baixa estatura, risco aumentado para leucemia não linfocítica aguda, carcinomas hepatocelular e de células escamosas.
Ataxia telangiectasia	1/40.000	Paragem do ciclo celular	Hereditariedade autossómica recessiva, ataxia cerebelosa na infância, telangiectasias, aumento da sensibilidade aos Raios X, aumento de risco para leucemias e linfomas antes dos 16 anos e carcinomas em idade posterior.
Síndrome de Bloom	Muito rara	Ligase do DNA	Hereditariedade autossómica recessiva, baixo peso ao nascer, baixa estatura, "rash" da face, aumento das SCE, aumento de risco para leucemias e linfomas antes dos 25 anos e para carcinomas em idade posterior.
Xeroderma Pigmentosum	1/250.000	Excisão	Hereditariedade autossómica recessiva elevada sensibilidade aos UV, cancros múltiplos da pele, escaras da córnea.
Síndrome HNPCC	1/200	Reparação de "mismatch"	Hereditariedade autossómica dominante, risco aumentado para carcinoma colorrectal, do endométrio, do ovário, do estômago, das vias biliares e das vias urinárias.

HNPCC – Carcinoma colorrectal hereditário não-polipótico; SCE – "sister chromatid exchange"

A detecção das quebras numa cadeia de DNA é feita pela enzima polimerase da poli (ADP-ribose), cuja actividade aumenta mais de 500 vezes na presença das quebras. O aumento de actividade desta enzima conduz à produção de um polímero de ADP-ribose e vai desencadear os mecanismos de morte da célula por necrose ou por apoptose, ou de reparação das lesões do DNA.

Quando as lesões do DNA se traduzem em fracturas da dupla cadeia, entra em acção a reparação por recombinação. Nestes casos, há um risco elevado para a ocorrência de alterações génicas.

CAPÍTULO V

MÉTODOS DE ESTUDO DO GENOMA HUMANO

1. INTRODUÇÃO

Os desafios postos pelo estudo do genoma humano constituíram-se num estímulo poderoso para a imaginação dos cientistas, tendo levado ao estabelecimento de múltiplas formas de abordagem. Foi um extenso trajecto, vencido em poucas dezenas de anos, o que permitiu passar da observação da expressão fenotípica aos estudos cromossómicos e moleculares e conhecer, actualmente, a sequência das bases nucleotídicas do genoma humano em quase toda a sua extensão.

O DNA pode ser extraído de quaisquer células nucleadas de um organismo, embora a forma mais corrente de obter DNA seja a partir de leucócitos do sangue periférico. Os métodos de isolamento do DNA são diversificados e os protocolos estão bem estabelecidos. Há, inclusivamente, equipamentos automatizados para isolamento do DNA.

Quando se pede o estudo molecular de determinada patologia, é essencial que se forneça informação adequada sobre as alterações fenotípicas ou funcionais encontradas, de modo a orientar para o gene ou genes em causa, ou que se indique o gene pretendido, fazendo acompanhar o pedido de uma história clínica cuidadosa. As indicações respeitantes à origem populacional do indivíduo em causa também podem facilitar o estudo, já que há grupos populacionais em que determinadas mutações são mais frequentes do que noutros.

Para se ter uma ideia comparativa das dimensões em causa, quando se pretende realizar o estudo do genoma, faça-se equivaler, por escala, a extensão de DNA do genoma haplóide humano, com cerca de um metro de comprimento e 3×10^9 bp, ao diâmetro da Terra (12.756km). A observação citogenética apenas permite detectar alterações de comprimento iguais ou superiores a 4×10^6 bp (limite de resolução do estudo citogenético dos cromossomas). Na escala antes proposta, este número de pares de bases corresponde, aproximadamente, a 17km. O gene da DMD, com $2,3 \times 10^6$ bp e conhecido como o maior dos genes humanos até agora identificados, corresponde a cerca de 9km. Está, por isso, abaixo do limite de resolução e, se estiver ausente, a sua falta não será detectada por citogenética. Porém, o tamanho médio dos genes humanos é bastante menor, da ordem dos 10^4 bp, o que corresponde a 40m e um gene pequeno como o da globina (com cerca de 10^3 bp) corresponde a 4m. Esta comparação mostra como podem estar ausentes múltiplos genes ou podem ter sido inseridas longas extensões de DNA sem que o estudo citogenético evidencie estas alterações. Alerta ainda para a inutilidade do recurso à citogenética convencional ou mesmo de alta resolução quando se trata de doenças monogénicas.

O conhecimento do genoma tem vindo a ser alcançado por múltiplas vias, de que são exemplo os estudos de associação, os estudos de ligação génica, a recombinação e a clonagem do DNA, a PCR e a sequenciação, para além dos estudos citogenéticos clássicos e da citogenética molecular.

2. ESTUDOS DE ASSOCIAÇÃO

68

Os estudos de associação baseiam-se na detecção da expressão de um determinado marcador fenotípico como indicativo da presença de um gene herdado em associação e responsável pela expressão de um determinado traço ou carácter. Esta abordagem é de natureza indirecta. O marcador associado a um elevado risco para uma doença não é o responsável pela doença. O que se compara é a incidência de um polimorfismo marcador na população de indivíduos afectados por uma determinada doença, com a incidência do mesmo marcador numa população controlo. Se é detectada

uma diferença significativa, esta diferença é considerada como indicador de associação positiva ou negativa.

Os estudos de associação têm vantagem sobre os estudos de ligação gênica, uma vez que podem ser realizados em conjuntos de indivíduos sem relação de parentesco, seja para os doentes seja para os controlos, e podem ainda detectar efeitos genéticos que os estudos de ligação gênica não podem detectar. Contudo, deverá haver cuidado na comparabilidade dos grupos de doentes e de controlo, considerando que as frequências alélicas estão sujeitas a grande variação. Por outro lado, a taxa de mutação do alelo estudado e do presumível *locus* de susceptibilidade para a doença deve ser baixa ou conhecida. Há ainda vantagem em estudar *loci* que codifiquem proteínas que possam estar eventualmente relacionadas com a doença.

Nos resultados dos estudos de associação, podem-se encontrar duas possibilidades, através do cálculo do “odds ratio” (OR)⁽¹⁾ e respectivo intervalo de confiança (IC):

- a frequência do alelo estudado não difere significativamente entre o grupo de doentes e o grupo controlo (IC englobando a unidade);
- a frequência do alelo difere significativamente entre as duas populações (IC não englobando a unidade).

Veja-se, a título de exemplo, como o cálculo do risco relativo (RR) evidencia, numa população, a associação entre a presença do alelo polimórfico HLA-B27 (pertencente ao sistema de histocompatibilidade HLA) e a ocorrência de espondilartrite anquilosante. Assim, se numa população de doentes com espondilartrite anquilosante houver 210 indivíduos portadores do alelo HLA-B27 e 19 não portadores (Tabela V.1) e numa amostra da população geral em que se encontram os doentes houver 42 portadores daquele alelo e 361 não portadores, o valor do risco relativo será a razão entre o quociente de 210/42 e o quociente de 19/361, ou seja 95. Este valor significa que os indivíduos portadores do alelo HLA-B27 têm uma probabilidade 95 vezes maior de desenvolver espondilartrite anquilosante em comparação com os indivíduos que são portadores de outro dos alelos que concorrem para o *locus* HLA-B.

⁽¹⁾ O OR é uma estimativa do risco relativo, nos estudos caso-controlo.

Tabela V.1. Valores absolutos para a presença (+) e ausência (-) do alelo HLA-B27 encontrados numa população de doentes com espondilartrite anquilosante e numa população controlo

	HLA-B27 (+)	HLA-B27 (-)
Doentes	210	19
Controlos	42	361

Um valor de associação como o encontrado para a espondilartrite anquilosante é excepcional, em comparação com os valores relativamente baixos observados habitualmente para doenças multifactoriais. Os valores baixos poder-se-ão dever ao reduzido contributo do *locus* estudado comparativamente com outros *loci* e com o meio ambiente ou a desequilíbrio de ligação.

Os alelos do sistema HLA foram também usados para estudos de associação relativos à diabetes *mellitus* tipo 1. Nestes estudos foi encontrada associação com esta doença em 95% dos doentes de origem caucasiana portadores dos alelos de histocompatibilidade HLA-DR3 ou HLA-DR4, comparativamente com a sua frequência combinada de 50% na população geral.

Para a doença de Alzheimer de expressão tardia foi também detectada uma associação forte com a expressão do alelo *APOE**4 da apolipoproteína E. Esta forma da apolipoproteína apresenta uma prevalência de 40% nos indivíduos com doença de Alzheimer, comparativamente com uma prevalência de 12% numa população controlo com idade média idêntica à dos doentes.

O recurso aos grupos sanguíneos para estudos de associação, embora tenham sido os primeiros a serem usados, permitiram apenas evidenciar uma associação bastante frágil entre a presença do grupo sanguíneo A e uma maior prevalência de cancro gástrico.

Os SNPs também se encontram entre os marcadores polimórficos que podem ser usados para estudos de associação.

3. ESTUDOS DE LIGAÇÃO GÉNICA

Os estudos de ligação génica permitem identificar a presença de alelos que podem ser herdados em conjunto com um polimorfismo de DNA que funcione como marcador, pela proximidade entre ambos. Constituem uma

forma indirecta de estudar o genoma. Podem ser baseados em marcadores polimórficos que ocorram em sequências de DNA codificadoras (v.g., grupos sanguíneos, sistema HLA, enzimas), ou em marcadores polimórficos de DNA resultantes de variações a nível de sequências não codificadoras, sem qualquer efeito patogénico relevante. Os polimorfismos que se localizam em regiões codificadoras podem ser detectados pelo estudo do polimorfismo das proteínas.

Para os estudos de ligação génica podem ser usados os RFLPs, os VNTRs e os SNPs. Os polimorfismo do DNA são informativos quando evidenciam heterozigotia (diferença entre as sequências estudadas de um par de cromossomas homólogos).

3.1. RFLPs

Os estudos de ligação génica baseados em RFLPs desenvolveram-se a partir de 1978, com a observação de que a restrição enzimática do DNA genómico humano por endonucleases de origem bacteriana originava fragmentos polimórficos provocados por mutações germinais que alteram a sequência reconhecida por enzimas de restrição.

Os RFLPs são transmitidos hereditariamente de forma mendeliana codominante podendo, por isso, ser usados como marcadores polimórficos.

Para a detecção de RFLPs pode ser usada a metodologia de “Southern blotting”, descrita em 1975 por Edmund Southern. Após restrição enzimática, os fragmentos de DNA genómico são sujeitos a electroforese em gel e posteriormente transferidos para um suporte sólido de nitrocelulose por arrastamento por capilaridade. Após hibridação com sondas específicas, este processo possibilita a identificação, entre os milhares de fragmentos de restrição obtidos, de sequências bem determinadas (Fig. V.1).

O recurso a enzimas de restrição pode diferenciar dois cromossomas homólogos quando a região polimórfica estudada exhibe um padrão de restrição diferente para um par enzima de restrição/sonda de hibridação, o que equivale a serem informativos. Os RFLPs são seleccionados de modo que o padrão de bandas em estudo permita determinar o trajecto dos cromossomas com origem em diferentes indivíduos de uma família (Fig. V.2).

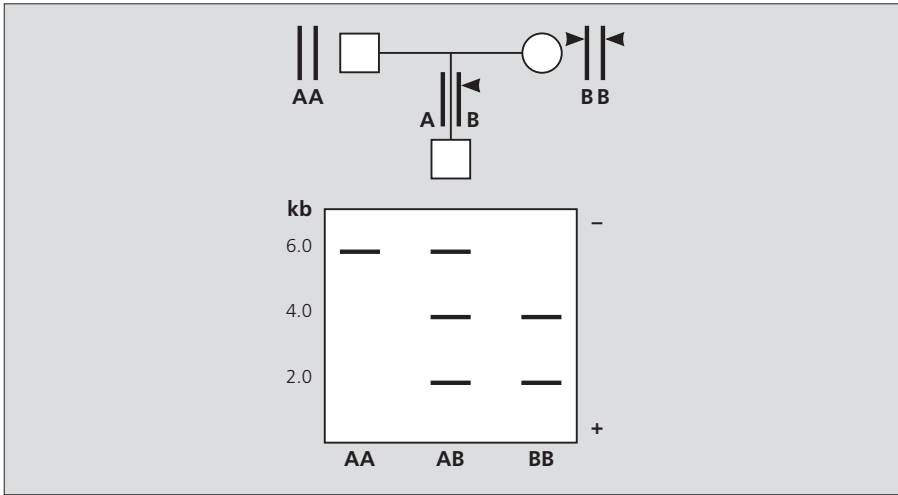


Fig. V.1 – Análise de fragmentos de restrição de polimorfismos de comprimento (RFLPs). Uma mutação pontual do alelo B (seta) gerou um local de clivagem polimórfico que origina RFLPs. AA – genótipo homocigótico para o alelo em ligação, tipo “selvagem”; AB – genótipo heterocigótico devido à presença de uma cópia do alelo “selvagem” herdada do pai e de uma cópia do alelo com a mutação polimórfica herdada da mãe; BB – genótipo homocigótico para o alelo mutado presente na mãe. O DNA foi extraído, fragmentado com uma enzima de restrição, submetido a electroforese em gel e seguidamente a “Southern blotting” e sujeito a hibridação com uma sonda específica para a sequência marcadora polimórfica, marcada com um produto radioactivo. No lado esquerdo está indicado o peso molecular dos fragmentos de DNA em kb.

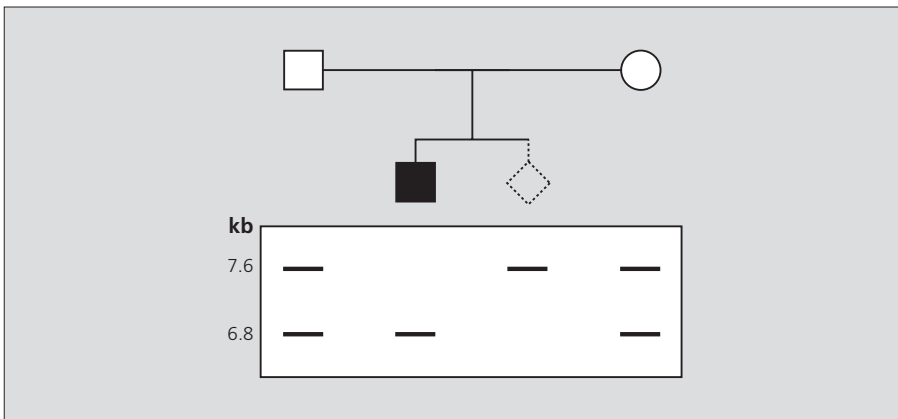


Fig. V.2 – Detecção, por RFLPs, de heterocigotia e de homocigotia para alelos normais e para alelos mutados associados a uma doença ou carácter. Os progenitores são ambos heterocigóticos, portadores de um alelo mutado com 6,8 kb e um alelo normal com 7,6 kb. O primeiro filho herdou o alelo mutado do pai e o alelo mutado da mãe pelo que é homocigótico e doente. O diagnóstico pré-natal realizado durante a gravidez em curso, mostrou que o segundo filho será homocigótico para o alelo normal de 7,6 kb e que, por isso, tem elevada probabilidade de não ser doente.

Assim, se o padrão obtido com um determinado marcador se encontra em ligação com indivíduos doentes, quando se usam as mesmas condições para um familiar e o padrão se repete, poder-se-á afirmar, mesmo na ausência de doença, que há uma elevada probabilidade de o gene causador da doença estar presente. Pela presença do marcador, pode-se assim prever, de forma indirecta, a eventual ocorrência ou ausência da doença no futuro, pela ligação do marcador ao gene com a mutação patogénica.

Com o desenvolvimento da reacção de polimerização em cadeia (PCR), foi possível conjugar esta técnica com a restrição enzimática, quando o fragmento amplificado permite a obtenção de RFLPs devido à presença de uma sequência de restrição para uma determinada endonuclease (Fig. V.3).

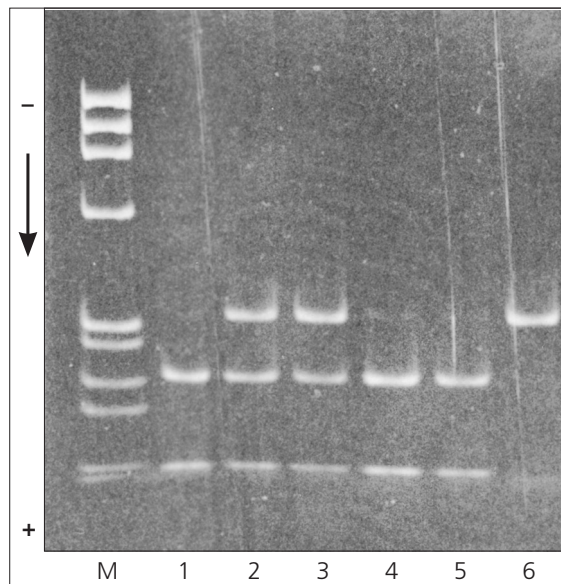


Fig. V.3 – Electroforese de uma amostra de DNA obtida por PCR, seguida de restrição enzimática (PCR/RFLP). Por este processo, também é possível detectar o genótipo de um indivíduo para uma determinada mutação que afecte um local de restrição específico para a endonuclease utilizada. Quando a mutação está presente, perde-se a sequência reconhecida pela enzima e o fragmento não é clivado, como ocorre para os dois alelos na coluna 6 e nas colunas 2 e 3 para um dos alelos. Na ausência de mutação, os alelos são clivados em dois fragmentos menores, como acontece para os dois alelos nas colunas 1, 4 e 5 e para um dos alelos nas colunas 2 e 3. M – coluna em que migrou uma amostra de DNA constituída por fragmentos de comprimento conhecido, para servirem de padrão. A seta indica a direcção da migração electroforética, do pólo negativo (-) para o pólo positivo (+).

Os RFLPs têm sido usados extensivamente em diversos campos da investigação básica, para estudar a evolução das espécies, para mapeamento genético, em medicina forense para identificação de paternidades e para identificação de indivíduos, bem como na prática clínica através da detecção indirecta de mutações por estudos de ligação genética.

3.2. VNTRs

Os VNTRs representam outra forma de polimorfismo também usada em estudos de ligação génica. A grande variabilidade interindividual do número de unidades repetitivas está na base do seu polimorfismo e torna-os mais facilmente informativos do que os RFLPs (Fig. IV.2). O recurso aos VNTRs possibilita realizar o “fingerprinting” do DNA de um indivíduo, dada a sua natureza única e específica em termos práticos, sobretudo se se caracterizarem diversos VNTRs de um mesmo indivíduo.

Os estudos de ligação génica baseados em VNTRs partem da amplificação das sequências repetitivas polimórficas por PCR, com o recurso a “primers” complementares para as sequências nucleotídicas que flanqueiam a região repetitiva (Fig. IV.2). A marcação de um dos “primers” com um fluorocromo permite que os produtos amplificados sejam detectados após electroforese.

As sequências STRs (Fig. IV.2) constituem, presentemente, os marcadores polimórficos de excelência para a realização de estudos de ligação génica, já que associam um muito elevado polimorfismo a um tamanho que torna fácil a diferenciação directa dos polimorfismos por visualização com luz ultravioleta, após electroforese e coloração do gel com brometo de etídio, ou por análise dos fragmentos em sequenciador automático (Fig. V.4).

As sequências (CA)_n são também altamente polimórficas (Fig. IV.2), o que permite identificar, em cerca de 70% dos casos e com recurso a um único marcador, qual dos cromossomas homólogos do progenitor foi herdado por um descendente.

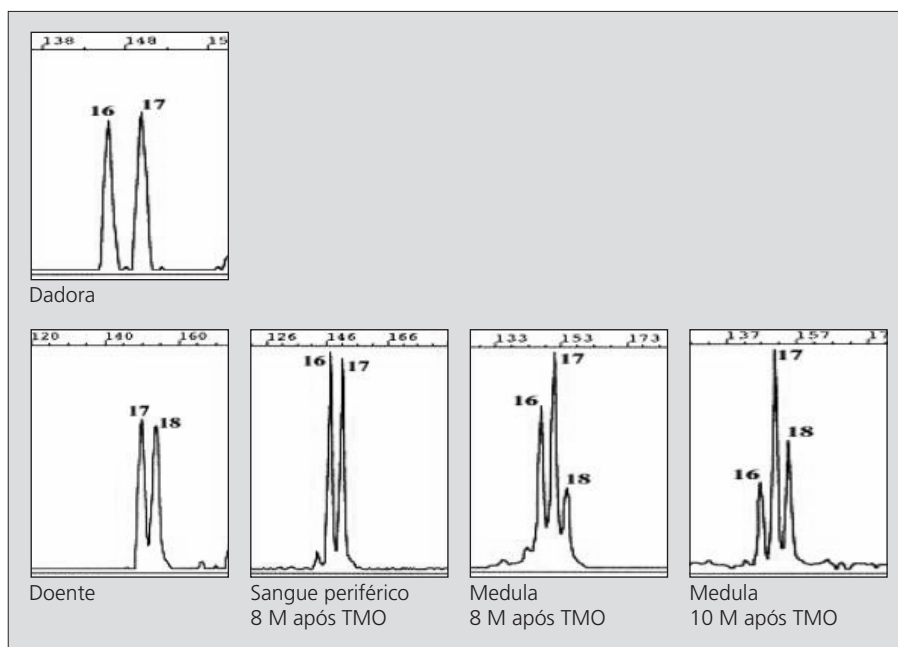


Fig. V.4 – Análise de fragmentos STRs, em sequenciador automático para seguimento de transplantação de medula óssea (TMO), por leucemia linfoblástica aguda. A dadora das células da medula que foram transplantadas é irmã da doente.

Inicialmente, o DNA foi sujeito a PCR com “primers” que delimitam a sequência STR a estudar. Um dos “primers” foi marcado com fluorocromo. Os produtos de amplificação foram caracterizados por análise em sequenciador automático. Para o STR estudado, designado como VWA, verifica-se que a dadora é heterozigótica, sendo portadora de um marcador com 16 unidades repetitivas e outro com 17. A doente também é heterozigótica, sendo portadora de um marcador com 17 unidades repetitivas e outro com 18. A informatividade presente permite verificar que 8 meses após TMO, no sangue periférico da doente apenas existem em circulação células oriundas das células precursoras transplantadas, uma vez que não se detecta o STR com 18 unidades inicialmente presente na doente. No entanto, a nível da medula óssea, já é patente, por esta altura, a proliferação de células da doente, correspondente a uma recidiva da leucemia, traduzida na presença do STR com 18 unidades repetitivas. Dois meses mais tarde, o pico correspondente a este STR é maior, por invasão das células leucémicas e o pico correspondente ao STR com 16 unidades (células da dadora) está em regressão.

3.3. LIMITAÇÕES DOS ESTUDOS DE LIGAÇÃO GÉNICA

Uma das limitações dos estudos de ligação génica prende-se com a necessidade de haver um doente na família já que, sem um doente, os estudos de ligação génica não podem ser realizados. Por isso, os resultados

observados numa família não podem ser transferidos para outra, uma vez que o mesmo marcador pode estar em ligação com outro alelo, com o mesmo alelo na forma normal ou com diferentes mutações patogénicas ou não.

No que respeita aos RFLPs, na grande maioria das vezes têm apenas um local de restrição ou seja duas formas alternativas (uma forma com o local de restrição e outra forma sem o local de restrição), o que é uma limitação séria dado que, no máximo, apenas 50% da população é heterozigótica. Na ausência de heterozigotia, o facto de as sequências serem iguais (ambas com local de restrição, ou sem local de restrição) torna-as não informativas para estudos de ligação génica, pelo que não é possível saber, num descendente, se o cromossoma herdado é ou não o cromossoma portador de determinada mutação patogénica. Assim, quando um doente é homozigótico para os RFLPs estudados, o polimorfismo não é informativo, não sendo possível esclarecer os filhos sobre a presença ou ausência do alelo responsável pela sua condição.

Os problemas relacionados com a informatividade estão praticamente ultrapassados com o recurso a alelos constituídos por sequências de DNA em que se encontra uma elevada variabilidade do número de unidades nucleotídicas constituintes e, conseqüentemente, com elevado polimorfismo.

Outras dificuldades resultam da heterogeneidade génica, ou de uma distância genética grande entre o polimorfismo marcador e o gene em ligação. Nos casos em que está presente a heterogeneidade, a identificação de ligação génica pode não traduzir a presença de alteração a nível do *locus* em ligação, uma vez que o fenótipo pode estar a ser determinado por outro gene distante ou localizado noutra cromossoma.

3.4. DISTÂNCIAS GENÉTICAS

76

Dois traços ou caracteres estão em ligação génica quando os genes que os determinam se encontram em *loci* próximos, num mesmo cromossoma e, por isso, são herdados em conjunto. Se estiverem bastante afastados, podem não ser herdados em conjunto, devido ao "crossing-over". Poder-se-á, por isso, definir a probabilidade de recombinação entre dois *loci* de um mesmo cromossoma, sendo esta variável designada por "fracção de recombinação" (θ). A fracção de recombinação pode variar entre 0 e 50%. Se os dois *loci*

estão muito próximos, a probabilidade de recombinação pode ser zero ou muito próxima de zero. Se se encontram afastados, a probabilidade de recombinação é elevada, podendo mesmo ocorrer segregação independente quando a distância é bastante grande ou os *loci* estão em cromossomas diferentes. Quando há segregação independente, $\theta = 1/2$, o que equivale ao valor máximo para esta variável, acima do qual não é possível uma interpretação biológica.

A fracção de recombinação traduz a distância genética entre dois *loci*. Nesta perspectiva, foi definida a unidade de recombinação meiótica, designada por centimorgan (cM). Esta unidade traduz uma distância genética correspondente à probabilidade de 1% de dois *loci* sofrerem recombinação durante a meiose.

O logaritmo na base 10 da probabilidade de existir ligação, sobre a probabilidade de não existir designa-se por “lod score”. Considera-se um valor de +3 (possibilidade de 1.000:1) como prova de ligação génica e um valor de -2 como indicador de não ligação.

Em relação a dois genes em ligação, a frequência com que o “crossing-over” ocorre entre eles é deduzida pela proporção de descendentes com recombinação, nascidos de casais portadores de genes em ligação.

A fracção de recombinação é uma distância genética e não uma distância física, embora se possa indicar como valor físico médio para 1 cM, a distância correspondente a 1 Mb (1.000 kb). Esta distância genética também não é linear. A fracção de recombinação é, em média, maior na mulher do que no homem, para a maior parte dos cromossomas, embora haja regiões cromossómicas em que se observa o contrário. Ao longo dos cromossomas também diverge, havendo regiões, como os telómeros, com uma elevada fracção de recombinação e os centrómeros com uma fracção de recombinação baixa.

O mapeamento genético do DNA tem a ver com a identificação de locais de restrição específicos para determinadas enzimas, a que estão associados marcadores que funcionam como “sinaleiros” que segmentam o genoma e ajudam a delimitar regiões em função da distância em cM. Dito de outra forma, um mapa de polimorfismos de ligação génica, consiste numa sequência de marcadores polimórficos de DNA distribuídos ao longo de cada cromossoma, a partir das frequências de recombinação de uns em relação aos outros. A localização dos genes é referida a locais de restrição.

4. RECOMBINAÇÃO E CLONAGEM DE DNA

A tecnologia do DNA recombinante abrange a clonagem e a análise do DNA. A recombinação e a clonagem constituem a base do estudo molecular do genoma.

A recombinação de DNA é um mecanismo que permite que dois fragmentos de DNA bicatenar se liguem um ao outro. Este mecanismo é habitualmente preciso, não ocorrendo inserção ou deleção de bases nucleotídicas. A clonagem do DNA consiste na obtenção de múltiplas cópias idênticas de DNA a partir de uma sequência específica.

Os estudos de ligação génica, como na fibrose quística, a correlação da doença com anomalias nos cromossomas humanos, como na DMD, a utilização de sondas de DNA obtidas de genes homólogos de animais para estudos em seres humanos, a dedução das sequências possíveis para o DNA a partir da proteína, são exemplos de métodos a que se pode recorrer para clonar genes humanos.

O processo de identificação e isolamento de sequências específicas de DNA é diferente, consoante se conhece ou não o produto proteico responsável por um carácter ou por uma doença. Quando a proteína é conhecida, o procedimento é designado por clonagem funcional (Fig. V.5).

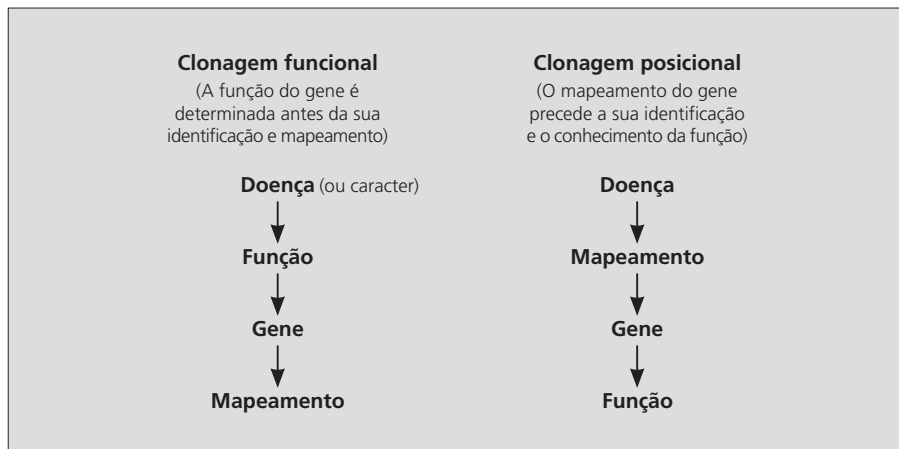


Fig. V.5 – Sequência de acontecimentos da clonagem funcional e da clonagem posicional. Na clonagem funcional a etapa final é o mapeamento do gene. Na clonagem posicional, a etapa final é a determinação da função.

A identificação do gene que codifica o factor VIII da coagulação foi conseguida por este processo, a partir do conhecimento da proteína alterada envolvida na hemofilia. A composição da proteína em aminoácidos é determinada e são deduzidas as sequências de DNA que poderão codificar a proteína, tendo em consideração que a degenerescência do código genético permite que alguns aminoácidos possam ser codificados por diversos códons e que, por isso, haverá diversas alternativas como prováveis sequências de DNA codificador para uma proteína. As sequências oligonucleotídicas codificadas poderão ser usadas como sondas para isolar o gene a partir de uma livraria de DNA, ou para proceder a hibridação *in situ*, possibilitando a localização cromossómica do gene que codifica a proteína. Quando uma sequência oligonucleotídica tem mais de 17 nucleótidos corresponde habitualmente a uma única hipótese recombinatória de bases do DNA e, por isso, será específica para uma única sequência do genoma.

Quando o produto proteico não é conhecido, o procedimento utilizado é designado por clonagem posicional ou genética inversa (Fig. V.5). Ao contrário do procedimento tradicional, este processo possibilita a clonagem e o estudo dos genes antes de se conhecer a proteína alterada responsável por uma doença ou carácter. A primeira etapa consiste na localização cromossómica do gene a clonar e, preferencialmente, do *locus* ocupado pelo gene, recorrendo aos processos de mapeamento. O objectivo é reduzir a extensão de DNA em que, com grande probabilidade, se encontra o gene envolvido. Entre diversos recursos podem ser utilizados a associação de uma alteração cromossómica com a doença, ou múltiplos marcadores polimórficos de DNA em famílias em que a doença ocorre, com o objectivo de encontrar um ou mais marcadores em ligação génica com a doença, como aconteceu com a coreia de Huntington. A partir do momento em que se estabelece ligação génica com um marcador polimórfico, é possível proceder ao mapeamento genético e ao mapeamento físico do *locus*. Após a localização, podem ser obtidos clones genómicos que correspondam à região do gene a identificar. A partir do RNAm codificado pelo fragmento de DNA genómico é obtido um cDNA e a sua sequência é determinada. Seguidamente, são deduzidas as possíveis sequências polipeptídicas e comparadas com sequências previamente conhecidas. Finalmente, a proteína codificada é produzida por meio de vectores de expressão.

4.1. PROCEDIMENTOS PARA CLONAGEM DE DNA

Para clonar um segmento do genoma é necessário ter uma sequência de DNA bicatenar. Quando se parte de RNA, este é convertido em cDNA, mediante uma transcriptase inversa.

O primeiro passo para clonar DNA por meio de recombinação genética consiste na sua fragmentação por uma enzima de restrição seleccionada em função do tamanho dos fragmentos que se deseja obter (Fig. V.6). Estas enzimas são produzidas por algumas bactérias para clivarem o DNA estranho e, dessa forma, se protegerem da invasão por microorganismos, nomeadamente bacteriófagos. As enzimas de restrição fragmentam o DNA sempre que

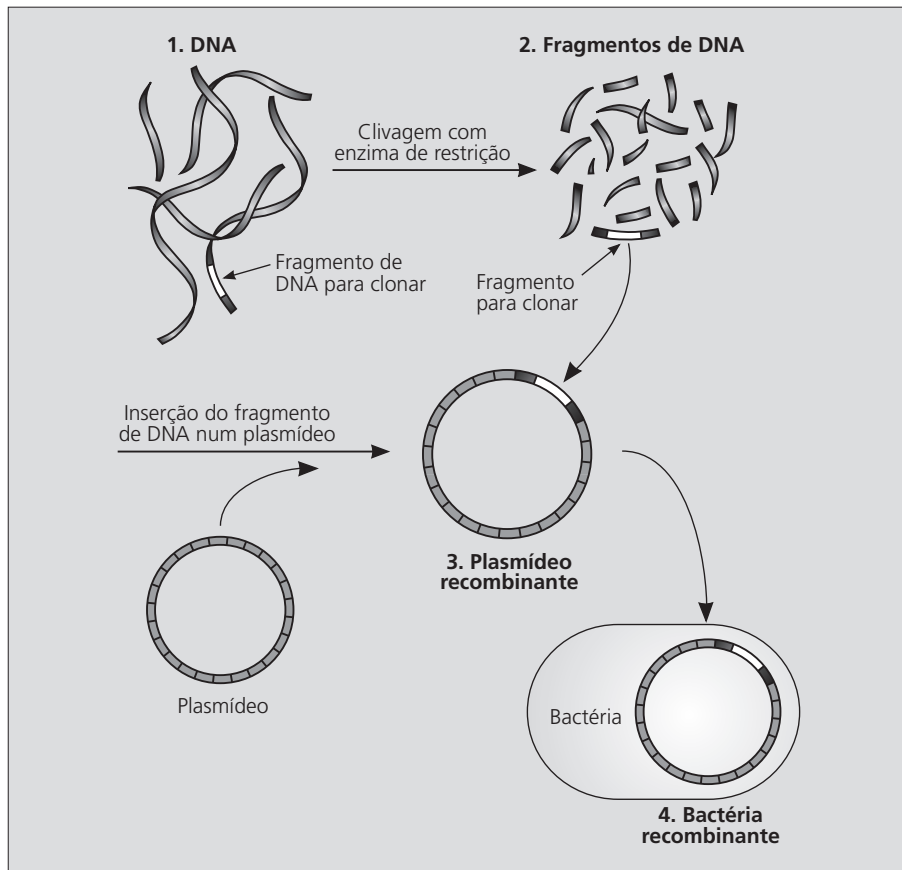


Fig. V.6 – Passos para a clonagem de um fragmento de DNA genómico por recombinação com o DNA de um plasmídeo e obtenção de uma bactéria recombinante.

reconhecem determinadas seqüências específicas que variam habitualmente entre quatro e oito bases. Uma enzima que reconhece uma seqüência nucleotídica de quatro bases corta o DNA, em média, cada 256 bases (4^4 bases, uma vez que são quatro as bases que podem entrar na seqüência de DNA). As enzimas que reconhecem uma seqüência de seis bases cortam o DNA, em média, uma vez em cada 4096 bases (4^6 bases). Para enzimas que reconhecem seqüências de oito pares de bases, os locais específicos são mais raros, encontrando-se, em média, uma vez em cada 4^8 bases. Contudo, a distribuição das seqüências no DNA é irregular e os fragmentos originados por uma enzima são, por isso, de tamanho bastante diverso.

Por outro lado, deve ser escolhida uma enzima que origine fragmentos de DNA em que os topos sejam monocatenares de modo a permitir a sua ligação, por complementaridade, ao DNA do vector com que os fragmentos vão ser recombinados. Assim, são habitualmente seleccionadas enzimas de restrição do tipo II que reconhecem seqüências palindrómicas, ou seja, extensões de DNA com eixo de simetria por conterem a mesma seqüência 5'→3' nas duas cadeias complementares (v.g. 5'GAATTC3'/3'CTTAAG5', para a enzima *EcoRI*) (Fig. V.7).

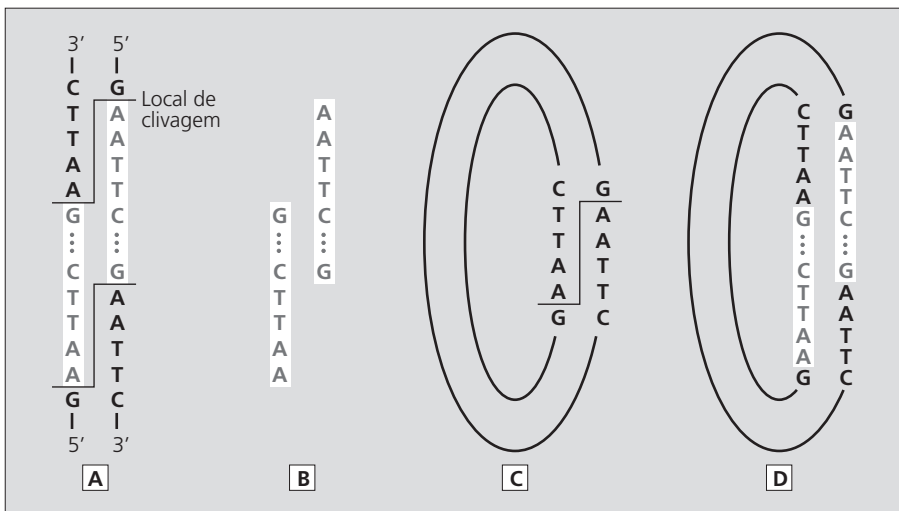


Fig. V.7 – Clonagem de DNA genómico. A – A enzima de restrição seleccionada actua nos locais que especificamente reconhece (seqüência palindrómica 5'GAATC3'/3'CTTAAG5') e origina múltiplos fragmentos. B – Um dos fragmentos de DNA. C – Um plasmídeo é “aberto” com a mesma enzima de restrição usada para a clivagem do DNA. D – O fragmento B de DNA insere-se no plasmídeo, originando-se um plasmídeo recombinante.

A enzima e o vector devem ser seleccionados em conjunto, pois o vector deve possuir a sequência de restrição reconhecida pela mesma enzima que é usada para fragmentar o DNA (Fig. V.7). Por outro lado, deve ter a capacidade necessária para albergar fragmentos de DNA com o tamanho dos que são originados pela restrição do DNA a recombinar. A utilização da mesma enzima permite obter topos monocatenares complementares para os topos originados no DNA a recombinar e, desse modo, por meio de uma ligase, originar DNA recombinante pela inserção de um fragmento de DNA em cada vector.

Há diferentes vectores disponíveis para clonar DNA, com capacidades diferentes, de modo a poderem inserir fragmentos de DNA de tamanho diverso. Os plasmídeos são usados para clonar fragmentos de DNA com um tamanho médio de 4 kb, os fagos podem albergar fragmentos de DNA com cerca de 20 kb e os cosmídeos fragmentos com cerca de 40 kb. Fragmentos maiores até cerca de 350 kb podem ser inseridos em BACs ("bacterial artificial chromosomes"). Para fragmentos de DNA ainda maiores, podendo atingir 1,5 Mb, recorre-se a YACs ("yeast artificial chromosomes"). Os vectores de grande capacidade, nomeadamente os BACs, têm sido de extraordinário valor para proceder ao mapeamento do genoma.

Os vectores recombinantes são individualmente amplificados através da sua multiplicação numa célula eucariota hospedeira (v.g., *E. coli*). A introdução dos vectores recombinantes nas células hospedeiras (e dos vectores da suspensão que não incorporaram um fragmento de DNA) é facilitada pela permeabilização da membrana celular (v.g., por meio de sais de cálcio) e origina a "transformação" das células hospedeiras. Na verdade, a transformação origina um organismo transgénico (Fig. V.6).

Uma vez que nem todas as células hospedeiras são transformadas, a suspensão celular resultante consiste numa mistura de células transformadas (por vectores recombinantes ou por vectores não recombinantes) e de células não transformadas. A sua multiplicação processa-se em meio de cultura adequado.

A selecção das células transformadas é possível por resistência diferencial a antibióticos, proporcionada pela inclusão dos recombinantes. Na realidade, os vectores são produtos de engenharia genética em que foram incluídos genes de resistência a dois antibióticos. Um dos genes (v.g., de resistência à penicilina) é usado para seleccionar as células transformadas contra as células não transformadas, já que estas últimas morrem após adição do antibiótico

ao meio de cultura e as transformadas, tornadas resistentes pelo inclusão de vectores (sejam ou não recombinantes) sobrevivem. O outro gene de resistência a antibióticos (v.g., de resistência à tetraciclina) serve para seleccionar os clones celulares que tenham incluído um vector recombinante, contra um vector não recombinante. Isto é possível porque o arranjo do vector é feito de modo a que a restrição enzimática do DNA do vector corte a cadeia a nível do gene de resistência. Se houver inserção de DNA com formação de um recombinante, o gene de resistência é inactivado pela interposição do fragmento de DNA. Consequentemente, os clones transformados por vectores recombinantes morrem na presença de tetraciclina e são seleccionados. Pelo contrário, as células hospedeiras transformadas por vectores não recombinantes possuem o gene de resistência ao antibiótico e sobrevivem. Os clones celulares sem resistência à tetraciclina são recuperados e as células multiplicadas e guardadas.

Quando é usado DNA genómico, uma grande parte do genoma (embora habitualmente menos de 50%) ficará sob a forma de muitos milhares de moléculas recombinantes em bactérias transformadas, cada bactéria com um recombinante distinto, constituindo-se assim uma livraria de DNA genómico. Podem também ser construídas livrarias específicas para um cromossoma, após separação individual dos cromossomas, por meio de um separador celular automático que permite isolar os cromossomas em função do seu conteúdo em DNA usando a fluorescência como fonte de luz. A partir de RNA mensageiro, é ainda possível construir livrarias de cDNA correspondentes ao DNA codificador representado nos exões. A partir da cadeia simples obtida é sintetizada a cadeia complementar por meio de uma polimerase do DNA, de modo a ficarem disponíveis cadeias bicaténas de DNA passíveis de serem clonadas. Quando é conhecida a sequência da proteína poderão ser sintetizadas as possíveis sequências de DNA codificador, tendo em consideração a degenerescência do código genético, e produzidos recombinantes.

A existência de uma livraria de DNA fornece-nos um meio de acesso a grandes quantidades de um determinado fragmento de DNA, bastando para isso pôr um clone bacteriano em cultura e aguardar pela sua multiplicação e pela replicação do recombinante incluído. A forma mais comum de identificar os fragmentos de DNA clonados consiste na hibridação com uma sonda conhecida de DNA complementar que funciona como marcador.

5. REACÇÃO DE POLIMERIZAÇÃO EM CADEIA

A PCR foi descrita por Kary Mullis, em 1985. Esta metodologia baseia-se na amplificação exponencial selectiva de uma pequena quantidade de cópias de DNA ou mesmo dos 5 a 10pg de DNA de uma única célula (Fig. V.8).

Para executar uma PCR é necessário dispor de DNA (ou RNA que previamente é convertido em cDNA que vai servir de modelo para a replicação, de “primers” ou seja de sequências oligonucleotídicas (com cerca de 20 bp) complementares para as sequências que na direcção 5'→3' e 3'→5' flanqueiam a região a amplificar e que servem para iniciar a polimerização, de uma polimerase do DNA estável a temperaturas da ordem dos 94° C (*Taq* DNA polimerase) obtida a partir de uma bactéria termófila (*Thermus aquaticus*), dos quatro nucleótidos que integram o DNA e de um termociclador para permita fazer variar de uma forma rigorosa o tempo e a temperatura ao longo das três etapas em que se desenvolve um ciclo de amplificação.

Cada ciclo completo de amplificação consiste na desnaturação da dupla cadeia de DNA a uma temperatura próxima da ebulição de modo a obter cadeias monocatenares, ligação dos “primers” e replicação da cadeia modelo por extensão dos “primers” mediada pela polimerase (Fig. V.8). As temperaturas a que se processam as diferentes fases de uma PCR e as condições da solução em que se desenvolve devem ser adaptadas consoante as utilizações. O número de ciclos vai determinar a quantidade de DNA obtido por replicação da sequência especificamente amplificada.

A especificidade da PCR é dada pelos “primers”. Por isso, não é necessário isolar o DNA que se pretende amplificar, ainda que se encontre misturado com DNA de outras espécies. O DNA pode ser obtido de múltiplas fontes. Assim, é possível obter DNA a partir de amostras de múmias egípcias com milhares de anos, de manchas de sangue seco encontradas em tecido ou em papel, de tecidos fixados e incluídos em parafina, para além do DNA genómico, adequadamente purificado.

Quando a quantidade de DNA inicial é muito pequena, a amplificação é feita em duas etapas. Numa primeira etapa, a região de interesse é amplificada com um primeiro par de “primers”. Na segunda fase da amplificação o DNA obtido é amplificado com um segundo par de “primers” que delimita uma região para amplificação menos extensa do que a primeira. A este procedimento foi dado o nome de “nested” PCR.

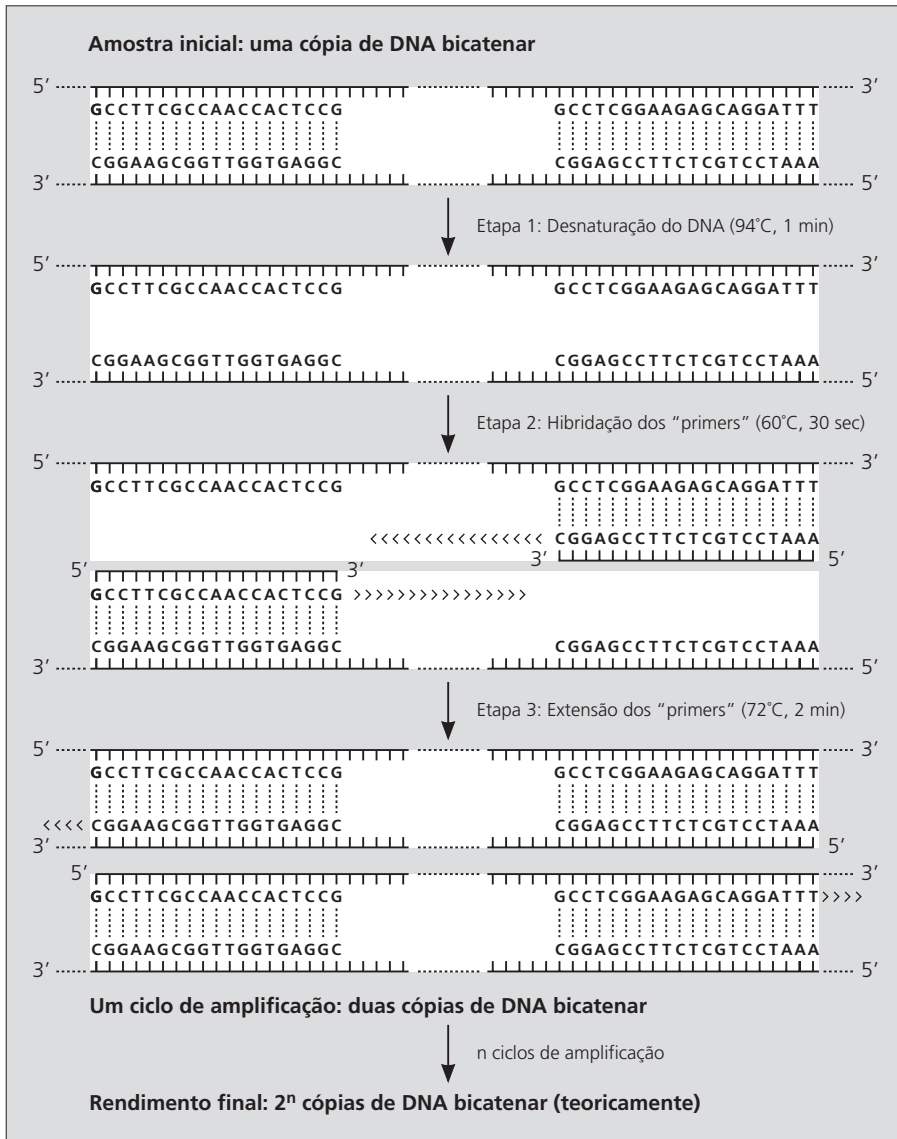


Fig. V.8 – Etapas da reacção de polimerização em cadeia (PCR).

A visualização dos produtos amplificados é habitualmente feita após electroforese e posterior coloração do gel com brometo de etídio, um corante fluorescente por exposição a uma fonte de luz ultravioleta, que se intercala entre as bases do DNA.

Entre as vantagens oferecidas pela PCR contam-se: a possibilidade de amplificar determinadas sequências de DNA definidas pela hibridação dos “primers” a partir de quantidades muito reduzidas de DNA, inclusive de DNA de uma única célula; a possibilidade de estudar sequências de DNA muito fragmentado em condições inviáveis para a clonagem por métodos convencionais; a detecção directa de mutações pelo tamanho dos fragmentos amplificados sem recurso a hibridação ou a melhoria da observação de mutações após hibridação com sondas específicas comparativamente com o resultado obtido quando a hibridação é feita com DNA não amplificado; a utilização do DNA amplificado para sequenciação.

A sensibilidade da PCR permite detectar alterações do DNA de células cuja distribuição num tecido ou suspensão celular seja muito baixa, o que torna esta metodologia muito útil, particularmente no controlo da eficácia dos tratamentos citostáticos e na monitorização das remissões. A detecção de células dum feto masculino em circulação no sangue materno, ainda que numa concentração menor do que uma por cada 70.000 células maternas, pode também ser efectuada por PCR em idades gestacionais tão precoces como as nove semanas e os resultados usados para diagnóstico pré-natal (DPN).

A necessidade de conhecer a sequência de DNA a amplificar para que possam ser sintetizados “primers” específicos para flanquear a região a amplificar, constitui uma das limitações da metodologia. Também constituem desvantagens da PCR, a relativa facilidade com que ocorre contaminação da amostra por DNA estranho, a incorporação errónea de bases durante a replicação com uma frequência aproximada de um em cada 2×10^4 nucleótidos incorporados, a limitada extensão da sequência que é possível amplificar, a amplificação inespecífica e os falsos negativos que pode originar, por ausência de amplificação, quando está presente uma deleção extensa da cadeia de DNA que abranja a região a estudar.

A PCR tem um vasto campo de aplicações clínicas, entre as quais avultam a detecção de polimorfismos, de mutações pontuais, de infecção por microorganismos bacterianos ou virusais antes da exteriorização patológica da sua presença, de doença residual mínima após tratamento citostático de neoplasias hematológicas, o DPN, ou o diagnóstico pré-implantatório (DPI). A investigação forense recorre à PCR, particularmente quando a quantidade de material biológico de um suspeito é muito escassa e é essencial a amplificação prévia para obter quantidades de DNA que possibilitem, por exemplo, o estudo de polimorfismos como os STRs. A investigação fundamental e a

caracterização do genoma humano e de outras espécies, mesmo em termos de caracterização molecular da evolução das espécies, têm igualmente na PCR um recurso poderoso.

6. SEQUENCIAÇÃO DO DNA

A sequenciação do DNA permite determinar a ordem pela qual as bases constituem um fragmento de DNA. Os fragmentos de DNA sujeitos a sequenciação podem ser obtidos por PCR ou por clonagem. Neste último caso, após replicação de um número suficiente de vectores recombinantes por multiplicação do organismo hospedeiro em cultura, os recombinantes são isolados por centrifugação e o fragmento de DNA clonado no vector é separado do DNA do vector por electroforese, após restrição com a mesma enzima utilizada para a sua inserção.

Inicialmente, foram descritos dois métodos diferentes para sequenciar o DNA: um delineado por Maxam e Gilbert e outro por Sanger. Os dois métodos exigem uma electroforese com capacidade para diferenciar fragmentos de DNA em que o tamanho diverge apenas por uma base.

O método de Maxam e Gilbert é baseado na degradação das bases do DNA de um modo específico por reagentes químicos. Após a marcação da cadeia bicatenar de DNA numa extremidade (v.g., com ^{32}P), o DNA é desnaturado e as cadeias monocatenares separadas. São preparadas quatro amostras de DNA e, em cada amostra, uma ou duas das quatro bases é degradada quimicamente em alguns locais da cadeia. Seguidamente, por meio de piperidina, o DNA é partido pelos locais onde as bases foram destruídas. Esta fractura ocorre ao longo da sequência, nos locais correspondentes às bases que aleatoriamente foram degradadas. É produzido assim um conjunto de fragmentos de DNA de comprimento diverso em função da distância entre o topo marcado e a base degradada pela qual foi quebrada a sequência. A electroforese do produto de cada reacção em colunas adjacentes permite separar os fragmentos por tamanho, em cada coluna, e deduzir a sequência de bases do fragmento de DNA.

O método de Sanger é de natureza enzimática e parte também de DNA monocatenar. A partir de um "primer" iniciador da replicação, esta é

promovida por extensão do “primer” mediada por uma polimerase do DNA. Os desoxinucleótidos (dNTPs) de adenina, guanina, citosina e timina são sequencialmente adicionados pela ordem determinada pela cadeia de DNA modelo. Sucessivamente, vão-se estabelecendo as ligações fosfodiester ao longo da cadeia, entre os dNTPs adicionados. Em cada uma das quatro soluções de reacção, além dos quatro dNTPs, um dos quais marcado, existe um di-desoxinucleótido (ddNTP) diferente que compete com o correspondente dNTP e é aleatoriamente adicionado pela enzima ao polímero de DNA em extensão, em vez de um dNTP. Quando um ddNTP é adicionado, é inibida a possibilidade de estabelecer a ligação fosfodiester com um dNTP subsequente. Assim, a extensão do “primer” termina, originando-se, desse modo, fragmentos de DNA de comprimento diverso. Após a electroforese é possível deduzir, a partir do tamanho dos fragmentos, a sequência das bases que compõem o fragmento de DNA analisado.

O método automático de sequenciação do DNA também se baseia na terminação da replicação por um ddNTP. No entanto, cada ddNTP é marcado com um fluorocromo diferente e a electroforese é feita em tubo capilar. Num determinado ponto do capilar incide um feixe laser que excita os fluorocromos e provoca a emissão de fluorescência com um determinado comprimento de onda, em função do fluorocromo encontrado. Cada nucleótido é assim identificado pela cor que emite, por exemplo, o verde para a adenina, o amarelo para a guanina, o azul para a citosina e o vermelho para a timina. Os dados são tratados por “software” adequado, de modo a indicarem a ordem pela qual se encontram no fragmento de DNA original (Fig. V.9).

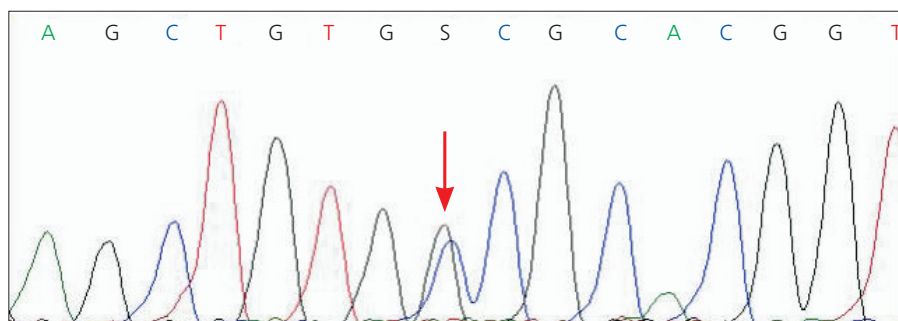


Fig. V.9 – Sequenciação automática do DNA. O DNA foi obtido de sangue periférico. A sucessão de picos, lida da esquerda para a direita, corresponde à ordem das bases nucleotídicas. Cada cor corresponde a uma das bases. A posição S (seta) corresponde ao local da mutação. Na posição da terceira base do códon ocorreu uma mutação, com substituição de uma guanina por uma citosina TGC→TGC.

7. MAPEAMENTO FÍSICO DO GENOMA

Os estudos de ligação génica e o mapeamento genético daí resultante têm sido auxiliares preciosos para o mapeamento físico do genoma. O mapeamento físico do genoma permite a localização cromossómica dos genes e a determinação de distâncias físicas.

Entre os recursos para mapeamento físico de baixa resolução conta-se a relação entre alterações cromossómicas específicas consistentemente associadas a uma doença ou carácter (v.g., deleções, translocações, duplicações). Como exemplo, refira-se a observação consistente (embora rara) de uma deleção associada a retinoblastoma que permitiu localizar o gene supressor tumoral *RB* no cromossoma 13.

A hibridação *in situ* constitui outro método para identificar o *locus* cromossómico correspondente a uma determinada sequência de DNA previamente clonada. Baseia-se na complementaridade de bases que rege a organização do DNA. Para isso, o DNA dos cromossomas de um esfregaço metafásico e o DNA da sonda são transformados em sequências monocatenares através da desnaturação e posteriormente postos em contacto em condições de hibridação. Desse modo, a sonda de DNA vai hibridar com a sequência cromossómica complementar. Como a sonda é previamente marcada (v.g., com um fluorocromo), o local de ligação torna-se visível, o que permite identificar especificamente o local do cromossoma em que se localiza o gene ou a sequência não codificadora em causa. Usando sondas com marcações diferentes, o limite de resolução entre duas sequências de DNA é de cerca de 1-2 Mb para cromossomas metafásicos e de 50 a 100 kb para cromossomas interfásicos.

A hibridação de células somáticas também pode ser usada como recurso para o mapeamento físico do genoma. Consiste na fusão de células humanas com células de rato. Após algumas passagens em cultura, os híbridos conservam apenas um número restrito de cromossomas humanos, de uma forma estável ao longo das divisões celulares. Os cromossomas presentes em cada clone podem ser identificados citogeneticamente. No seu conjunto, um painel de células híbridas pode conter todos os cromossomas humanos, permitindo determinar, por exemplo, qual o cromossoma que codifica uma determinada proteína diferente da proteína correspondente do rato, restringindo assim a um cromossoma o campo de análise para mapeamento.

A clonagem posicional, já referida, é outra das abordagens utilizadas. Na maioria das vezes, parte de uma localização por mapeamento genético.

Uma vez estabelecido o mapeamento do genoma humano e a sua sequenciação, é possível perspectivar e aplicar outras abordagens para a localização física de genes, ainda não identificados. As formas mais comuns assentam na detecção de homologies entre sequências nucleotídicas em diversas espécies (o que não se adequa bem a genes de evolução acelerada como os genes associados à especiação, os genes da determinação sexual e os genes envolvidos da fecundação) e no recurso a sequências de RNAm.

Uma das estratégias consiste no recurso a ESTs. São sequências curtas de cDNA com algumas centenas de pares de bases, obtidas a partir de fragmentos de RNA mensageiro e que correspondem a genes expressos. O seu número é superior ao número de genes. Como correspondem a genes expressos, o alinhamento da sua sequência com a sequência do genoma humano pode levar à identificação da localização cromossômica do gene.

A procura de *loci* ortólogos é outra das estratégias de identificação de genes. Os *loci* ortólogos são sequência de DNA relacionadas com um gene noutra espécie. A sua procura pode ser realizada em DNA, em RNA ou em proteínas. Conhecendo a sequência do gene numa espécie animal, procuram-se os níveis de homologia entre essa sequência e diversas regiões do genoma da espécie humana. Este processo pode, assim, sugerir a localização cromossômica do *locus* ortólogo no homem, através da maior homologia encontrada entre as sequências nucleotídicas das duas espécies.

A localização de genes na sequência nucleotídica do genoma humano pode ainda passar pelo recurso aos genes parálogos, ou seja a membros de uma família de genes que derivam de um gene inicial por duplicação, seguida de divergência. Neste processo, conhece-se um dos genes ou uma proteína na espécie humana. Pela procura de homologia, pode-se chegar à localização cromossômica de um gene, através da maior identidade encontrada entre a proteína conhecida ou a sequência nucleotídica conhecida e as sequências comparadas.

As sequências STS (“sequence tagged sites”) são regiões únicas de DNA para as quais estão disponíveis pares de “primers” que permitem a realização de PCR para estas sequências. Estas sequências podem também ser usadas como marcadores para o mapeamento do DNA ou para a localização de

genes, particularmente na clonagem posicional. O gene *BRCA2* associado a cancro da mama quando está mutado, foi localizado por meio de um marcador STS para o cromossoma 13.

O recurso a STSs, como marcadores, permitiu organizar, em 1995, o primeiro mapa físico do genoma humano.

Há ainda programas de computador desenhados para identificar ORFs e que, ao fazerem o rastreio da sequência de DNA até agora publicada para o genoma, sugerem que determinadas regiões podem corresponder a genes. No entanto, a grande desproporção na espécie humana entre a extensão dos exões e a extensão dos intrões, cria grande “ruído de fundo”, o que torna os resultados obtidos pouco precisos.

8. “MICROARRAYS”

A tecnologia de “microarrays” ou de “microchips” recorre à hibridação para detectar uma mutação entre milhares de fragmentos de DNA ou a expressão de um determinado gene.

Na placa de suporte, em largos milhares de pontos separados e bem identificados (50.000 a 100.000, ou mais), estão adsorvidas sondas de DNA com cerca de 20 bp, destinadas a detectar a presença de eventuais mutações patogénicas em determinados genes ou partes de genes, ou noutras sequências em estudo. O DNA genómico é fragmentado com enzimas de restrição, os fragmentos são marcados com um fluorocromo, desnaturados e passados pela placa. Quando a sequência de um fragmento é complementar para a sonda localizada num determinado lugar da placa verifica-se hibridação. Os demais fragmentos são arrastados pela solução de lavagem. Os fragmentos de DNA que hibridarem podem ser, seguidamente, estudados por sequenciação e os resultados comparados com a sequência considerada normal na espécie humana ou na espécie viva em causa.

Para detectar anomalias de expressão, o RNAm de dois ou mais tecidos é extraído e é produzido cDNA por meio de transcriptase inversa, procedendo-se de forma a que os cDNAs fiquem marcados com um fluorocromo. Ao fazer-se passar a solução com os cDNAs marcados através da placa de

ensaio, haverá hibridação destes com os cDNAs complementares que se encontram adsorvidos na placa. Para cada par molécula fluorescente/gene, é possível quantificar a expressão por medição da intensidade de fluorescência.

CAPÍTULO VI

HISTÓRIA FAMILIAR. HEREDOGRAMA

1. INTRODUÇÃO

Em Genética Médica, e à semelhança de outras áreas da prática clínica, haverá que responder às seguintes questões, para cumprir as regras das boas práticas:

- o que está em causa, face a uma anomalia ou doença, para chegar à etiopatogenia e para deduzir formas de prevenção e de tratamento;
- o que está errado e que pode dificultar o diagnóstico;
- qual o curso da situação, para poder chegar ao prognóstico e para antecipar o que vai acontecer a outros membros da família e mesmo a filhos em gestação;
- que soluções existem, para poder lidar com a situação (v.g., tratamento, prevenção).

Entre os procedimentos que sustentam as boas práticas, inclui-se uma história clínica cuidadosa, com particular incidência na sua vertente familiar. Na investigação da natureza hereditária de uma condição, a história familiar (e não o gene) constitui a unidade fundamental.

A par da recolha da história familiar, deverá ser elaborado um heredograma, de forma cuidadosa. Estes recursos são indispensáveis para estabelecer ou para excluir a natureza hereditária de uma doença ou carácter.

A partir de uma história familiar é possível:

- sustentar intervenções dirigidas para o diagnóstico pré-sintomático de uma doença genética e planear actuações terapêuticas precoces

- destinadas a impedir o desenvolvimento da doença (v.g., polipose cólica familiar (FAP), hipercolesterolémia familiar, FCU);
- fazer prevenção, através do aconselhamento genético;
 - fazer diagnósticos mais correctos;
 - estabelecer prognósticos mais precisos e ter informação mais pormenorizada sobre a evolução da doença;
 - compreender melhor a natureza de uma determinada doença.

2. COMO ELABORAR UMA HISTÓRIA CLÍNICA EM GENÉTICA

Durante a recolha de uma história clínica em Genética é fundamental saber ouvir o entrevistado (em Genética, o *propositus* e os familiares). Desse modo, com algumas perguntas dirigidas em função da patologia presente e palavras ou expressões de incentivo, será possível obter do indivíduo entrevistado as informações e os detalhes relevantes para a situação em estudo, procedendo a uma avaliação crítica das informações e do “diagnóstico” que, por vezes, é sugerido.

De pouco poderá valer a sabedoria, se tivermos pressa, pois a pressa é a maior inimiga da competência!

No processo de recolha de informações sobre a família, o Médico de Família deve ser considerado uma peça chave, devendo ser um dos primeiros contactos a concretizar. Uma vez informado sobre os objectivos do estudo, os dados registados nos seus ficheiros ao longo dos anos e mesmo o seu conhecimento pessoal dos membros da família poderão constituir um auxiliar precioso para a caracterização da situação. Além disso, a localização dos indivíduos a entrevistar, o modo de os contactar e mesmo a colaboração na eventual recolha de amostras de sangue poderão constituir outras vantagens da interacção com o Médico de Família.

2.1. RECOLHA DE DADOS SOBRE O *PROPOSITUS*

Relativamente ao *propositus*, deve ser registada a raça, o grupo étnico, nome, sobrenome, sexo, nome de solteira nos indivíduos do sexo feminino,

data de realização do interrogatório, data do nascimento ou idade actual, local de nascimento, data de aparecimento do carácter ou dos primeiros sintomas em caso de doença, história obstétrica e perinatal.

No que concerne à história obstétrica e perinatal devem ser registados:

- a duração da gravidez;
- a ocorrência de doenças maternas causadoras de embriopatias como as infecções por citomegalovírus, a sífilis, a toxoplasmose ou a rubéola;
- a história e a data de exposição a agentes teratogénicos conhecidos como a hidantoína, o álcool, os anticoagulantes ou os retinóides;
- a tomada de outros medicamentos durante a gravidez e a respectiva administração;
- a exposição a produtos mutagénicos ou radiações ionizantes;
- a existência de alterações metabólicas maternas (v.g., FCU, diabetes);
- a data de aparecimento dos primeiros movimentos fetais;
- a existência de oligoâmnios ou de hidrâmnios;
- o curso do trabalho de parto;
- o comportamento do recém-nascido nos primeiros minutos após o nascimento.

O médico deve estar alertado para eventuais sentimentos de culpa que os pais possam evidenciar, relativamente à tomada de medicamentos durante a gravidez e que poderão não ter qualquer relação com uma eventual alteração congénita observada.

2.2. RECOLHA DE DADOS SOBRE A HISTÓRIA FAMILIAR

A elaboração da história familiar (a partir dos dados obtidos na consulta do *propositus*) não implica custos significativos, é simples e é eficiente, permitindo obter dados relativos a um número elevado de membros da família. No entanto, ao assentar na descrição do *propositus*, enferma da subjectividade que é inerente à interpretação que cada pessoa faz dos factos e das limitações que decorram do seu conhecimento da família. Por outro lado, a precisão do relato é, por norma, progressivamente menor à medida que se ascende através das gerações e se reduz o grau de parentesco. Esta subjectividade poder-se-á traduzir em diagnóstico incorrecto e conduzir a conclusões não adequadas à situação presente na família.

Relativamente à história familiar, devem ser recolhidas informações relevantes para a situação, pelo menos em relação aos familiares em primeiro grau (com 50% de identidade génica): pais, irmãos e filhos do *propositus*. A data da colheita dos dados de cada indivíduo deve ser registada. O interrogatório deve contemplar os seguintes aspectos:

- idade dos progenitores na altura da gravidez (a idade materna avançada pode estar relacionada com a ocorrência de algumas trissomias por não-disjunção, enquanto que a idade paterna avançada pode estar associada a mutações de natureza dominante, como a síndrome de Marfan, a acondroplasia ou a síndrome de Apert);
- deve ser registada a data, a idade de falecimento e a causa de morte dos membros da família já falecidos;
- deve ser inquirida a eventual presença de um traço igual ou semelhante ao do *propositus* nos familiares;
- deve também ser investigada, nos familiares, a presença eventual de traços que ocorram em associação com a situação do *propositus*, embora ausentes neste, o que implica que o médico conheça as diversas manifestações da doença em causa;
- a presença de outros traços de natureza hereditária nos familiares, ainda que não sejam característicos da doença do *propositus*, devem também ser procurados, o que poderá permitir a identificação de outras situações hereditárias na família;
- a ocorrência de doença pouco frequente em algum familiar bem como o eventual falecimento devido a doença rara, devem também ser procurados;
- a investigação de casamentos consanguíneos na família deve ser uma preocupação sempre presente e, particularmente, nas doenças raras de natureza recessiva (em caso de uma resposta não conclusiva, verificar se existem sobrenomes comuns — isonímia — e inventariar a origem, em termos de etnia, de região ou de cidade, quer do *propositus* quer da sua família);
- embora a detecção de filhos resultantes de uma relação extra-conjugal possa constituir uma tarefa difícil, justifica-se uma inventariação cuidada, devido à importância que a sua existência pode ter para a compreensão do aparecimento de determinados fenótipos numa família;
- é igualmente importante a procura, nos membros da família, de doenças comuns com uma componente hereditária, embora diferentes

- da situação presente no *propositus*, uma vez que permitirá oferecer tratamento ou instituir medidas preventivas (v.g., hipertensão arterial, doença das artérias coronárias, ocorrência de cancro em idades jovens, morte prematura seja qual for a causa);
- deve ser registada qualquer doença ou alteração de que haja conhecimento na família;
 - deve também ser investigada na família a eventual ocorrência de abortos de repetição e, se possível, a caracterização dos produtos de abortamento.

Os dados obtidos pelo interrogatório dos membros da família devem constar de registo adequado com total respeito pela privacidade. Os aspectos mais relevantes devem ser apresentados em heredograma claro e conciso, o qual constitui o principal método de estudo de uma doença hereditária. Em utilizações posteriores dos dados registados, deve estar presente que a expressão de determinadas patologias pode ser tardia e que o fenótipo registado se pode ter alterado, pelo que poderá ser necessária uma nova observação do doente.

2.3. EXAME OBJECTIVO E MEIOS COMPLEMENTARES DE DIAGNÓSTICO

O interrogatório do *propositus* e dos elementos da família que apresentem traços relevantes para a caracterização da situação do *propositus*, ou de outras situações presentes na família, deve ser complementado por um exame objectivo detalhado em que sejam anotados todos os aspectos considerados relevantes. O exame objectivo deve ser metódico e dirigido sequencialmente a todas as partes do corpo. O registo de dados quantitativos obtidos por mensuração (v.g., altura, diâmetro da cabeça, distância interpupilar) e dos dermatoglifos e das pregas palmares deve ser rigoroso. Devem também ser feitos registos fotográficos e em vídeo para permitir documentar a situação e para avaliar a evolução.

Os meios complementares de diagnóstico (v.g., estudos bioquímicos, cariótipo, estudos moleculares, exames analíticos ou radiológicos específicos) devem ser utilizados criteriosamente, em função da patologia presente e das indicações e limitações específicas e nunca como exames de rotina.

3. HEREDOGRAMA

O heredograma constitui a melhor forma de proceder ao registo gráfico dos membros de uma família, das suas relações de parentesco e dos dados mais relevantes respeitantes a cada membro, com precisão e de modo inteligível para futuros utilizadores de um arquivo clínico. Habitualmente, a elaboração de um heredograma começa com as informações dadas pelo *propositus*⁽¹⁾. Deve ser registado o máximo de gerações. No entanto, e dado que uma geração humana corresponde, em média, a um período de 30 anos, habitualmente, é reduzido o número de gerações para as quais é possível recolher dados de forma relativamente fidedigna.

A família é o “utensílio” mais precioso para o geneticista. Quanto maior for a família e maiores as fratrias (conjunto de filhos de um casal) mais informação se pode recolher do estudo de uma família (v.g., modo de transmissão de determinada doença ou carácter, cálculo de riscos de recorrência). Em conjunto, a história familiar e o heredograma constituem também a base do diagnóstico de condições hereditárias.

Embora os familiares do *propositus* procurem normalmente colaborar, um ou outro membro da família pode não fornecer as informações mais correctas ou da forma mais completa, seja de uma forma involuntária porque a memória o traiçoa ou porque desconhece realmente a história dos seus antepassados como ocorre frequentemente nas famílias de emigrantes, seja de modo voluntário porque há interesse em ocultar dados considerados desagradáveis ou inconvenientes.

3.1. NORMAS PARA A ELABORAÇÃO DE UM HEREDOGRAMA

A elaboração de um heredograma deve ocorrer no contexto do registo da história familiar e deve reflectir os dados que a história familiar considere relevantes e que sejam passíveis de registo gráfico. Os dados de um heredograma e da história familiar subjacente devem ser verificados sempre que possível, seja pelo cruzamento de informações fornecidas por diversos membros da família, seja recorrendo ao Médico de Família e a informação acumulada em arquivos clínicos hospitalares.

⁽¹⁾ O *propositus*, ou probando, consiste no indivíduo que atrai a atenção do médico para a necessidade de fazer o estudo da família e de elaborar o heredograma. Aplica-se a designação *propositus* se o indivíduo é do sexo masculino; se for do sexo feminino, designa-se por *proposita*; havendo vários elementos, designam-se, respectivamente, por *propositi* ou *propositae*, se forem do sexo masculino ou do sexo feminino.

- Um heredograma, para cumprir devidamente as suas finalidades:
- deve ser claro, informativo e conciso;
 - devem estar representados todos os indivíduos da família incluindo os normais, anormais, abortos e nados-mortos;
 - o *propositus* deve ser identificado com uma seta (assinala o membro da família que foi identificado em primeiro lugar com a doença em causa ou que solicitou a informação);
 - em cada geração os símbolos correspondentes a cada indivíduo devem ficar ao mesmo nível e desenhados pela ordem de nascimentos, da esquerda para a direita (do mais velho para o mais novo);
 - o lado paterno coloca-se de preferência à esquerda e o lado materno à direita;
 - à esquerda do diagrama indicam-se as gerações com um número romano, sendo a primeira geração a mais ancestral; dentro de cada geração a ordem de nascimento (da esquerda para a direita) é indicada com um número árabe (um indivíduo é referenciado indicando, em primeiro lugar, a geração a que pertence seguida do número relativo à sua posição nessa geração (v.g., V.2);
 - deve-se proceder a um registo anexo em que constem os dados relativos a cada membro da família incluído no heredograma (nome, sobrenome, apelidos, endereço, nome e endereço do médico de família contactado, aspectos clínicos que incluam os menores sinais e sintomas), bem como detalhes individuais relativamente, por exemplo, ao processo reprodutivo (v.g., abortos, morte neonatal, interrupções de gravidez, adopções), sem esquecer o grupo étnico (há grupos populacionais em que a prevalência de determinadas doenças é consideravelmente superior à observada na população humana em geral, como é o caso da doença de Gaucher em Ashkenazi);
 - deve ser usada simbologia comumente aceite (Fig. VI.1), embora haja, por vezes, necessidade de recorrer a novos símbolos que devem ser devidamente legendados;
 - um símbolo pode ser subdividido em vários segmentos para representar dois ou mais caracteres ou doenças presentes num membro da família;
 - quando existem dados relativos a informação molecular (v.g., RFLPs), estes são representados dentro de barras colocadas por baixo do símbolo do indivíduo a que dizem respeito; um heredograma assim enriquecido permite traçar o trajecto de um fenótipo mas também de um determinado cromossoma.






















	<i>Propositus</i>
	Indivíduo do sexo masculino, não afectado
	Indivíduo do sexo feminino, não afectado
	Indivíduo de sexo desconhecido
	Número de indivíduos desconhecido sem indicação do sexo
	Três indivíduos normais do sexo feminino indicados colectivamente
	Cinco indivíduos normais do sexo masculino indicados colectivamente
	Quatro indivíduos normais de ambos os sexos indicados colectivamente
	Indivíduo do sexo masculino falecido
	Indivíduo do sexo masculino com análise cromossómica normal
	Indivíduo do sexo feminino afectado
	Indivíduo do sexo masculino examinado; não apresenta a doença
	Indivíduo do sexo feminino não examinado; é provável que tenha a doença do <i>propositus</i>
	Indivíduo do sexo masculino heterozigoto para um alelo autossómico recessivo
	Indivíduo do sexo feminino heterozigoto (portador) para um gene recessivo ligado ao X
	Viveu menos de um dia
	Nado-morto
	Indivíduo do sexo feminino com doença hereditária diferente da apresentada pela proposita
	Gravidez em curso
	Aborto espontâneo
	Interrupção voluntária de gravidez (IVG) de feto do sexo feminino afectado

Fig. VI.1 – Símbolos mais comumente usados na elaboração de heredogramas. (continua)

3.2. INDICAÇÕES PARA A ELABORAÇÃO DE UM HEREDOGRAMA

Um heredograma deve ser elaborado:

- como apoio ao aconselhamento genético;
- quando um *propositus* apresente alterações fenotípicas que se tenham verificado em antepassados, ou quando o seu fenótipo é passível de ser causado por uma alteração cromossómica ou génica herdada de um dos progenitores, ainda que com um fenótipo normal (v.g., translocação equilibrada);
- nas situações em que se suspeite que um indivíduo tem uma doença transmissível de forma hereditária (v.g., cancro familiar, hemofilia);
- perante alterações fenotípicas verificadas em descendentes de indivíduos consanguíneos.

3.3. INFORMAÇÕES QUE SE PODEM OBTER DE UM HEREDOGRAMA

Para além de um registo, um heredograma é um recurso analítico precioso na avaliação das condições de natureza hereditária, a partir do qual se pode:

- analisar a distribuição de um fenótipo e verificar se tem origem em transmissão hereditária ou se é de ocorrência fortuita, em função da presença ou ausência de um padrão característico;
- determinar o tipo de transmissão hereditária subjacente à expressão de determinado fenótipo (dominante, recessivo, ligado ao X, ligado ao Y, “imprinting”, mitocondrial);
- estabelecer o diagnóstico de uma afecção hereditária com características passíveis de confusão com outra patologia; uma vez determinado o padrão de transmissão hereditária dentro de uma família, será possível verificar se ele corresponde ao modo de transmissão descrito para a afecção em causa;
- conhecer quais os membros de uma família que apresentam determinada afecção hereditária e calcular o risco de recorrência para outros elementos da mesma família, como apoio ao aconselhamento genético;

- correlacionar as características de um *propositus* com a ocorrência de casamento consanguíneo, determinando a eventual relação de consanguinidade com o fenótipo;
- avançar para a localização e identificação de genes (estudos de ligação génica).

3.4. DIFICULDADES NA ELABORAÇÃO E INTERPRETAÇÃO DE UM HEREDOGRAMA

Entre os problemas sentidos durante a elaboração de um heredograma e na sua interpretação, incluem-se:

- a acção voluntária de um membro ou membros da família no sentido de não esclarecerem condições que os “envergonham” (v.g., atraso mental, ilegitimidade);
- o desconhecimento das condições pelas quais um determinado elemento passou a fazer parte da família (v.g., adopção);
- o não esclarecimento dos casos em que apenas um dos progenitores contribui com gâmetas para gerar o filho (v.g., recurso a esperma de dador, ilegitimidade) ou em que nenhum dos progenitores contribuiu com gâmetas para gerar o filho (v.g., procriação medicamente assistida resultante de dádiva de ovócitos e de esperma);
- o desconhecimento dos factos que ocorreram em relação aos membros da família para além da 2ª ou 3ª geração e, quantas vezes, mesmo dentro da mesma geração, quando os membros da família vivem em regiões distantes e/ou não convivem regularmente;
- a dificuldade em comprovar o tipo de patologia ou de anomalia presente, seja por não colaboração da família, seja, inclusive, por negação de autorização para serem realizados os estudos necessários ou a sua inventariação;
- a morte precoce de alguns membros da família antes da idade em que a doença presente habitualmente se expressa;
- o reduzido tamanho de algumas famílias.

(Página deixada propositadamente em branco)

CAPÍTULO VII

TIPOS DE HEREDITARIEDADE

1. INTRODUÇÃO

No espectro de distribuição etiológica das doenças, as causas francamente ambientais localizam-se num dos extremos (v.g., infecções, deficiências alimentares) e as causas francamente genéticas no outro extremo (v.g., condições devidas a alterações cromossómicas ou génicas). Numa região intermédia do espectro distribuem-se as alterações em que os factores são parcialmente ambientais e parcialmente devidas à expressão de vários genes (Fig. VII.1).

Na realidade, a grande maioria das características fenotípicas de um ser humano não depende da expressão de um só gene. Quando analisamos expressões fenotípicas como a inteligência, o comportamento ou a estatura, entre outras, estamos face ao resultado da codificação dos genes e da interacção entre os produtos dos genes e o meio. Entre o “meio ambiente” e os cerca de 30.000 a 40.000 genes implicados na formação do fenótipo de um indivíduo adulto estabelece-se um “diálogo” que pode influenciar, por vezes de um modo muito significativo, o resultado da codificação génica, mesmo quando devida a um só gene.

Assim, a determinação de um carácter ou doença pode ser monogénica quando é devida a um único gene ou poligénica quando é devida a diversos genes. Designam-se como multifactoriais, os caracteres ou doenças que resultam da interacção entre as proteínas codificadas por diversos genes e factores ambientais.

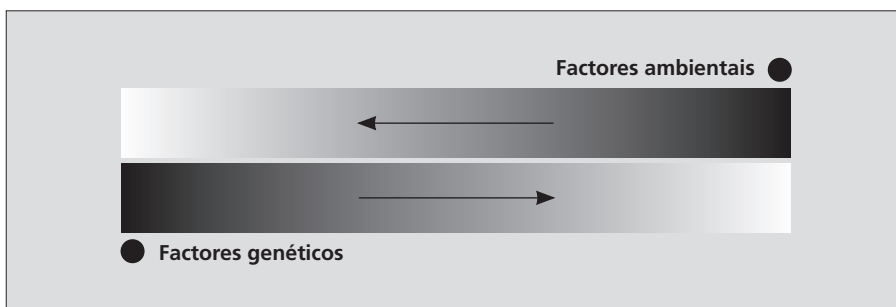


Fig. VII.1 – Interpenetração dos factores ambientais e dos factores genéticos na determinação de caracteres de natureza multifactorial.

Os diferentes tipos de alterações de natureza genética encontram-se discriminados na Tabela VII.1.

Tabela VII.1. Prevalência das doenças de natureza genética em nados vivos

TIPO DE ALTERAÇÃO	% DE CASOS
Cromossómicas	0,6 %
Monogénicas	1,4 %
Multifactoriais:	
Malformações congénitas	0,6 %
Doenças crónicas do adulto	5 %
Mitocondriais	Raras
Alterações genéticas em células somáticas	25 %

Adaptado de Connor e Ferguson-Smith (1993).

As características que diferenciam uma doença genética dos outros tipos de doenças encontram-se sistematizadas na Tabela VII.2.

Tabela VII.2. Características das doenças genéticas

CARACTERÍSTICAS
1. Geralmente, é possível prever o risco de recorrência
2. Para algumas, já é viável a realização de testes predizentes
3. Numa população, a frequência é característica, embora variável entre populações
4. É possível antecipar a possibilidade de terapia génica

Adaptado de Lewis (2003).

Quer nos casos monogénicos, quer nos casos poligénicos, o fenótipo pode resultar unicamente do efeito da alteração genética ou da interacção entre os produtos génicos e factores ambientais. A condição monogénica responsável pela DMD não depende de factores ambientais para se expressar, enquanto que a condição monogénica responsável pela FCU, para se expressar, requer a ingestão de fenilalanina em doses mais elevadas do que a capacidade metabólica do indivíduo afectado permite metabolizar.

2. CONCEITOS FUNDAMENTAIS PARA COMPREENDER A HEREDITARIEDADE

Diz-se que uma situação é de natureza genética quando depende da expressão de um gene ou genes para se manifestar, o que não é sinónimo de hereditário. A alteração genética responsável por uma doença pode ocorrer após o nascimento, como na grande maioria das neoplasias.

A identificação de uma situação como familiar implica que tenha uma maior frequência numa família, comparativamente com a população geral. Contudo, tal facto não é sinónimo de natureza genética, no sentido hereditário. Uma ocupação profissional tradicionalmente assumida ao longo de diversas gerações de uma família pode mimetizar um padrão de distribuição de uma determinada doença pelos membros da família que se assemelhe a um padrão de transmissão hereditária (v.g., cancro do escroto em limpa-chaminés, na ausência de condições de higiene).

Também a designação de uma situação como congénita não implica uma determinação genética, mas tão só que está presente no momento do nascimento. Cerca de 2-3% dos recém-nascidos apresentam uma anomalia congénita relevante.

As condições de natureza hereditária de expressão tardia, embora determinadas geneticamente no momento do nascimento, não estão presentes fenotipicamente.

Apenas uma parte das situações herdadas pelos membros de uma família é puramente genética. De facto, além de partilharem genes idênticos, os membros de uma família tendem, pelo menos temporariamente, a localizar-se num meio ambiente comum, a adoptar idênticos hábitos sociais, alimentares e culturais, factores que podem, de um modo independente ou

por interação com os genes influenciar o aparecimento de uma agregação familiar para determinadas patologias. Em tais condições, poderá ser mimetizada uma condição hereditária.

Para compreender a hereditariedade, é ainda necessário ter presente que as regiões equivalentes de cada par de cromossomas homólogos comportam sequências equivalentes (no caso de sequências codificadoras, comportam alelos cujos produtos têm a mesma função quando não estão mutados).

As duas posições homólogas de um par de cromossomas constituem um *locus*. Cada *locus* é ocupado por dois alelos, ou seja, duas formas alternativas de um gene (uma que foi herdada do pai e outra que foi herdada da mãe).

Quando os dois alelos são idênticos, diz-se que há homozigotia; quando são diferentes (um pode ter uma mutação e o outro não), diz-se que há heterozigotia para o *locus* em causa. Para os *loci* do cromossoma X, verifica-se hemizigotia nos indivíduos do sexo masculino, com excepção das regiões pseudo-autossómicas. Na hemizigotia, um *locus* só comporta um alelo, já que só está presente uma cópia do cromossoma.

O genótipo consiste na combinação de alelos de um determinado *locus* (Fig. VII.2) enquanto que o fenótipo corresponde à expressão de determinado genótipo.

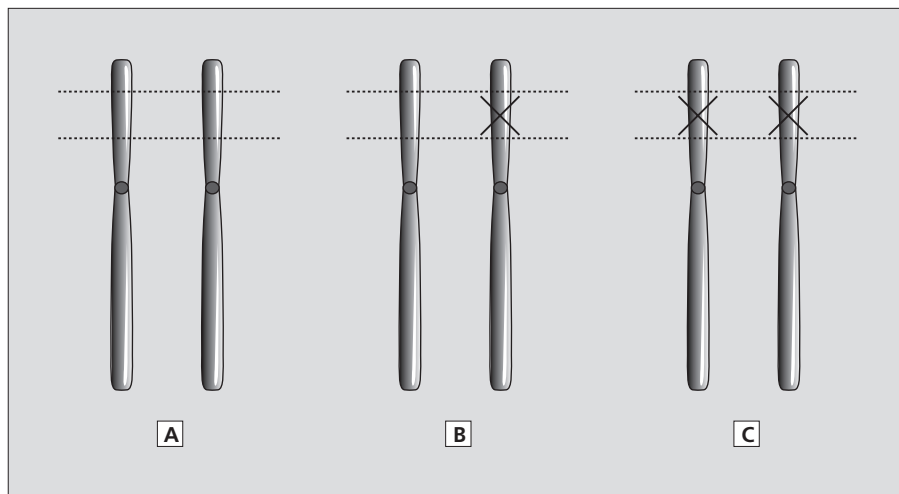


Fig. VII.2 – Tipos de genótipos. Num determinado locus (representado entre as duas linhas paralelas), podem ocorrer duas cópias iguais de um gene (genótipo homozigótico para um alelo normal), um alelo normal e um alelo mutado (heterozigotia), ou duas cópias iguais e mutadas do gene (homozigotia para um alelo mutado). A cruz representa a mutação.

3. CRITÉRIOS PARA IDENTIFICAÇÃO E EXCLUSÃO DAS SITUAÇÕES HEREDITÁRIAS

Suspeita-se que um carácter ou doença resulta da influência de factores genéticos de natureza hereditária quando há agregação familiar. No entanto, na análise da agregação familiar dever-se-á ter presente que os progenitores transmitem a informação genética mas também o “ambiente”. Assim, é necessário ter presente critérios para uma identificação adequada dos casos em que os factores hereditários estão presentes, já que, nestas condições, o risco de recorrência é maior para os familiares de indivíduos afectados em comparação com o risco para elementos da população não aparentados.

Na avaliação das situações com o objectivo de definir a existência de agregação familiar, pode-se recorrer ao registo da história familiar através de um questionário presencial feito ao *propositus*, ao estudo familiar procedendo a entrevistas presenciais dos familiares do *propositus* e/ou ainda ao envio de um questionário escrito aos familiares para obter informações que completem a história familiar.

Para considerar uma condição como hereditária, devem ser ponderados os seguintes critérios:

- a existência de proporções definidas na ocorrência de um carácter ou doença nos indivíduos com ascendência comum, após exclusão das causas ambientais;
- a ausência do carácter ou doença nos membros da família que não têm ascendência comum (v.g., esposa não consanguínea);
- uma idade de aparecimento e um curso da situação característicos, na ausência de factores desencadeantes conhecidos;
- uma maior concordância entre gémeos monozigóticos do que entre gémeos dizigóticos;
- um fenótipo característico do *propositus* associado a uma anomalia cromossómica ou génica, aliada ou não a história familiar de ocorrência de alterações semelhantes.

Após a identificação de uma condição como sendo de natureza hereditária, a diferenciação do tipo de hereditariedade pode necessitar do estudo de um número elevado de famílias.

Em contraposição, a natureza não hereditária de uma condição poderá ser afirmada quando se observar:

- ausência de incidência familiar;
- maior concordância entre gêmeos criados juntos do que entre gêmeos criados em ambientes diferentes;
- oscilações amplas da frequência do carácter ou doença ao longo das gerações, como sinal de causas epidémicas;
- modificação da frequência do carácter após migração da população.

A propósito dos critérios de exclusão, refira-se que uma história familiar que não evidencie uma condição hereditária pode ser enganadora. Frequentemente, uma criança com uma doença genética ou uma malformação é o único membro afectado numa família, devido a uma taxa de recorrência em geral baixa para as anomalias comuns de causa multifactorial (entre 2% e 10%). Para as alterações com um padrão hereditário mendeliano, o risco de recorrência é muito mais elevado. Contudo, como as fratrias são habitualmente pequenas as percentagens esperadas podem não ser encontradas. Por outro lado, fenótipos correspondentes a situações autossómicas dominantes podem ocorrer apenas num dos descendentes de uma família devido a uma mutação “de novo” e não por herança de um gene mutado, presente num dos pais.

As condições de natureza hereditária podem ser classificadas como mendelianas (monogénicas) e não mendelianas. Dentro das condições mendelianas, e tendo presente que um traço ou doença monogénica nem sempre segue os princípios da genética mendeliana como foram descritos por Mendel, existem as formas autossómicas dominantes, autossómicas recessivas, recessivas ligada ao cromossoma X, dominantes ligadas ao cromossoma X e de hereditariedade holândrica ou ligada ao Y. Dentro das condições não mendelianas incluem-se a hereditariedade poligénica, a hereditariedade multifactorial, a hereditariedade mitocondrial, o “imprinting” genómico, o digenismo, a dissomia uniparental e as mutações dinâmicas.

4. HEREDITARIEDADE MENDELIANA

4.1. HEREDITARIEDADE AUTOSSÓMICA DOMINANTE

Os genes relacionados com condições de hereditariedade autossómica dominante localizam-se num dos 22 pares de cromossomas autossómicos. Na Tabela VII.3 estão indicados alguns exemplos de condições com hereditariedade autossómica dominante.

Tabela VII.3. Exemplos de condições de natureza autossómica dominante

EXEMPLOS DE CONDIÇÕES
Acondroplasia
Cancro da mama hereditário
Coreia de Huntington
Distrofia miotónica
Doença poliquística renal do adulto
Esferocitose congénita
Hipercalcémia hipocalciúrica
Hipercolesterolémia familiar
Neurofibromatose tipo I
Polidactilia
Polineuropatia amiloidótica familiar
Polipose cólica familiar
Porfíria aguda intermitente
Síndrome de Apert
Síndrome de Marfan

Para explicar os casos de dominância, considere-se um gene com duas formas alélicas: o alelo D , como forma mutada dominante, e o alelo d , como forma normal do gene. Nos casos de dominância, como ocorre para o alelo mutante na coreia de Huntington, o fenótipo determinado pelo genótipo heterozigótico (Dd) é igual ao fenótipo determinado pelo genótipo homozigótico para a forma mutada do alelo (DD). Na dominância incompleta (v.g., hipercolesterolémia familiar), a presença do genótipo heterozigótico Dd origina um efeito fenotípico intermédio entre a homozigotia para a mutação dominante DD e a homozigotia para a forma normal do alelo dd , sendo possível diferenciar os efeitos fenotípicos dos dois genótipos devido a uma expressão mais acentuada da condição homozigótica. Refira-se, no entanto, que os genótipos homozigóticos para as mutações dominantes são tão raras que é difícil classificar as mutações como dominantes ou dominantes incompletas.

Os traços de natureza dominante (quando em heterozigotia) são menos severos e com início de expressão mais tardio, comparativamente com as manifestações de uma condição homozigótica recessiva. As manifestações fenotípicas de homozigotia para uma mutação dominante são habitualmente muito graves, embora haja casos de coreia de Huntington, em que as manifestações fenotípicas são idênticas em heterozigotia e em homozigotia para o alelo mutado.

Na co-dominância, o fenótipo correspondente ao genótipo heterozigótico *Dd* exprime características próprias de *DD* e de *dd*. O sistema ABO é um exemplo de co-dominância dos alelos. Os grupos sanguíneos do sistema ABO são determinados pelos antigénios de superfície dos glóbulos vermelhos resultantes da expressão dos diferentes pares de alelos que se podem constituir em cada indivíduo por combinação dos alelos A, B e O.

Nos casos de hereditariedade autossómica dominante estará habitualmente presente um genótipo heterozigótico (*Dd*). A partir deste genótipo, por segregação meiótica podem-se formar gâmetas haplóides *D* ou *d* para o *locus* em causa. O outro membro do casal será habitualmente homozigótico para o alelo normal (*dd*) produzindo gâmetas haplóides com o alelo *d*. Recorrendo a uma tabela de Punnett (Tabela VII.4) verifica-se que a probabilidade de ocorrência de genótipos diplóides heterozigóticos (*Dd*) na descendência é de 1 em 2 (50%) e de genótipos homozigóticos (*dd*) é também de 1 em 2 (50%). Uma tabela de Punnett permite indicar o contributo de cada progenitor para a formação dos genótipos possíveis. Na parte superior da tabela indicam-se os dois alelos de determinado *locus* e os gâmetas possíveis de se formarem num dos progenitores e à esquerda da tabela indicam-se os dois alelos do *locus* homólogo do outro progenitor e os respectivos gâmetas. Nos quadrados centrais indicam-se os genótipos que podem ocorrer, tendo em conta as possibilidades combi-natórias entre os gâmetas de cada progenitor.

Tabela VII.4. Hereditariedade autossómica dominante. Genótipos *Dd* e *dd*

		Progenitor normal (<i>Dd</i>)	
		Gâmetas	
		<i>D</i> (p=0,5)	<i>d</i> (p=0,5)
Progenitor normal (<i>dd</i>)	<i>d</i> (p=0,5)	<i>Dd</i> (p=0,25)	<i>dd</i> (p=0,25)
Gâmetas	<i>d</i> (p=0,5)	<i>Dd</i> (p=0,25)	<i>dd</i> (p=0,25)

A proporção de indivíduos afectados na descendência de um casal será diferente se um dos progenitores for homocigótico (DD) para o alelo mutado, condição em que a probabilidade de ter um filho com o carácter ou doença (genótipo Dd) é de 1 em 1 (100%). Se ocorrer o casamento de dois indivíduos heterocigóticos para o alelo mutado (Dd) haverá a probabilidade de 3 em 4 (75%) de ter descendentes com o carácter ou doença (Dd ou DD) e de 1 em 4 (25%) de ter um descendente normal (dd).

A hereditariedade autossómica dominante (Fig. VII.3) é reconhecida pelos seguintes critérios:

- os dois sexos são afectados;
- quer os indivíduos do sexo masculino quer os do sexo feminino transmitem a doença e em igual proporção;
- deve-se observar, pelo menos uma vez, a transmissão entre indivíduos do sexo masculino;
- a doença ou carácter manifesta-se em heterocigotia;
- transmite-se de um modo "vertical", não saltando habitualmente nenhuma geração, encontrando-se, por isso, em gerações sucessivas nas famílias afectadas;
- um indivíduo com a doença ou carácter tem sempre um dos progenitores doente, a não ser que se tenha verificado uma mutação "de novo";
- os filhos normais de um indivíduo com o carácter ou doença terão, por sua vez, todos os seus filhos saudáveis, se casarem com um indivíduo saudável.

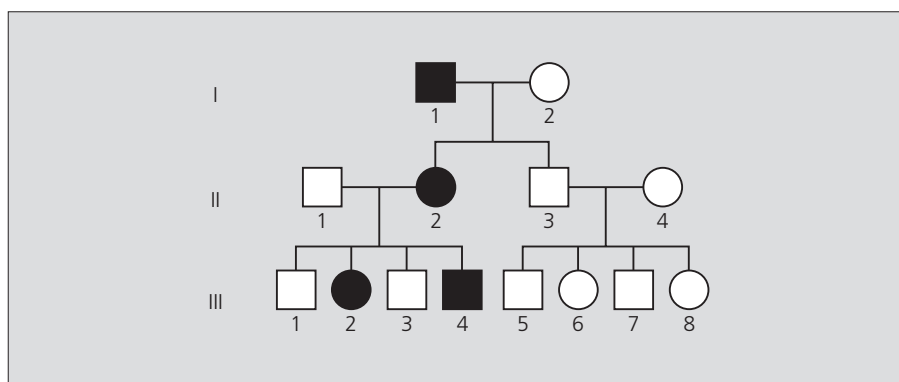


Fig. VII.3 – Hereditograma característico de uma condição hereditária autossómica dominante.

4.1.1. SÍNDROMA DE MARFAN

A síndrome de Marfan é um exemplo de uma condição autossômica dominante. Tem uma frequência de 1 para 10.000 habitantes, sem significativas variações dependentes do sexo ou das etnias. Resulta do efeito pleiotrópico da mutação do gene *FBN1* localizado em 15q21.1, que codifica a fibrilina, uma proteína elástica do tecido conjuntivo. Cerca de 25% dos casos são devidos a mutações “de novo”, pelo que surgem em famílias em que não há história familiar desta síndrome.

As manifestações *major* incluem o aneurisma dissecante e ruptura da aorta ascendente por fragilidade do tecido conjuntivo, prolapso da válvula mitral, anomalias esqueléticas e subluxação do cristalino. Os portadores da mutação são habitualmente magros e altos, com escoliose, os membros inferiores e superiores são bastante compridos e os dedos das mãos são finos e compridos (aracnodactilia). As articulações são excessivamente laxas e observam-se múltiplas estrias cutâneas.

Os portadores desta síndrome devem ser submetidos a vigilância médica periódica a nível ocular e, sobretudo, para detecção precoce da dilatação da aorta de forma a poder ser feita a correção cirúrgica atempada. O uso de medicamentos β -bloqueantes pode atrasar a dilatação da aorta. O diagnóstico pré-sintomático pode ser feito pela pesquisa da mutação do gene *FBN1*, nos membros de uma família que se encontrem em risco.

4.2. HEREDITARIEDADE AUTOSSÔMICA RECESSIVA

A hereditariedade autossômica recessiva também se refere à transmissão de doenças ou caracteres associados a genes localizados num dos cromossomas autossômicos. Na Tabela VII.5, estão indicados alguns exemplos de doenças autossômicas recessivas.

Para exemplificar as condições recessivas, considere-se um *locus* em que a homozigotia para o alelo normal seja representada por *AA* e a condição homozigótica para o alelo recessivo por *aa*. A natureza recessiva de uma mutação traduz-se por perda de função do alelo mutado, ou seja, o alelo não se exprime. Em heterozigotia (*Aa*) conserva-se 50% da actividade por expressão do alelo normal, o que é frequentemente suficiente para assegurar

a função do gene. Na grande maioria das situações, a mutação apenas se torna aparente quando os dois alelos mutados se conjugam num genótipo homocigótico recessivo *aa*, como acontece com múltiplos genes envolvidos no metabolismo (v.g., galactosémia, FCU).

Tabela VII.5. Exemplos de condições de natureza autossômica recessiva

EXEMPLOS DE CONDIÇÕES
Albinismo
Alcaptonúria
Doença de Gaucher
Doença de Tay-Sachs
Drepanocitose
Fenilcetonúria
Fibrose quística
Galactosémia
Síndrome de Hurler
Talassémia

Embora os heterocigotos sejam habitualmente normais em termos clínicos, podem ter manifestações clínicas, como acontece na anemia de células falciformes para o fenótipo HbA/HbS, quando se verifica uma acentuada baixa da pressão parcial de oxigénio atmosférico e se desenvolvem manifestações ocasionais de doença como microenfartes e hematuria. A detecção bioquímica de heterocigotos é frequentemente possível, em particular quando está em causa a produção de uma enzima, já que a determinação da actividade enzimática é, muitas vezes, a base dos testes de detecção de portadores (*Aa*).

Por vezes, as mutações recessivas a nível molecular ou celular, em que a mutação de um alelo equivale a perda de função, podem produzir, a nível familiar, um padrão de transmissão hereditária dominante. O exemplo mais conhecido é constituído pelas mutações no gene *RB*, em relação ao qual a presença do genótipo heterocigótico cria uma elevada susceptibilidade para desenvolver retinoblastoma nas crianças durante os primeiros anos de vida. Contudo, o retinoblastoma não ocorre devido a heterocigotia constitucional (*Aa*, ou seja *RB⁺/RB⁻*) que se encontra em todas as células do organismo de um heterocigoto, mas sim devido à possibilidade de numa ou mais células

da retina se verificar perda de heterozigotia por uma mutação recessiva que inactiva o único alelo normal e origina, nessa célula, um genótipo aa ou seja Rb^-/Rb^- (Fig. XVII.6). O desenvolvimento de retinoblastoma só ocorre durante os primeiros 5-7 anos de vida, já que a partir desta data deixa de haver proliferação das células retinianas. A probabilidade próxima de 90% de ocorrer uma mutação, pelo menos numa das células da retina nos heterozigotos das famílias com retinoblastoma hereditário, origina assim um padrão hereditário autossómico dominante com elevada penetrância.

A hereditariedade autossómica recessiva (Fig. VII.4) caracteriza-se de acordo com os seguintes critérios:

- os dois sexos são afectados e transmitem a doença em igual proporção;
- a hereditariedade é do tipo "horizontal", isto é, os casos aparecem todos na mesma geração, habitualmente numa única fratria;
- a taxa de consanguinidade dos pais de crianças afectadas é habitualmente mais elevada do que na população geral.

Para um indivíduo com uma doença autossómica recessiva rara, a regra consiste em a doença não estar presente nos progenitores ou ancestrais mais distantes, nem nos colaterais.

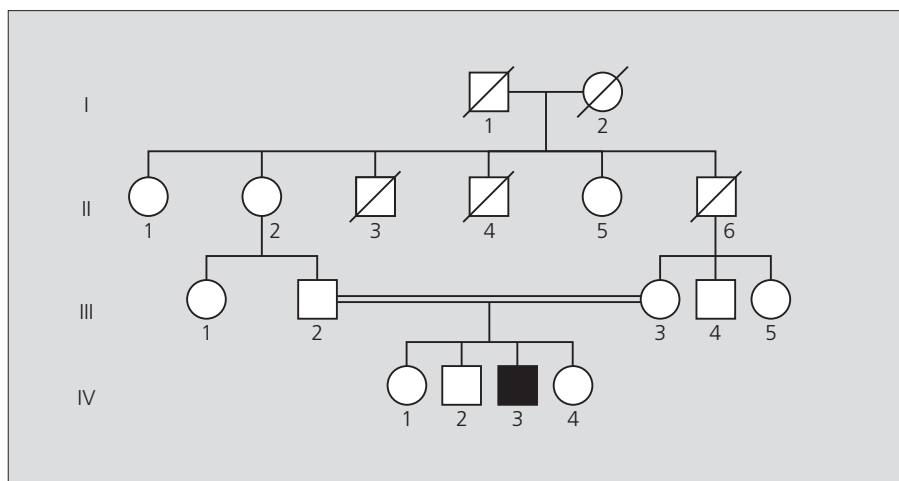


Fig. VII.4 – Heredograma característico de uma condição hereditária autossómica recessiva. As duas linhas paralelas a ligam os indivíduos III-2 e III-3 representam um casamento consanguíneo, de que resultou um filho com fibrose quística, uma doença autossómica recessiva.

Quanto mais rara for a doença na população geral, maior é a probabilidade de existência de consanguinidade entre os progenitores de um *propositus*. Nestas condições, deve ser realizada uma história familiar com particular atenção a este aspecto. A presença de consanguinidade implica, frequentemente, que haja pelo menos um ancestral comum. Um alelo autossómico com uma mutação recessiva pode, por isso, ter sido herdado por dois membros da família que serão heterozigóticos e fenotipicamente normais. Se casarem entre si, cada descendente tem um risco de 1 em 4 de ser homozigótico para a mutação, de 2 em 4 de ser heterozigótico e de 1 em 4 de ser homozigótico para o alelo normal, conforme discriminado na Tabela VII.6. Entre os descendentes sem manifestações da doença, a probabilidade de serem heterozigotos é de 2 em 3.

Tabela VII.6. Hereditariedade autossómica recessiva. Genótipos Aa e Aa

		Progenitor normal (Aa) Gâmetas	
		A ($p=0,5$)	a ($p=0,5$)
Progenitor normal (Aa) Gâmetas	A ($p=0,5$)	AA ($p=0,25$)	Aa ($p=0,25$)
	a ($p=0,5$)	Aa ($p=0,25$)	aa ($p=0,25$)

A proporção de doentes e não doentes descendentes de um casamento entre um heterozigoto (Aa) e um homozigoto doente (aa) é de 1 para 1. Os descendentes de um casamento entre um homozigoto doente e um homozigoto normal serão todos fenotipicamente normais, embora heterozigotos. Se o casamento ocorrer entre dois homozigotos doentes, só nascerão filhos doentes.

Os riscos de recorrência são idênticos, para cada gravidez dentro de um casal.

4.2.1. FIBROSE QUÍSTICA

A fibrose quística é uma doença autossómica recessiva letal, com uma frequência em Portugal de cerca de 1 em 4.000 recém-nascidos e uma frequência de heterozigotos de 1 em 32. No entanto, a frequência de doentes varia entre as populações, sendo menor nos povos orientais e de 1 em 1.700 entre os negros dos Estados Unidos.

A doença é provocada por deficiência dos transportadores de cloro da membrana celular, por mutações do gene codificador *CFTR* localizado em 7q31.2. São conhecidos mais de 800 alelos com mutações associadas à fibrose quística e cerca de 100 variantes alélicas polimórficas. A mutação mais frequentemente observada no norte da Europa, e também em Portugal com uma frequência de 55,5%, consiste na deleção de três bases correspondentes ao aminoácido 508 (F508del). A frequência desta mutação decresce progressivamente do norte para o sul da Europa, encontrando-se em 2/3 dos doentes caucasianos do Reino Unido e em menos de 1/3 dos doentes árabes ou turcos.

Na fibrose quística, o cloro não sai das células e a água passa para dentro das células, provocando a acumulação de muco espesso e seco em alguns órgãos como o pulmão ou o pâncreas. A morte ocorre por insuficiência respiratória em mais de 95% dos casos, como consequência da acumulação de muco espesso, inflamação crónica e infecções bacterianas persistentes.

A gravidade da sintomatologia nos homocigotos contrasta com a ausência de sintomas nos portadores (heterocigotos). Os sintomas resultam, sobretudo, das consequências do mau funcionamento dos canais de cloro a nível do revestimento epitelial do pulmão, sendo variável em função da mutação presente. A mutação F508del está associada a espessura anormal do muco, com dificuldades respiratórias acentuadas e infecções frequentes e graves a nível pulmonar, bem como insuficiência pancreática e dificuldade de aumento do peso.

Quando ocorre o casamento de um heterocigoto conhecido com um caucasiano, e face à elevada frequência da mutação F508del nos caucasianos, está indicado o estudo molecular desta mutação no cônjuge do portador, para apoiar o aconselhamento genético, ainda que não tenha história familiar de fibrose quística. Nestas condições, a ausência desta mutação permite indicar um risco baixo para ocorrência de fibrose quística em descendentes do casal.

Nos fetos em que seja detectada hipercogenidade intestinal no segundo trimestre da gravidez, o risco para fibrose quística será cerca de 120 vezes maior do que nas gravidezes em geral.

4.3. HEREDITARIEDADE RECESSIVA LIGADA AO CROMOSSOMA X

A hereditariedade recessiva ligada ao X diz respeito a caracteres ou doenças determinados por genes localizados no cromossoma X. Na Tabela VII.7 estão indicadas algumas condições de natureza hereditária recessiva ligada ao X.

Tabela VII.7. Exemplos de condições de natureza hereditária recessiva ligada ao X

EXEMPLOS DE CONDIÇÕES
Agamaglobulinemia
Daltonismo
Deficiência em G6PD
Deficiência imunológica grave combinada
Diabetes insípida nefrogênica
Distrofia muscular de Becker
Distrofia muscular de Duchenne
Hemofilia A e B
Ictiose
Síndrome de Hunter

G6PD – desidrogenase da glicose-6-fosfato

Nas mulheres há dois cromossomas X. Como é raro haver homozigotia para os *loci* do cromossoma X, as doenças hereditárias recessivas ligadas ao cromossoma X exprimem-se, habitualmente, apenas nos indivíduos do sexo masculino devido à hemizigotia, com excepção das anomalias associadas às regiões pseudo-autossómicas. A presença de hemizigotia no sexo masculino implica que uma mutação recessiva num gene ligado ao cromossoma X se expresse a nível fenotípico, o que corresponde a uma condição designada por pseudo-dominância.

Nos casos de mutação em genes ligados ao X, em que é possível estabelecer a diferença entre a falta parcial e a falta completa do produto codificado (v.g., deficiência em G6PD), podem ser definidos três fenótipos nas mulheres: um fenótipo correspondente à presença dos dois alelos normais, outro intermédio associado a heterozigotia e um terceiro correspondente à presença dos dois alelos mutados. A probabilidade de ocorrência desta última condição, em casamentos ao acaso, é igual ao quadrado da frequência da doença no sexo masculino. Nos indivíduos do sexo masculino, apenas se identificam dois fenótipos: um correspondente a hemizigotia para o alelo normal e o outro correspondente a ausência de produto devido a mutação do único alelo presente no sexo masculino.

As características da hereditariedade recessiva ligada ao X (Fig. VII.5) permitem descrevê-la como “oblíqua”. Obedece aos seguintes critérios:

- os homens são, quase sempre, os únicos afectados;
- a transmissão do alelo mutado aos filhos de um casal verifica-se através de mulheres portadoras não afectadas;
- a transmissão de uma mutação entre indivíduos do sexo masculino não é observada em gerações sucessivas, mas um alelo mutado causador de doença numa geração, pode ser transmitido a um neto passando por uma filha portadora obrigatória.

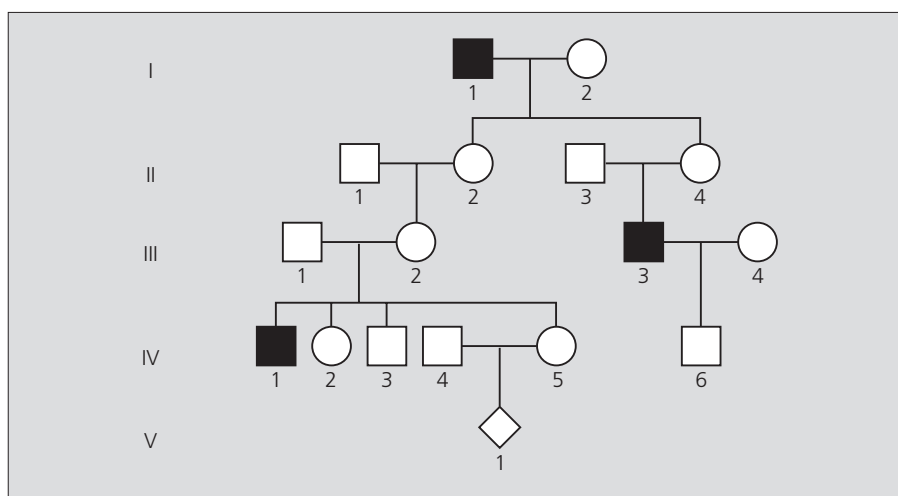


Fig. VII.5 – Heredograma característico de uma condição hereditária recessiva ligada ao cromossoma X.

Os descendentes de homens doentes por mutação localizada no cromossoma X (genótipo X^mY) casados com mulheres normais e homocigóticas são normais, apesar de todas as filhas serem portadoras, por receberem do pai, obrigatoriamente, o gonossoma X com a mutação (Tabela VII.8). Na descendência do casamento de um homem normal com uma mulher portadora (genótipo X^mX), todas as filhas serão normais (metade das quais portadoras) e metade dos filhos será afectada (Tabela VII.9). Na descendência do casamento de um homem doente com uma mulher portadora, metade dos descendentes será normal e metade será afectada (sexo masculino e sexo feminino).

Tabela VII.8. Hereditariedade recessiva ligada ao X. Genótipos X^mY e XX

		Progenitor masculino (X^mY)	
		Gâmetas	
		X^m (p=0,5)	Y (p=0,5)
Progenitor feminino (XX) Gâmetas	X (p=0,5)	X^mX (p=0,25)	XY (p=0,25)
	X (p=0,5)	X^mX (p=0,25)	XY (p=0,25)

Tabela VII.9. Hereditariedade recessiva ligada ao X. Genótipos XY e X^mX

		Progenitor masculino (XY)	
		Gâmetas	
		X (p=0,5)	Y (p=0,5)
Progenitor feminino (X^mX) Gâmetas	X^m (p=0,5)	X^mX (p=0,25)	X^mY (p=0,25)
	X (p=0,5)	XX (p=0,25)	XY (p=0,25)

Para além da situação já referida, em que as mulheres podem ser afectadas por uma doença recessiva ligada ao X, a ocorrência de mulheres doentes pode ainda observar-se quando se verifique lionização assimétrica que conduza a que um número de células superior a 50% tenha o cromossoma normal inactivado, em descendentes de um casal em que a mulher seja portadora e case com um homem normal em que tenha ocorrido uma neomutação no cromossoma X, ou ainda em casos de monossomia completa ou parcial do cromossoma X (v.g., síndrome de Turner) em que o cromossoma herdado seja o portador da mutação recessiva.

Nas doenças recessivas ligadas ao X, as manifestações decorrentes da heterozigotia presente nas mulheres, são mais acentuadas do que as manifestações observadas em heterozigotia nas doenças autossómicas recessivas. Na realidade, nas doenças autossómicas recessivas todas as células produzem 50% da proteína normal, enquanto que nos casos ligados ao cromossoma X, nos homens não há produção quando está presente o cromossoma com o alelo mutado e nas mulheres heterozigóticas há um cromossoma com o alelo normal e outro com o alelo mutado. Contudo, como a lionização inactiva aleatoriamente um dos cromossomas em cada célula, encontram-se 50% das células que produzem a quantidade de proteína esperada e 50% das células que não produzem proteína e estão em condições idênticas às células do homem hemizigótico para a mutação.

No caso da deficiência em G6PD, verifica-se, assim, que quando há contacto com os factores desencadeantes de hemólise (v.g., algumas drogas como a primaquina, infecções, ingestão de favas) há manifestações da doença embora de uma forma menos grave do que no sexo masculino.

4.3.1. Distrofia muscular de Duchenne

A DMD é um exemplo de doença recessiva ligada ao X. É a distrofia muscular mais frequente. Habitualmente só ocorre em indivíduos do sexo masculino, com uma frequência de 1 em 3.000 recém-nascidos do sexo masculino. Entre as mulheres, 1 em 1.500 é portadora.

Na DMD há, habitualmente, ausência de distrofina, uma proteína que entra na formação das fibras musculares. O gene *DMD* que codifica esta proteína está localizado em Xp21. Cerca de 2/3 das mutações encontradas são deleções, sendo a maioria dos restantes casos devida a diversas mutações pontuais. As neomutações são responsáveis por 1/3 dos casos de doença, sendo os restantes 2/3 resultantes da transmissão de um alelo mutado presente na mãe heterozigótica.

As manifestações da doença têm início por volta dos 3 a 5 anos de idade. São detectáveis níveis elevados da creatinase sérica, aliás presentes desde os primeiros dias de vida. As crianças têm dificuldade em se pôr de pé, em subir escadas e em correr. Observa-se também pseudohipertrofia dos músculos da barriga da perna. A fraqueza muscular tem início na cintura pélvica e estende-se progressivamente aos músculos mais periféricos. Em cerca de 25% dos casos há um ligeiro atraso mental. A incapacidade para a marcha e a necessidade de usar uma cadeira de rodas é habitual cerca dos 10 a 12 anos. A morte ocorre antes dos 20 anos de idade, para a maioria dos doentes.

Face a um caso de DMD, é necessário esclarecer se a mãe é portadora, ou se está presente uma mutação “de novo”. A condição de portadora obrigatória pode ser afirmada quando os estudos moleculares identificam uma mutação patogénica no gene *DMD*, ou então por uma história familiar convincente (se tiver dois filhos afectados, ou um filho e um irmão afectados) a que se podem associar valores elevados da creatinase circulante na mãe. Sendo a mãe portadora obrigatória, o risco de recorrência numa nova gravidez, é de 50% para os descendentes do sexo masculino.

4.4. HEREDITARIEDADE DOMINANTE LIGADA AO CROMOSSOMA X

A hereditariedade dominante ligada ao X inclui condições determinadas por alelos localizados em *loci* do cromossoma X, com mutações dominantes. É um tipo de hereditariedade pouco frequente, de que estão indicados alguns exemplos na Tabela VII.10.

Tabela VII.10. Exemplos de condições de natureza hereditária dominante ligada ao X

EXEMPLOS DE CONDIÇÕES
Amelogénese imperfeita
Hipertricosse generalizada congénita
Incontinentia pigmenti
Raquitismo vitamino-resistente
Síndrome de Rett
Síndrome orofaciodigital tipo I

Manifesta-se nas mulheres heterozigóticas (X^dX) e homozigóticas (X^dX^d) e nos homens hemizigóticos (X^dY). A presença de um único alelo mutado no sexo feminino (heterozigotia) está associada a menor severidade do que no sexo masculino, uma vez que apenas metade das células exprimem o alelo mutado devido à lionização.

A hereditariedade dominante ligada ao X apresenta as seguintes características (Tabela VII.11, Tabela VII.12 e Fig. VII.6):

- um homem doente transmite a doença a todas as suas filhas, enquanto que os seus filhos serão todos normais;
- uma mulher doente heterozigótica que case com um homem normal transmite a doença a 50% da descendência, independentemente do sexo;
- uma mulher homozigótica transmite a doença a todos os seus descendentes;
- nas famílias há um maior número de mulheres afectadas comparativamente com o número de homens afectados.

Tabela VII.11. Hereditariedade dominante ligada ao X. Genótipos X^dY e XX

		Progenitor masculino (X^dY)	
		Gâmetas	
		X^d (p=0,5)	Y (p=0,5)
Progenitor feminino (XX)	X (p=0,5)	X^dX (p=0,25)	XY (p=0,25)
	Gâmetas	X (p=0,5)	X^dX (p=0,25) XY (p=0,25)

Tabela VII.12. Hereditariedade dominante ligada ao X. Genótipos XY e X^dX

		Progenitor masculino (XY)	
		Gâmetas	
		X (p=0,5)	Y (p=0,5)
Progenitor feminino (X^dX)	X^d (p=0,5)	X^dX (p=0,25)	X^dY (p=0,25)
	Gâmetas	X (p=0,5)	XX (p=0,25) XY (p=0,25)

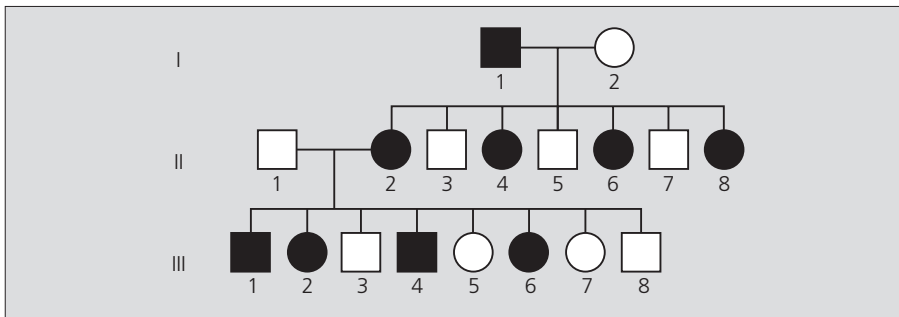


Fig. VII.6 – Heredograma característico de uma condição hereditária dominante ligada ao cromossoma X.

4.5. HEREDITARIEDADE LIGADA AO CROMOSSOMA Y

A hereditariedade ligada ao cromossoma Y também toma a designação de hereditariedade holândrica. Os genes ligados ao cromossoma Y são em pequeno número (v.g., gene *SRY*, gene *MIC2*).

A hereditariedade holândrica apresenta as seguintes características (Tabela VII.13 e Fig. VII.7):

- só os homens portadores da mutação no cromossoma Y (Y^d) exprimem e transmitem o gene, que se manifesta sempre;
- todos os filhos do sexo masculino de um homem afectado recebem o alelo existente no cromossoma Y^d (paterno);
- em condições normais de disjunção cromossômica e na ausência de recombinação anormal, nenhuma filha é portadora.

Tabela VII.13. Hereditariedade ligada ao Y. Genótipos XY^d e XX

		Progenitor masculino (XY ^d)	
		Gâmetas	
		X (p=0,5)	Y ^d (p=0,5)
Progenitor feminino (XX)	X (p=0,5)	XX (p=0,25)	XY ^d (p=0,25)
Gâmetas	X (p=0,5)	XX (p=0,25)	XY ^d (p=0,25)

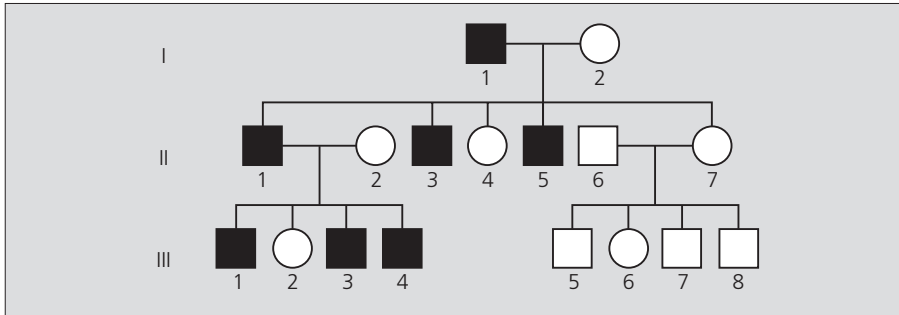


Fig. VII.7 – Heredograma característico de uma condição hereditária ligada ao cromossoma Y.

4.6. DIFICULDADES DE IDENTIFICAÇÃO DAS CONDIÇÕES HEREDITÁRIAS

Os caracteres ou doenças determinados de uma forma mendeliana permitem habitualmente uma fácil identificação do tipo de hereditariedade presente e o cálculo de probabilidades em termos de risco para outros membros da família seguindo a tabela de Punnett e o conhecimento do grau de penetrância. Contudo, há diversas variáveis que dificultam a identificação da natureza mendeliana de um carácter ou doença: mutações letais, mutações “de novo”, mosaicismo gonadal, polialelismo, heterogeneidade génica, pleiotropismo, penetrância incompleta, expressividade variável, epistasia, influência do sexo, limitação ao sexo, fenocópias, teratogéneos, paternidade extraconjugal.

4.6.1. MUTAÇÕES LETAIS

São designadas como mutações letais, as alterações génicas que são letais “in utero” e as que, possibilitando o nascimento, não permitem que o indivíduo afectado se reproduza. Os casos de mutações do cromossoma X letais “in utero” para o sexo masculino são aparentes por apenas existirem

doentes do sexo feminino, por as mulheres doentes serem descendentes de progenitoras doentes, por haver excesso de abortos do sexo masculino e por se observar uma redução da proporção de filhos do sexo masculino, habitualmente saudáveis. Quando os descendentes do sexo masculino são doentes têm um cariótipo 47,XXY. Com este cariótipo, é anulada a hemizigotia para o cromossoma X com a mutação (46, XY).

A mutação dominante associada ao tipo II da *osteogenesis imperfecta* é letal no período perinatal, sendo, por isso, devida a neomutação em todos os casos de doença.

A *incontinentia pigmenti* tipo II, uma condição dominante ligada ao X (Xq28), é letal em homozigotia. Habitualmente, apenas é letal "in utero" e conduz a aborto espontâneo para *conceptus* do sexo masculino (hemizigóticos) que tenham herdado da mãe (heterozigota e doente) o cromossoma X com o alelo mutado. De igual modo, também são letais "in utero" para o sexo masculino, a síndrome de Rett, a síndrome orofaciodigital tipo I e a síndrome de Goltz (síndrome da hipoplasia dérmica focal).

A DMD, não sendo letal "in utero", é, habitualmente, um letal genético para os indivíduos do sexo masculino, por, em regra, não permitir a sua reprodução.

4.6.2. MUTAÇÕES "DE NOVO"

Há condições de natureza autossômica dominante e condições recessivas ligadas ao X em que as mutações "de novo" são bastante frequentes (v.g., em 80% dos casos de acondroplasia, em 50% dos casos de neurofibromatose tipo I). A doença ou carácter não está presente no progenitor e estabelece-se nas gerações subsequentes, quando não torna inviável a reprodução do indivíduo portador. Para o primeiro indivíduo afectado, a ausência de história familiar não permite caracterizar com segurança a situação como hereditária nem qual o tipo de hereditariedade. Nas gravidezes em que o progenitor masculino tem idade avançada, o principal factor de risco resulta de mutações "de novo" transmitidas pelo gameta masculino.

Quando uma mutação "de novo" ocorre durante a gametogénese, é muito provável que apenas um dos descendentes exprima o fenótipo correspondente, sendo negligenciável o risco de recorrência em gestações subsequentes. Quando a mutação "de novo" ocorre numa fase precoce da embriogénese das células germinais, pode-se formar um mosaicismo gonadal. Os progenitores não apresentam o fenótipo dos descendentes.

Uma história clínica bem elaborada que permita distinguir entre uma condição herdada e uma condição originada por mutação “de novo”, pode ser a chave para realizar o cálculo relativo ao risco de recorrência. A identificação do tipo de hereditariedade associado à patologia presente é também essencial para indicar o risco em relação à descendência do indivíduo afectado.

4.6.3. MOSAICISMO GONADAL

O mosaicismo diz respeito à presença num indivíduo de células com diferente constituição genética, oriundas de um mesmo ovo. No mosaicismo gonadal, há múltiplas espermatogónias ou ovócitos com a mutação, a par de células germinais sem a mutação. Sendo um mosaico gonadal, o gene mutado pode ser transmitido a vários descendentes. Habitualmente, a mutação não se expressa no portador de mosaicismo gonadal, por a mutação não estar presente na generalidade das células somáticas.

A presença de mosaicismo gonadal foi demonstrada em casos como a *osteogenesis imperfecta* tipo II, a hemofilia, a DMD, a esclerose tuberosa e a acondroplasia.

4.6.4. POLIALELISMO

O facto de um gene poder apresentar diversas formas alternativas numa população, em número muito superior às duas posições de um *locus*, permite que ocorram, para o mesmo *locus*, diversos genótipos em diferentes indivíduos. São exemplos desta condição, os alelos A1, A2, B e O do sistema ABO, responsável pelos grupos sanguíneos ABO, ou os múltiplos alelos conhecidos para os genes HLA do sistema *major* de histocompatibilidade.

Os diversos alelos encontram-se na população, com frequências diversas. As diferentes combinações de alelos podem originar, por vezes, dificuldades de correlação entre o genótipo e o fenótipo. Esta dificuldade poderá ser particularmente sentida quando existem diversas formas de alelos mutados cuja expressão influencia significativamente o fenótipo (v.g., a diferente severidade e o atingimento diferencial de órgãos na fibrose quística para diferentes mutações (diferentes alelos) do gene *CFTR*, ou a diferente profundidade do atraso mental na FCU em função dos alelos presentes).

As dificuldades sentidas para se encontrarem órgãos para transplantação (v.g., do rim) que respeitem as identidades alélicas mínimas entre dador e receptor, de forma a reduzir o risco de rejeição, assentam no elevado polimorfismo do sistema HLA de histocompatibilidade.

4.6.5. HETEROGENEIDADE GÉNICA

Nos casos de heterogeneidade génica, observam-se fenótipos clinicamente idênticos provocados pela expressão de genes diversos. As mutações localizam-se em diferentes *loci*, mas a expressão clínica não é diferenciável.

Como exemplo, refira-se a FCU, em que a elevação da fenilalaninemia pode estar associada, na grande maioria das vezes, a deficiência da enzima fenilalanina hidroxilase. No entanto, pode também ter origem, num reduzido número de casos, na deficiência da enzima pteridina reductase ou na síntese deficiente da biopterina. São enzimas codificadas por genes diferentes, mas qualquer deles, quando mutado, pode originar FCU.

Refira-se também a heterogeneidade observada para a *osteogenesis imperfecta*. A tripla hélice do colagénio é constituída por duas cadeias $\alpha 1$ e por uma cadeia $\alpha 2$, sendo as subunidades da cadeia $\alpha 1$ codificadas pelo gene *COL1A1* localizado no cromossoma 17 e a cadeia $\alpha 2$ pelo gene *COL1A2* localizado no cromossoma 7. A mesma doença pode ser observada em duas famílias distintas, encontrando-se numa família a mutação no gene *COL1A1* e na outra no gene *COL1A2*.

Também o desenvolvimento de carcinoma colorrectal hereditário não-polipótico foi associado a mutações em qualquer dos genes seguintes: *MSH2* (2p16), *MLH1* (3p), *PMS1* (2q31-q33) ou *PMS2* (7p22).

A doença de Charcot-Marie-Tooth, uma neuropatia periférica hereditária, é outro exemplo em que as mutações em diversos genes originaram, inclusive, diferentes formas de hereditariedade. Nesta doença, a condição autossómica recessiva (frequência de 1:70.000), é a mais grave, seguida da forma dominante ligada ao X (1:28.000) e da forma autossómica dominante (1:3000) como a menos grave.

Um outro exemplo de heterogeneidade génica é dado pela surdez. Dos casos de etiologia desconhecida, 40% a 60% são de natureza autossómica recessiva, 20% a 25% de natureza autossómica dominante, 2%

ligados ao X e 20% a 30% de causa ambiental ou multifactorial. Em casamentos entre surdos-mudos autossômicos recessivos, 5% a 14% dos filhos têm surdez congênita e os restantes têm audição normal. Pelas regras da hereditariedade mendeliana, esperar-se-ia que na descendência de um casal de indivíduos afectados por uma condição autossômica recessiva, todos os descendentes fossem afectados. O nascimento de filhos com audição normal demonstra que há vários genes responsáveis pela surdez, quando em homozigotia para uma mutação recessiva. Partindo de dois *loci* homozigóticos recessivos, um em cada progenitor surdo, os descendentes serão heterozigóticos para os *loci* e, por isso, com audição normal (Fig VII.8).

A heterogeneidade pode ocorrer para um mesmo *locus*, sob a forma de heterogeneidade alélica. Nestes casos, um fenótipo ou um fenótipo muito semelhante é determinado, de um modo independente, pelos diferentes alelos que podem ocorrer num mesmo *locus*. A possibilidade de ocorrerem diversas formas alélicas mutadas num mesmo *locus*, torna possível a ocorrência de heterozigotos compostos. Estas combinações podem influenciar em maior ou menor grau a severidade do fenótipo.

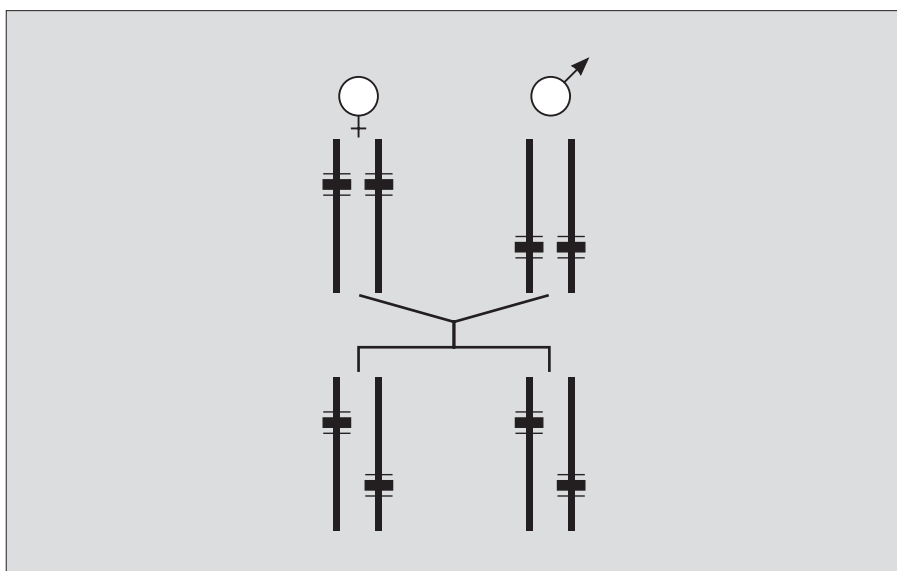


Fig. VII.8 – Heterogeneidade génica. Os dois progenitores são afectados devido a homozigotia recessiva para genes diferentes. Os descendentes do casamento entre eles não serão afectados, embora todos sejam heterozigóticos para os dois *loci* em causa.

A heterogeneidade pode conduzir a erro de diagnóstico como acontece com a homocistinúria em que é mimetizada a síndrome de Marfan. Na homocistinúria observa-se estatura elevada, alterações esqueléticas (escoliose, deformações da parte anterior do peito) e luxação do cristalino. No entanto, a nível cardiovascular, em vez do prolapso da válvula mitral e da dilatação da aorta ascendente presentes na síndrome de Marfan, existem complicações trombóticas. Por outro lado, há homocistina na urina. O tipo de hereditariedade é autossómica recessiva, enquanto que na síndrome de Marfan é autossómica dominante.

O reconhecimento da heterogeneidade alélica é importante em termos de prognóstico, de tratamento adequado e de aconselhamento genético. Cada forma de hereditariedade requer aconselhamento específico, pelo que o reconhecimento da heterogeneidade e a identificação do tipo de hereditariedade são essenciais, embora o diagnóstico laboratorial seja habitualmente demorado e dispendioso.

4.6.6. PLEIOTROPISMO

No pleiotropismo, a mutação de um único gene tem reflexos na expressão de vários fenótipos, pelo facto de uma única proteína actuar em diversos órgãos do corpo humano. Um exemplo do efeito pleiotrópico observa-se na neurofibromatose tipo I. Sendo uma mutação monogénica e de natureza autossómica dominante, está na origem de manchas de “café com leite”, hamartomas da íris, gliomas do nervo óptico e do quiasma, neurinomas do nervo acústico, meningiomas, para além de outras alterações menos frequentes como o atraso mental, convulsões, macrocefalia ou escoliose.

Outro exemplo é dado pelas mutações do gene *FBN1* associadas à síndrome de Marfan. As mutações, ao afectarem a produção da fibrilina, uma proteína constitutiva do tecido conjuntivo com participação em múltiplos tecidos, têm consequências a nível ocular, cardiovascular e esquelético.

Também na porfiria aguda intermitente, uma das variedades de porfirias de natureza autossómica dominante, se regista um efeito pleiotrópico das mutações do gene, que se traduzem em dor abdominal, obstipação, febre, astenia, urinas vermelho-escuras, insónia, cefaleias, e mesmo delírio, convulsões e estupor.

O reconhecimento do pleiotropismo pode permitir que, a partir de uma manifestação, ainda que *minor*, pertencente ao espectro de efeitos conhecidos de uma mutação, seja possível a identificação de um portador dessa mutação ou se suspeite de anomalias internas graves que exijam intervenção médica.

4.6.7. PENETRÂNCIA INCOMPLETA

A penetrância de um alelo é uma condição de “tudo-ou-nada” e tem a ver com a frequência da expressão de um alelo numa população. Um alelo está presente e é expresso ou não é expresso.

A penetrância de um alelo é dada pela proporção de indivíduos com manifestação da doença ou caracter, num determinado universo de indivíduos portadores do alelo mutado. A penetrância é completa quando um alelo se exprime em 100% dos portadores e incompleta se apenas uma parte dos portadores de um alelo evidencia a sua expressão. Um alelo é não penetrante quando não se exprime num indivíduo heterozigótico (identificado por estudo molecular ou heredo-gráfico).

A penetrância incompleta não afecta a transmissão do alelo mutado do portador à descendência e a sua possível expressão em descendentes. É frequente nas doenças autossómicas dominantes. A polidactilia e o retinoblastoma são exemplos de anomalias em que as mutações que as determinam têm penetrância incompleta.

A penetrância pode ser precoce ou tardia, quando se considera a idade média com que os indivíduos exprimem o alelo em causa. A penetrância tardia reduz a selecção natural conduzindo a um aumento da frequência da doença na população, enquanto que a penetrância precoce, quando conduz à morte antes da puberdade ou inibe ou dificulta a reprodução, reduz a frequência do alelo mutado na população. Quando a mutação produz um alelo letal, a frequência da doença na população é igual à taxa de mutação do gene em causa. A coreia de Huntington ou a FAP constituem exemplos de doenças de manifestação tardia por penetrância tardia e completa.

A penetrância pode ser influenciada pela presença de outros genes e por factores ambientais. Pode, por isso, variar entre diversas famílias.

A porfíria aguda intermitente é um exemplo da forma como os factores ambientais podem influenciar a penetrância. As manifestações da porfíria são

habitualmente desencadeadas após a puberdade, quando são ingeridas determinadas substâncias como o fenobarbital ou sulfonamidas, entre cerca de 60 fármacos que podem desencadear porfiria. Os factores de risco para as manifestações intestinais e neurológicas incluem mesmo o consumo de álcool e as alterações hormonais da puberdade e/ou do ciclo menstrual. Na ausência de factores desencadeantes, não há penetrância do gene, pelo que a expressão (penetrância) é intermitente. Mais de 90% dos indivíduos que herdam a deficiência enzimática para este tipo de porfiria mantêm-se sem manifestações clínicas.

Outra doença em que os factores ambientais são os responsáveis pela penetrância de um gene mutado encontra-se em casos de surdez induzidos por aminoglicosídeos. Se a mutação A1555G do DNA mitocondrial estiver presente, a administração de aminoglicosídeos desencadeia o aparecimento de surdez. Na presença da mesma mutação, se não houver exposição ao factor desencadeante, não haverá penetrância. Da mesma forma, a presença de homozigotia recessiva para a mutação associada a FCU apenas desencadeia o fenótipo característico se houver uma alimentação normal que leve à ingestão de fenilalanina nas quantidades habituais para a espécie humana.

A nível oncológico, os efeitos ambientais também podem influenciar a penetrância de um gene, como pode acontecer com formas mutadas do gene *BRCA1*. As mulheres portadoras de formas mutadas e patogénicas deste gene, ao contactarem com estrogénios ou com moléculas que mimetizam os estrogénios, como os pesticidas, vão ter um aumento de risco para cancro da mama, o que equivale a dizer que se verifica um aumento da penetrância das formas mutadas do gene *BRCA1*.

4.6.8. EXPRESSIVIDADE VARIÁVEL

Nem sempre é possível estabelecer uma relação directa entre genótipo e fenótipo, devido a variação da expressividade de um gene, ainda que haja penetrância completa. A expressividade refere-se à intensidade (severidade) com que um gene é expresso: pode variar desde uma forma fruste até uma forma grave, em termos do fenótipo observado em diversos membros de uma família, portadores da mesma mutação de um gene. Na neurofibromatose tipo I, a expressividade é variável ao ponto de um progenitor com manifestações frustes que não permitem a sua detecção clínica, poder

transmitir o alelo mutado a um descendente e neste haver uma expressão grave da mutação.

A expressividade variável poderá dever-se ao efeito de genes modificadores cujos produtos interajam com os produtos dos alelos mutados, a heterogeneidade alélica, ou ainda a factores ambientais. A existência de genes modificadores surge como uma das justificações para as diferenças de expressão de uma mesma mutação quando presente em diferentes famílias.

A interacção génica na determinação de um fenótipo pode ser exemplificada pela melhoria que o fenótipo da anemia de células falciformes por mutação do gene da β -globina pode sofrer, mesmo quando em homozigotia (HbS/HbS), se houver um aumento de expressão dos genes da γ -globina com produção de níveis significativos de hemoglobina fetal (HbF). Nestas condições, a anemia de células falciformes pode não ser clinicamente relevante.

Nos casos de heterogeneidade alélica, pode acontecer que as diferentes mutações de um gene originem mesmo patologias diversas e não só variações de intensidade de uma entidade nosológica. Mutações a nível do gene da β -globina podem originar β -talassémia, anemia de células falciformes e meta-hemoglobinémia. Diferentes mutações do gene *FGFR2* (receptor para o factor de crescimento fibroblástico) podem originar três diferentes síndromas com craniosinostose: síndrome de Pfeiffer, síndrome de Crouzon e síndrome de Jackson-Weiss. A nível do gene *FGFR3*, mutações diferentes podem originar acondroplasia ou displasia tanatofórica, sendo esta última sempre letal no período neonatal. É também o caso do gene *AR* que codifica o receptor para os androgéneos, localizado no cromossoma X. Foram identificadas diversas mutações que afectam a capacidade de ligação dos androgéneos ao receptor com consequente desenvolvimento da síndrome de feminização testicular. Contudo, no mesmo gene *AR*, foi identificada uma expansão do triploto CAG, no primeiro exão, que origina atrofia muscular espinhobulbar.

Uma mutação específica de um alelo pode ainda originar fenótipos diferentes como resultado da presença de polimorfismos localizados no mesmo alelo, embora noutro codão. A mutação que substitui o ácido aspártico por arginina no codão 178 (Asp178Asn) do gene *PRNP* localizado no cromossoma 20, está associada, em algumas famílias, a doença de Creutzfeld-Jakob hereditária e noutras a insónia familiar mortal. A expressão de fenótipos diversos como consequência de uma única mutação implica a influência de outros factores. Para o gene *PRNP* foram descritos polimorfismos

para o codão 129, sem associação directa a qualquer doença, que podem originar a codificação de metionina/metionina (em 37% dos casos), metionina/valina (em 51% dos casos) e valina/valina (em 12% dos casos). Contudo, se um alelo do gene *PRNP* transporta a mutação Asp178Asn e um polimorfismo para a valina o fenótipo patológico é a doença de Creutzfeldt-Jakob; se a mesma mutação Asp178Asn se combina no mesmo alelo com o polimorfismo para a metionina, o fenótipo é o da insónia familiar mortal.

Em termos de efeito de factores ambientais refira-se a variabilidade do fenótipo associado a mutação no gene que codifica a fenilalanina hidroxilase, a causa mais frequente de FCU. Na condição homocigótica recessiva as manifestações da doença (microcefalia, convulsões, atraso mental) são desencadeadas por uma alimentação normal. No entanto, um indivíduo homocigótico recessivo a quem for administrada uma dieta que contenha apenas a fenilalanina indispensável, como aminoácido essencial, não desenvolve os sintomas da FCU.

As mutações dinâmicas podem igualmente justificar a expressividade variável, devido à instabilidade mutacional observada entre diversos membros de uma família com conseqüente variabilidade do comprimento das seqüências repetitivas e do seu reflexo no fenótipo.

4.6.9. EPISTASIA

A epistasia consiste na interacção dos produtos de diferentes alelos localizados em diferentes *loci* para a expressão de um determinado fenótipo. É uma forma de interferir com a expressão de um gene e com a penetrância.

Como exemplo refira-se a ausência de expressão dos grupos sanguíneos ABO quando há homocigotia recessiva para o *locus* H (gene *FUT1* que codifica a enzima fucosiltransferase). A ligação dos antígenos A ou B à superfície dos glóbulos vermelhos depende da presença de uma glicoproteína específica de superfície. A adição do açúcar depende da acção enzimática de uma molécula codificada pelo alelo H. Se o indivíduo for homocigótico (HH) ou heterocigótico (Hh) a glicoproteína de superfície é produzida e estabelecem-se os grupos sanguíneos. Os indivíduos homocigóticos recessivos para este *locus* (hh) serão todos fenotipicamente do grupo O, pois não terão à superfície dos glóbulos vermelhos nem o antígeno A, nem o antígeno B. Contudo, poderão ser genotipicamente AA, AO, BB, BO ou AB.

4.6.10. INFLUÊNCIA DO SEXO

Independentemente de um alelo ser transmitido ligado aos cromossomas sexuais ou aos autossomas, há caracteres cuja expressão é influenciada pelo sexo. Nestes casos, o mesmo alelo exprime-se como dominante em indivíduos de um sexo e como recessivo nos indivíduos do outro sexo. Como exemplo, refira-se o alelo da calvície que é dominante no sexo masculino e recessivo no sexo feminino. Uma mulher calva deverá ser homocigótica recessiva.

Uma condição influenciada pelo sexo difere do "imprinting", uma vez que, no "imprinting", a expressão do gene depende do sexo do progenitor que transmite o gene à descendência e não do sexo do seu portador.

4.6.11. LIMITAÇÃO AO SEXO

Por vezes, a expressão de um fenótipo é limitada a determinado sexo embora os alelos que especificam os caracteres possam ser transmitidos pelos indivíduos do sexo em que não se exprimem. Como exemplos, refiram-se o desenvolvimento mamário na mulher, o desenvolvimento da barba no homem e a puberdade precoce familiar de natureza autossómica dominante no sexo masculino por mutação do receptor da hormona luteinizante.

4.6.12. FENOCÓPIAS

Há a noção de que a expressão de um fenótipo é devida a uma determinada mutação a nível de um gene. Contudo, um fenótipo que mimetiza a expressão de um genótipo pode ser produzido por acção de factores ambientais, independentemente de uma alteração génica específica. Se este mecanismo ocorrer em diversos membros de uma família, pode ser imitada uma condição hereditária.

A microcefalia, com uma incidência de 1 em 10.000 recém-nascidos, pode ter origem genética (autossómica dominante, autossómica recessiva, multifactorial) mas também pode ser esporádica, causada por factores não genéticos. Nos descendentes de mães fenilcetonúricas que não controlem os níveis de fenilalanina durante a gravidez, encontra-se microcefalia ainda que o recém-nascido seja heterocigótico, condição que não afectaria o fenótipo.

A microcefalia é devida ao ambiente fetal decorrente de hiperfenilalaninemia materna. Trata-se de uma fenocópia devida ao efeito teratogénico da hiperfenilalaninemia.

A microcefalia, como fenocópia, pode ter outras causas como seja a ingestão de álcool em excesso pela mãe, durante a gravidez. Neste caso, aparece integrada nas manifestações da síndrome fetal alcoólica.

4.6.13. TERATOGÉNEOS

Um teratogénico é uma substância ou agente externo ao genoma do embrião ou do feto que provoca um defeito no seu organismo durante o desenvolvimento intra-uterino. Os teratogénicos originam um padrão característico de defeitos embora haja um espectro de intensidade desde formas severas a formas mais suaves, o que poderá depender da fase da gravidez em que ocorreu a exposição e da dose do teratogénico. Podem simular uma situação genética produzindo fenocópias.

Os teratogénicos podem ser de natureza infecciosa (v.g., rubéola, citomegalovírus, toxoplasmose), física (v.g., radiação), química (v.g., álcool, chumbo), medicamentosa (v.g., citostáticos, alguns anti-epilépticos e antibióticos, ácido retinóico), ou de natureza metabólica materna (v.g., diabetes, FCU).

4.6.14. PATERNIDADE EXTRACONJUGAL

A paternidade devida a relações extraconjugais não conhecidas poderá também contribuir para dificultar a identificação da natureza hereditária de uma doença ou carácter. Um descendente de um casal que apresente um fenótipo sugestivo de uma determinada doença com um tipo de hereditariedade conhecido e que não se encontra nos progenitores ou na família, pode fazer pensar que a doença estará presente num dos progenitores de uma forma fruste ou que tem penetrância incompleta, que é uma mutação “de novo” ou um mosaico gonadal e induzir em erro no aconselhamento para futuras gravidezes. Poderá ainda ser interpretada como uma fenocópia, mesmo estando associada a uma causa genética específica e hereditária transmissível à descendência do *propositus*.

5. HEREDITARIEDADE NÃO-MENDELIANA

5.1. HEREDITARIEDADE POLIGÉNICA

Nos casos em que um fenótipo resulta do efeito parcial e aditivo de múltiplos genes de uma forma independente do meio ambiente, em que cada um tem um contributo *minor*, sem interação entre si, o mecanismo hereditário subjacente é designado como poligénico. Nestes casos, não há dominância nem recessividade.

As condições poligénicas originam uma variação contínua da expressão fenotípica que se apresenta como uma curva normal (curva de Gauss), ao contrário das condições monogénicas em que as frequências encontradas permitem desenhar uma curva bimodal ou mesmo trimodal. Na curva bimodal, o maior pico de frequência corresponde à soma de homozigóticos para o alelo normal com os heterozigóticos por não ser possível a sua distinção fenotípica, e o segundo pico aos homozigóticos recessivos. Na curva trimodal, o primeiro pico corresponde aos homozigóticos para o alelo normal, o segundo pico aos heterozigóticos, e o terceiro pico aos homozigóticos recessivos.

As impressões digitais são tradicionalmente indicadas como exemplo de hereditariedade poligénica. No entanto, entre dois gémeos verdadeiros, e apesar de possuírem um genoma idêntico, as impressões digitais não são integralmente iguais, o que se poderá dever ao diferente efeito da pressão que cada um exerce com os dedos contra a parede do saco amniótico durante o período da sua formação, entre as 6 e as 13 semanas. Será, por isso, uma condição multifactorial. Também a indicação da cor da pele como estritamente poligénica, não considera o efeito que uma exposição continuada à luz solar exerce sobre o escurecimento da pele. Desta forma, sendo um fenótipo resultante da acção aditiva de diversos genes e de um factor ambiental, estará também em causa um mecanismo multifactorial.

A cor da pele conduziu à construção sociológica das raças. Caberá, a este propósito referir que a componente genética terá resultado da confluência dos efeitos de múltiplos genes, cuja presença representa vantagem biológica. No entanto, em termos de número de melanócitos, ou seja, das células responsáveis pela produção da melanina, as diferenças são mínimas entre as diferentes raças. Apenas a quantidade de melanina e a sua distribuição são diferentes.

A altura de uma pessoa, pelo envolvimento de múltiplos genes e de factores ambientais, surge também como um carácter de natureza multifactorial. Uma alimentação pobre afecta significativamente o desenvolvimento do fenótipo.

Como exemplo de uma condição puramente poligénica, talvez se possa indicar a cor dos olhos. Trata-se de um carácter devido à quantidade de melanina que as células da íris produzem.

5.2. HEREDITARIEDADE MULTIFACTORIAL

5.2.1. INTRODUÇÃO

Os caracteres ou doenças que resultam do efeito aditivo dos produtos codificados por vários genes e da interacção entre os produtos génicos e o meio ambiente designam-se por multifactoriais. Nas condições multifactoriais, não se encontra um gene que actue de uma forma saliente. No “meio ambiente” incluem-se as influências de natureza física, química ou biológica exercidas “in útero” ou após o nascimento, ou seja, todos os factores de natureza não genética que influenciam o fenótipo (aspectos geográficos e climáticos, dieta, hábitos sociais, condições sócio-económicas, educação, doenças).

A conjugação diferenciada dos factores ambientais e genéticos associados a uma condição multifactorial, nos membros de uma população, determina a susceptibilidade maior ou menor de cada indivíduo para desenvolver a doença ou carácter em causa (“liability”). Geram-se assim variantes fenotípicas com diferentes frequências na população que se distribuem de forma a originar uma curva de Gauss (curva de distribuição “normal”) (Fig VII.9). Na população geral, é possível delimitar a linha que, à direita da curva, estabelece o limiar a partir do qual os indivíduos têm uma expressão do carácter considerada “anormal” ou há manifestação de doença. A percentagem assim definida, indica a prevalência na população em causa. Quando a curva diz respeito à distribuição das frequências encontradas em familiares de portadores da mesma condição multifactorial, na mesma população e nas mesmas condições ambientais, se estiver presente uma componente hereditária, a curva desloca-se para a direita (Fig VII.9).

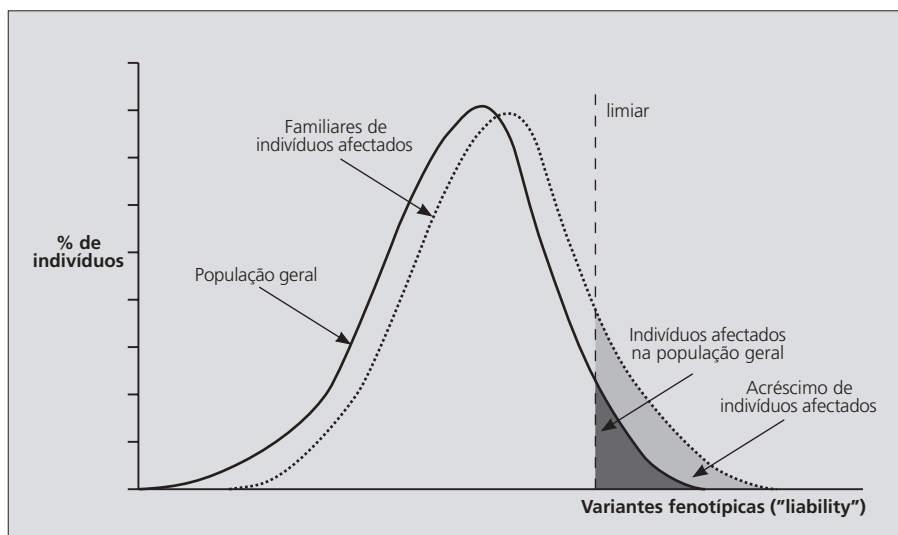


Fig. VII.9 – Distribuição normal (Gaussiana) de uma condição multifactorial, no que respeita à população geral e para familiares de indivíduos afectados. A negro indica-se a fracção da população geral afectada. Para a subpopulação de familiares de indivíduos afectados, há um deslocamento da curva para a direita, pelo que há um maior número de indivíduos delimitado pelo limiar anteriormente definido, que corresponde à soma da área a cinzento escuro com a área a negro determinada para a população geral. Esta área a cinzento escuro corresponde ao efeito da hereditariedade.

Assim, o limiar definido para a população geral vai abranger uma maior percentagem de indivíduos afectados, dado haver um acréscimo de casos resultantes do peso dos factores hereditários, que se soma à percentagem de indivíduos afectados na população geral.

5.2.2. MÉTODOS DE ESTUDO DA HEREDITARIEDADE MULTIFACTORIAL

As facilidades que a genética molecular veio trazer ao estudo das doenças monogénicas não se fizeram sentir nas doenças multifactoriais. Por isso, continuam a ser relevantes as abordagens indirectas como os estudos populacionais, os estudos de concordância em membros de famílias, em crianças adoptadas e em gémeos, e os estudos de associação e de ligação génica. O estudo directo de mutações tem tido pouco sucesso, devido ao elevado número de genes habitualmente envolvido.

No essencial, os estudos procuram avaliar o peso que os factores ambientais e os factores genéticos exercem sobre o fenótipo. A caracterização do peso dos factores genéticos permite avaliar a hereditabilidade de uma condição.

Os problemas que a genética molecular evidencia na abordagem das doenças multifactoriais estão associados:

- a falta de especificidade diagnóstica;
- à existência de heterogeneidade génica;
- a penetrância e expressividade variáveis;
- à variabilidade da idade de início da doença;
- à existência de casos de natureza não genética;
- ao desconhecimento do efeito modificador devido ao ambiente;
- à cautela a ter na transferência dos conhecimentos obtidos numa população para outra população, em que podem ser diferentes a etiologia e a incidência.

5.2.2.1. ESTUDOS POPULACIONAIS

Os estudos populacionais avaliam a prevalência dos genótipos de susceptibilidade para uma doença ou carácter numa determinada população, os factores de risco das mutações somáticas e germinais e, através dos estudos de associação, a relação entre os alelos de diferentes *loci* e o risco de doença na referida população.

As diferenças de frequência entre diferentes populações, para uma determinada doença ou carácter, poderão ter a ver com factores genéticos ou com factores ambientais. A separação entre factores genéticos e factores ambientais pode ser feita por estudos comparativos das frequências de um carácter ou doença numa população original donde são extraídas subpopulações emigrantes, na população de acolhimento e nas subpopulações. Os estudos podem ser elucidativos se se observarem frequências diferentes entre a população original e a população de acolhimento.

Assim, quando a frequência na subpopulação emigrante se mantém, tal facto sugere que os factores genéticos são mais importantes do que os factores ambientais. Contudo, quando a frequência na subpopulação evolui e passa a apresentar valores próximos dos que se encontram para a população

de acolhimento, este resultado indica que há uma preponderância dos factores ambientais na determinação do fenótipo.

5.2.2.2. ESTUDOS DE FAMÍLIAS

Os estudos de famílias desenvolvem-se a partir da constatação de que determinado carácter ou doença tem uma frequência maior entre os membros de uma determinada família, comparativamente com a frequência observada na população geral. Por sua vez, o grau de parentesco afecta o risco para a ocorrência da condição em causa, sendo maior para os familiares mais próximos.

Os estudos de famílias avaliam a presença de agregação familiar e permitem distinguir se a agregação é causada por factores ambientais ou por factores genéticos, desde que seja possível isolar os factores ambientais. Permitem ainda caracterizar os modos de transmissão, através das análises de segregação e de "linkage". A análise de segregação é um método estatístico pelo qual são testados todos os tipos de hereditariedade que se adequem às condições recolhidas e em estudo.

Assim, a constatação de uma maior frequência para determinado carácter ou doença nos membros de uma família, comparativamente com a população geral, evidencia susceptibilidade para o fenótipo em causa na família.

Quando os membros de uma família partilham o mesmo meio ambiente, a comparação da frequência de um carácter ou doença nos elementos da família relacionados pela ascendência, com a sua frequência em outros membros da família sem ascendência comum (v.g., esposas) realça o efeito ambiental, se as frequências forem idênticas. Contudo, este tipo de estudo salientará os factores genéticos, se a frequência for maior nos familiares relacionados por ascendência, em comparação com a frequência nos membros da família sem ascendência comum. A determinação da proporção de indivíduos afectados em função do grau de parentesco permite estabelecer o risco empírico de recorrência.

5.2.2.3. ESTUDOS EM CRIANÇAS ADOPTADAS

Quando um indivíduo é adoptado por alguém que não seja seu familiar, passa a partilhar um ambiente comum com os pais adoptivos mas não

os genes. Em relação aos seus pais biológicos partilha os genes mas não o ambiente. Desta forma, as eventuais semelhanças fenotípicas que se desenvolvam em relação aos pais adoptivos serão fruto do ambiente e as semelhanças com os pais biológicos serão fruto dos genes.

Quando há concordância fenotípica entre os membros da família de adopção e os filhos adoptivos, embora seja reduzida a identidade génica, os estudos de adopção permitem isolar o efeito ambiental como o factor que partilham e que será a causa da concordância encontrada. Em sentido contrário, quando há concordância fenotípica entre pais e filhos biológicos, na ausência de partilha do ambiente, é possível isolar os factores genéticos como causa da concordância.

5.2.2.4. ESTUDOS DE GÉMEOS E HEREDITABILIDADE

Em relação aos estudos de gémeos, devem ser considerados em separado os gémeos verdadeiros (monozigóticos, com 100% de identidade génica inicial e um ambiente embrionário e fetal comum) e os falsos gémeos (dizigóticos, com 50% de identidade génica e um ambiente embrionário e fetal comum). O efeito do ambiente e dos genes sobre o fenótipo, após o nascimento, pode ser analisado quando os gémeos são separados e criados em ambientes diferentes (v.g., devido a adopção). É assim possível definir o grau de concordância para um determinado traço ou doença, pela proporção de pares de gémeos em que há coincidência na expressão fenotípica nos dois gémeos, em relação ao total de pares de gémeos observados. Há concordância quando um carácter ou doença é partilhado ou não é partilhado pelo par de gémeos e discordância quando um dos membros do par de gémeos exprime o fenótipo em causa e o outro não o exprime.

Entre gémeos monozigóticos (Tabela VII.14), a concordância é de 100% para condições monogénicas de penetrância completa, em que o ambiente não interfira na expressão, sejam elas dominantes ou recessivas. Mesmo que os gémeos tenham sido separados e vivam em ambientes diferentes, tal facto não afecta a concordância. Para falsos gémeos e para condições de penetrância completa, a concordância será de 50% nos casos autossómicos dominantes e de 25% nos casos autossómicos recessivos. Nos caracteres influenciados pelo sexo, os pares de gémeos dizigóticos devem ser do mesmo sexo para que o estudo possa ser realizado.

Tabela VII.14. Concordância entre gémeos, em função do tipo de hereditariedade presente e de gémeos

		Tipo de gémeos	
		Monozigóticos	Dizigóticos
Tipo de hereditariedade	Autossómica dominante	100%	50%
	Autossómica recessiva	100%	25%
	Multifactorial	≈40%-60%	≈4%-8%

Para condições multifactoriais (Tabela VII.14), a concordância entre gémeos monozigóticos será menor do que os 100% antes referidos, dada a confluência de factores ambientais com factores genéticos, na determinação do fenótipo. Ainda assim, haverá maior concordância entre gémeos monozigóticos do que entre gémeos dizigóticos, se os factores genéticos forem preponderantes. A concordância será aproximada para gémeos monozigóticos e para gémeos dizigóticos se os factores preponderantes forem ambientais e forem partilhados, e for muito reduzida ou nula a influência dos factores genéticos (v.g., uma infecção epidémica como o sarampo ou a rubéola).

A partir dos valores da concordância encontrada (no caso dos gémeos, os valores da concordância para os pares de gémeos verdadeiros e para os pares de gémeos falsos) é possível determinar a hereditabilidade (h) de um traço ou doença. A hereditabilidade reflecte a percentagem de efeito fenotípico devido à componente genética numa condição multifactorial.

O valor da hereditabilidade é igual ao dobro da diferença entre os valores encontrados para os gémeos verdadeiros (C_{mz}) e para os falsos gémeos (C_{dz}), ou seja, $h = 2 \times (C_{mz} - C_{dz})$. Quando os traços ou doenças são fortemente determinados por factores genéticos, o valor de C_{mz} aproxima-se de 1 e o valor de C_{dz} aproxima-se de 0,5, pelo que h será próximo de 1. Pelo contrário, à medida que a diferença entre os valores de concordância se reduz, o valor de h aproxima-se de 0.

Embora os valores da hereditabilidade (Tabela VII.15) devam ser considerados como específicos para uma determinada população, é comum encontrar-se sobreposição de resultados entre populações diversas.

Tabela VII.15. Hereditabilidade (h) de diversos traços ou doenças multifactoriais

TRAÇO OU DOENÇA	<i>h</i> (*)
Altura	1,0
Dermatoglifos	0,92
Asma	0,80
Estenose do piloro	0,75
Esquizofrenia	0,70-0,85
Espondilartrite anquilopoiética	0,70
Hipertensão essencial	0,62
Anencefalia e espinha bífida	0,60-0,78
Fenda labial ou do palato	0,60-0,76
Luxação congénita da anca	0,60
Alcoolismo	0,60
Enfarte do miocárdio (mulheres)	0,60
Pé boto	0,58-0,68
Inteligência (em geral)	0,52
Carácter extrovertido	0,51
Esclerose múltipla	0,50
Interesses vocacionais	0,42
Desempenho escolar	0,38
Úlcera péptica	0,37
Enfarte do miocárdio (homens)	0,26
Boa memória	0,2
Sarampo	0,16
Morte por infecção	– (§)

(*) Os valores foram recolhidos de diversas fontes referidas na bibliografia

(§) – $Cmz = 8$; $Cdz = 9$

5.2.3. CRITÉRIOS PARA IDENTIFICAÇÃO DAS CONDIÇÕES MULTIFACTORIAIS

São quatro os critérios que permitem identificar a hereditariedade multifactorial:

- concordância entre gémeos – quando o valor da concordância para um determinado carácter ou doença entre gémeos monozigóticos é maior do que 4 vezes o valor encontrado entre gémeos dizigóticos (embora uma diferença menor não exclua a natureza multifactorial);
- quando a frequência de indivíduos afectados é 2,5 vezes maior na descendência de casais em que um dos membros tem um determinado carácter ou doença e o outro é normal, comparativamente com a frequência observada na descendência de casais em que os dois membros são normais (uma frequência inferior não exclui a natureza multifactorial);
- quando se verifica “inversão”, em função do sexo, dos valores da

- frequência da doença ou caracter nos familiares de indivíduos afectados, quando agrupados para o mesmo grau de parentesco; assim, a frequência do caracter ou doença é maior entre os descendentes de indivíduos do sexo menos afectado do que a que se verifica entre os descendentes de indivíduos afectados pertencentes ao sexo em que é mais frequente (ver Tabela VII.16, a propósito da estenose hipertrófica do piloro);
- quando o aumento da frequência de um determinado caracter ou doença é ligeiro em consequência do endocruzamento, embora se deva ter em consideração, nestes casos, que pode estar em causa a hereditariedade dominante com penetrância incompleta baixa e não a hereditariedade multifactorial.

Tabela VII.16. Frequência da estenose hipertrófica do piloro em familiares de indivíduos afectados (sexo masculino/ sexo feminino)

		RISCO DE RECORRÊNCIA EM FAMILIARES (%)							
		Irmão	Irmã	Filho	Filha	Sobrinho	Sobrinha	Primo	Prima
Indivíduo afectado	Masculino	2,17	2,07	6,42	2,55	2,16	0,47	0,57	0,29
	Feminino	10,89	8,91	22,95	11,48	6,67	1,28	0,81	0,29

Adaptado de Vogel e Motulsky (1997).

5.2.4. FACTORES QUE INFLUENCIAM A RECORRÊNCIA DE CONDIÇÕES MULTIFACTORIAIS

O cálculo do risco de recorrência em familiares de indivíduos afectados, no que respeita a caracteres ou doenças multifactoriais, é de natureza empírica. O que se determina é a influência da componente genética (hereditabilidade) no desenvolvimento do caracter ou doença, traduzida na probabilidade de recorrência, a partir da sua prevalência numa determinada população.

Para uma mesma condição multifactorial, o risco empírico de recorrência não é constante quando se comparam sub-populações expostas a condições ambientais diversas. Como exemplo, refira-se o risco de recorrência para defeitos do tubo neural num casal com um filho afectado, a quem foi proporcionada a ingestão de um suplemento de ácido fólico à mulher umas semanas antes de engravidar e durante a gravidez. Nestas condições, o risco de recorrência, inicialmente de 3%, vai ser diminuído em 50% a 70%, como consequência da modificação das condições ambientais (mantendo-se idêntico o “peso” genético).

O aumento do risco de recorrência de uma condição multifactorial depende:

- da severidade da doença (v.g., o risco para doença de Hirschsprung é maior em irmãos de doentes com uma grande extensão de intestino afectada, comparativamente com os casos em que está atingida uma curta extensão; o risco de recorrência para lábio leporino/fenda palatina num segundo filho é maior quando o irmão afectado tem lábio leporino/fenda palatina bilateral, com um risco de 5,7%, em comparação com o risco que se observa nos casos unilaterais, em que o risco é de 4,2%);
- da precocidade do aparecimento dos casos de doença (v.g., no cancro do cólon o risco para a população geral é de cerca de 1,2%; contudo, para os indivíduos com um familiar em primeiro grau afectado, o risco é de 2,2% se o diagnóstico é feito a partir dos 55 anos e de 6,5% quando a neoplasia se manifesta antes dos 45 anos);
- do incremento do grau de parentesco em relação ao indivíduo atingido (Tabela VII.17), uma vez que quanto mais elevada é a consaguinidade, maior é a percentagem de genes em comum (no entanto, para familiares em segundo grau o risco é reduzido e, para graus de parentesco mais baixos do que segundo grau, o risco raramente é significativo);

Tabela VII.17. Risco de recorrência para lábio leporino/fenda palatina, em função do grau de parentesco com o indivíduo afectado

PARENTESCO (em relação ao indivíduo afectado)	RISCO
Gémeo monozigótico	40%
Irmão	4,0%
Irmão (dois irmãos afectados)	10%
Filho	4,2%
Filho (pai e irmão afectados)	10%
Primo	0,3%
Controlo (população geral)	0,1%

- do número de pessoas afectadas numa família (v.g., o risco de recorrência para lábio leporino/fenda palatina, numa segunda gravidez, é de 4,2% quando há um filho prévio afectado e de 10% quando, para além de um filho, há também um dos pais afectado) (Tabela VII.17);

- do sexo do familiar afectado quando a incidência é diferente em cada sexo, já que o risco é maior para o familiar de um indivíduo afectado pertencente ao sexo em que a doença ou character é mais raro (v.g., na estenose hipertrófica do piloro (Tabela VII.16), em que a incidência é cinco vezes maior nos homens (0,5%) do que nas mulheres (0,1%), o risco é maior para os descendentes de uma mulher afectada);
- da prevalência (p) da doença na população, sendo o risco máximo de recorrência, para um familiar em primeiro grau (irmãos e filhos) de um doente, um valor próximo da raiz quadrada da prevalência na população geral ($p^{1/2}$), para familiares em segundo grau de $p^{3/4}$ e para familiares em terceiro grau de $p^{7/8}$;
- da hereditabilidade presente na condição em causa, a que se associa o “peso” maior ou menor da componente genética (Tabela VII.15). A hereditabilidade é definida em relação à variação fenotípica para um grupo de indivíduos e não para um gene ou genes, pelo que pode ser afectada pelo ambiente. Na determinação da hereditabilidade não são identificados os genes nem o seu número, o seu modo de transmissão hereditária ou como actuam.

5.2.5. EXEMPLOS DE PATOLOGIA DE NATUREZA MULTIFACTORIAL

5.2.5.1. ALCOOLISMO

Cerca de 3% a 5% dos membros da população masculina são alcoólicos em comparação com 0,1% a 1% da população feminina. O álcool é uma substância comprovadamente teratogénica que pode provocar, quando ingerida durante a gravidez, anomalias congénitas, perturbações da aprendizagem e perturbações do comportamento. Pode mesmo provocar o aparecimento da síndrome fetal alcoólica.

Os estudos realizados com gémeos evidenciam uma componente genética no alcoolismo, sendo a concordância ligeiramente maior entre gémeos monozigóticos do que entre gémeos dizigóticos. Para os gémeos monozigóticos do sexo masculino, há uma concordância de cerca de 40% e para os dizigóticos de cerca de 25%. No sexo feminino, a concordância para

os gêmeos monozigóticos é de cerca de 30%, sendo praticamente idêntica para os dizigóticos. No mesmo sentido apontam os estudos de adoção, a partir dos quais se deduz que nos filhos de pais biológicos alcoólicos, a incidência do alcoolismo é 2-3 vezes maior. Um familiar em primeiro grau de um indivíduo alcoólico tem um risco de vir a ser alcoólico igual ou superior a 25%, se for do sexo masculino, e de 5% a 10%, se for do sexo feminino.

5.2.5.2. ATRASO MENTAL

O atraso mental é avaliado em função da adequação à idade dos níveis de desenvolvimento mental, de aprendizagem e de ajustamento social. Atinge cerca de 2% a 3% da população geral. O atraso mental grave inclui indivíduos com QI menor do que 50 e encontra-se em cerca de 0,4% da população. Para um QI entre 50 e 70, considera-se haver um atraso mental moderado, presente em cerca de 2% a 3% da população.

As causas de atraso mental são muito variadas, destacando-se, como as mais frequentes entre as causas genéticas, a trissomia 21, como a primeira causa, e a síndrome do X-frágil, como a segunda. A síndrome do X-frágil é a causa mais comum entre as condições hereditárias.

As causas de atraso mental podem apresentar padrões hereditários autossômicos dominantes, autossômicos recessivos, ligados ao X ou multifactoriais, ou terem um carácter esporádico, adquirido no período pré-natal (v.g, infecção por rubéola ou toxoplasmose), no período peri-natal (v.g., asfixia, traumatismo ou hipoglicémia), ou no período pós-natal (v.g., acidente vascular cerebral, meningite, convulsões).

Nos casos isolados de atraso mental idiopático severo, o risco de recorrência para um irmão de um doente (do sexo masculino ou do sexo feminino) é de 4% e para uma irmã é de 2%. Se numa fratria houver dois irmãos com atraso mental severo (independentemente do sexo) o risco de recorrência para um irmão ou irmã é de 25%. Quando os dois pais são afectados por atraso mental severo idiopático, o risco para os descendentes é de 50%. No entanto, se apenas um dos pais for afectado, o risco é de 10%, subindo para 20%, se apenas um dos pais for afectado e houver um irmão do *propositus* também afectado.

5.2.5.3. CANCRO

Para além dos genes, os factores ambientais têm também um papel significativo na génese e desenvolvimento do cancro, o que o torna um exemplo de doença multifactorial.

Por vezes, é possível definir um padrão claro de transmissão hereditária de natureza dominante (quase sempre de penetrância incompleta) ou recessiva, embora o mais frequente seja a existência de mutações que criam aumento da susceptibilidade, desenvolvendo-se o cancro por acção de factores ambientais desencadeantes, como sejam os componentes do fumo do tabaco, poluentes ambientais ou aditivos alimentares. Da consideração do papel do ambiente, se podem deduzir atitudes e comportamentos dirigidos para a diminuição da incidência do cancro, de que se destacam: uma alimentação rica em fibras, em que abundem alimentos frescos e frutas e que seja pobre em gorduras, a não ingestão de álcool ou a sua ingestão em baixas quantidades, o combate à obesidade, a abstenção de fumar, a prática regular de exercício físico, a protecção contra a exposição à luz solar, a protecção contra poluentes ambientais ou profissionais.

5.2.5.4. DIABETES MELLITUS

A diabetes atinge cerca de 5% a 10% da população adulta dos países ocidentais. Caracteriza-se pela presença de hiperglicémia e um défice relativo ou ausência de produção de insulina. Entre as consequências da diabetes contam-se a retinopatia e a cegueira, a insuficiência renal, a neuropatia, ou os problemas vasculares que podem conduzir a amputação. Há dois tipos de diabetes: a diabetes tipo 1 e a diabetes tipo 2.

A diabetes tipo 1 representa cerca de 10% dos casos de diabetes, é insulino-dependente em termos de sobrevivência e aparece caracteristicamente na infância e em adultos jovens. Resulta da destruição das células β dos ilhéus de Langerhans do pâncreas, onde é produzida a insulina. Os doentes são magros e propensos a desenvolver cetose.

Entre gémeos monozigóticos, a concordância é inferior a 50% (entre 30% e 40%) e entre gémeos dizigóticos é de 6%. Ainda que a diferença da frequência da diabetes tipo 1 nos dois sexos seja pouco acentuada, o risco para os filhos é claramente diferente consoante o sexo do progenitor

afectado: se a mãe for diabética, o risco para os filhos é de 1% a 3%; se for o pai, o risco é de 4% a 6%.

Entre irmãos heterozigóticos para os alelos de histocompatibilidade HLA-DR3 ou HLA-DR4 (alelos em associação com a diabetes tipo 1), o risco de recorrência é de 19%, quando um deles tem diabetes insulino-dependente. Comparativamente, o risco de recorrência entre irmãos é de 6% e o risco na população geral é de 0,3% a 0,5%. Se houver um irmão e outro familiar em primeiro grau afectados, o risco de recorrência é de 17%.

A diabetes tipo 2, também designada não insulino-dependente, é característica do período médio da vida (na maioria das vezes, a partir dos 40 anos), e corresponde a cerca de 90% dos diabéticos. Habitualmente, observa-se excesso de peso e é possível controlar os níveis de glicémia com dieta e/ou antidiabéticos orais, embora, por vezes, seja necessário recorrer à administração de insulina.

Entre gémeos monozigóticos com diabetes tipo 2, a concordância é quase de 100%, comparativamente com 10% em gémeos dizigóticos. Entre irmãos e entre pais e filhos o risco é de 5% a 10%, sendo o risco de recorrência para a tolerância anormal à glicose de 15% a 25%. Se houver um irmão e outro familiar em primeiro grau afectados, o risco de recorrência é de 20%.

Até 5% dos casos de diabetes tipo 2 são de natureza autossómica dominante e de manifestação precoce, em idades inferiores aos 25 anos. O gene que codifica a enzima glicocinase, localizado em 7p, é o mais frequentemente alterado neste tipo de diabetes. A glicocinase está envolvida na metabolização da glicose em glicose-6-fosfato.

Os factores ambientais têm um papel importante como factores de risco, como fica patente pelo papel da obesidade e por estudos realizados em comunidades migrantes em que se observou confluência das frequências, em relação à comunidade de acolhimento.

A doença de Alzheimer é a demência mais frequente da velhice. Cerca de 5% dos indivíduos com mais de 65 anos desenvolvem esta doença. Caracteriza-se por uma perda progressiva da capacidade intelectual devida a degenerescência neuronal, pela deposição de placas de amilóide e de agregados neurofibrilares. A morte ocorre, habitualmente, por infecção.

A presença do alelo *APOE*4* do gene da apolipoproteína E constitui um factor de risco para doença de Alzheimer de manifestação tardia. Em contraposição, a presença do alelo *APOE*2* tem um efeito protector.

Cerca de 5% a 10% dos casos de doença de Alzheimer têm expressão hereditária de natureza autossómica dominante. Os casos familiares manifestam-se, com mais frequência, entre os 40 e os 50 anos, ou seja, mais precocemente do que os esporádicos. Por outro lado, os casos familiares são habitualmente mais graves do que os esporádicos e o risco de recorrência para familiares em primeiro grau de indivíduos afectados é próximo de 50%. Em cerca de metade dos casos de manifestação precoce estão presentes mutações nos genes *PSEN1* ou *PSEN2* envolvidos no processamento pós-tradução da proteína precursora da amilóide, ou mutações do gene *APP* que codifica a proteína precursora da amilóide.

A concordância entre gémeos verdadeiros é de cerca de 60%. O risco de recorrência para familiares em primeiro grau de um indivíduo com doença de Alzheimer depende da idade de aparecimento da doença e do número de doentes. Se um indivíduo desenvolve sintomas da doença em idade superior a 65 anos, o risco para um irmão é de 2%, mas se o início da doença é antes dos 65 anos, o risco varia entre 4% e 12%. Se houver um irmão e um dos pais afectados em idade superior aos 65 anos, o risco varia entre 4% e 5%, mas se a idade de aparecimento da doença num dos pais e no irmão for antes dos 65 anos, o risco é mais elevado, entre 16% e 22%.

5.2.5.6. DOENÇA CARDÍACA CORONÁRIA

A doença cardíaca coronária tem como principal causa a aterosclerose. Como factores de risco destacam-se a idade avançada, o sexo masculino, a hipertensão, a hipercolesterolémia, o "stress", a obesidade, o sedentarismo, baixos níveis séricos das lipoproteínas de alta densidade, altos níveis séricos de lipoproteínas de baixa densidade, os hábitos tabágicos e a existência de um ou mais familiares em primeiro grau afectados. O risco decresce com uma dieta pobre em gorduras saturadas e com a prática de exercício físico.

Registe-se que a existência de um familiar em primeiro grau com enfarte do miocárdio constitui um factor de risco mais seguro do que os outros sendo o risco duas a sete vezes maior do que o registado para indivíduos sem história familiar. O risco para doença cardíaca coronária aumenta também

com o incremento do número de indivíduos afectados na família, quando o familiar afectado é do sexo feminino, já que esta condição é mais rara neste sexo, e quando a idade de aparecimento é relativamente precoce (<55 anos) no familiar afectado. Para indivíduos do sexo masculino com idades compreendidas entre os 20 e os 39 anos com um familiar em primeiro grau com doença cardíaca coronária antes dos 55 anos, o risco para a ocorrência desta doença aumenta três vezes e se houver dois familiares em primeiro grau com a doença, o risco aumenta 13 vezes.

Nos casos de doença cardíaca coronária antes dos 60 anos, há uma maior concordância entre gémeos verdadeiros comparativamente com falsos gémeos, permitindo a definição de um grau de hereditabilidade superior a 50%.

A hipercolesterolemia familiar é responsável por cerca de 10% a 20% dos casos de doença cardíaca coronária precoce. A percentagem de indivíduos com doença isquémica cardíaca entre os 40 e os 49 anos é de 51% para os homens e de 12% para as mulheres. Contudo, para as idades compreendidas entre os 60-69 anos, a percentagem é de 100% para os homens e de 74% para as mulheres. As diferentes percentagens registadas no homem e na mulher evidenciam a intervenção de factores adicionais no desenvolvimento da doença, para além de uma natureza autossómica dominante.

5.2.5.7. DOENÇAS PSIQUIÁTRICAS

As duas doenças psiquiátricas mais frequentes são a doença afectiva bipolar (doença maniaco-depressiva) e a esquizofrenia. Num indivíduo da população geral dos países desenvolvidos, que não tenha nenhum familiar afectado com doença afectiva bipolar, o risco para esta doença é de 2% a 3%. Para a esquizofrenia, em idênticas condições, o risco é de 1%.

Na doença bipolar, os estudos de adopção evidenciaram que o risco está relacionado com a condição verificada nos pais biológicos e não nos pais adoptivos. O risco para familiares em primeiro grau de um indivíduo afectado situa-se em 13% entre irmãos e 15% entre pai e filho. Quando os dois pais são afectados, o risco para um filho é de 50%. Se houver um pai e um irmão afectados o risco é de cerca de 20%. Entre gémeos monozigóticos o risco de recorrência é de 70% e entre gémeos dizigóticos é de 20%. Entre tios e sobrinhos e avós e netos o risco de recorrência é de cerca de 5% e entre primos directos é de cerca de 2% a 3%. Na indicação do risco deve ser tida

em consideração a idade de aparecimento da doença no familiar. Assim, para familiares em primeiro grau de um doente em que a doença ocorreu antes dos 40 anos, o risco aumenta para um valor de cerca de 20%. Quando a doença bipolar ocorreu em idade superior a 40 anos o risco desce para 10%.

Na esquizofrenia ocorre uma perda da capacidade para organizar o pensamento e a percepção que conduz a um afastamento progressivo da realidade. Os estudos de adopção mostraram que o risco para desenvolver esquizofrenia em indivíduos adoptados está próximo do valor esperado a partir da condição observada nos seus pais biológicos, mas não nos seus pais adoptivos. O risco para familiares em primeiro grau de um indivíduo afectado situa-se nos 9% entre irmãos e em 13% para os filhos com um dos pais afectado. O risco aumenta quando há mais do que um familiar afectado. Quando os dois pais são afectados, o risco para um filho é de 45%. Se houver um pai e um irmão afectados o risco é de cerca de 15%. Entre gémeos monozigóticos, a concordância é próxima de 50% e entre gémeos dizigóticos é de 15%. Entre tios e sobrinhos e avós e netos o risco de recorrência é de cerca de 3% e entre primos direitos é de cerca de 2%. Estes riscos são considerados para familiares de doentes com idades jovens, reduzindo-se o risco para as idades mais avançadas.

5.2.5.8. HIPERTENSÃO ARTERIAL

A hipertensão arterial é um dos factores de risco para a doença coronária cardíaca, para os acidentes vasculares cerebrais e para a doença renal. Apenas em 5% a 10% dos casos de hipertensão se encontra uma causa, sendo a grande maioria de natureza essencial. As situações de causa conhecida começam habitualmente em idade jovem, comparativamente com a hipertensão essencial que tem início normalmente na idade média da vida. A doença renal é a causa mais frequente de hipertensão não essencial. A prevalência da hipertensão em indivíduos americanos de raça negra é de 38%, comparativamente com 29% na raça branca.

A hereditabilidade calculada a partir de estudos feitos em gémeos indica um valor de 0,6. Há algumas dezenas de genes específicos (entre 20 a 50) envolvidos na hipertensão arterial, entre os quais o que codifica o angiotensinogénio. Os factores de risco de natureza ambiental são a ingestão elevada de sódio, uma dieta rica em gordura, a ingestão de álcool, o "stress",

a falta de exercício físico e a obesidade. A idade, o sexo masculino, a raça negra e a existência de familiares com hipertensão arterial são outros factores de risco que devem ser considerados. Relativamente à idade, refira-se que a percentagem de indivíduos hipertensos sobe até 40% nas idades compreendidas entre os 75 e os 79 anos.

O risco para a hipertensão arterial essencial varia com o grau de parentesco, o sexo e o número de indivíduos afectados na família. Quando os dois pais são normotensos, o risco para um filho ser hipertenso é de 4%. Contudo, quando um dos pais é hipertenso, o risco varia entre 8% e 28% e quando os dois pais são hipertensos o risco varia entre 25% e 45%. Os factores ambientais parecem ter um efeito *major* no desencadear da hipertensão essencial, conforme os resultados de estudos realizados em migrantes.

5.2.5.9. OBESIDADE

Considera-se que há obesidade quando o peso corporal excede em 20% o limite superior dos valores considerados normais. Pode também considerar-se que há obesidade quando o índice de massa corporal (IMC) é superior a 30 kg/m². O IMC é igual ao quociente entre o peso corporal (em kilogramas) e a altura ao quadrado (em metros).

A obesidade é um factor de risco para diversas doenças, em que se incluem a doença cardíaca coronária, os acidentes vasculares cerebrais e a diabetes tipo 2.

Entre os múltiplos genes que têm sido relacionados com o desenvolvimento de obesidade encontra-se o que codifica a leptina. A leptina é uma hormona produzida pelo tecido adiposo, por efeito da saciedade. Actua no hipotálamo, onde se localizam os centros da saciedade e da fome. Um dos mecanismos possíveis, embora raro, subjacente ao desenvolvimento de obesidade no homem, poderá estar associado a insensibilidade dos receptores para a leptina. Desta forma, por anulação da retroregulação mediada pela leptina produzida pelos adipócitos hipertrofiados ou hiperplásicos, não seria inibido o apetite.

A obesidade apresenta uma hereditabilidade que pode atingir valores da ordem de 70% a 80%, o que demonstra que a componente genética exerce um papel significativo no aumento do IMC.

5.3. HEREDITARIEDADE MITOCONDRIAL

A hereditariedade mitocondrial assenta na informação genética transmitida pelo DNA mitocondrial. Associadas ao DNA mitocondrial de uma célula podem encontrar-se duas condições: homoplasmia e heteroplasmia. A homoplasmia traduz a presença de identidade do DNA mitocondrial numa célula, seja normal ou mutado, enquanto que a heteroplasmia designa a condição em que coexistem DNA mitocondrial normal e DNA mitocondrial mutado numa célula. Nos casos de heteroplasmia, durante as divisões sucessivas a partir de uma célula única, podem formar-se, aparentemente ao acaso, diferentes linhas celulares em relação ao conteúdo em DNA mitocondrial, ou ainda linhas apenas com DNA mutado ou com DNA normal.

As mutações do DNA mitocondrial desempenham um papel significativo no desenvolvimento de doenças crónicas degenerativas, particularmente em órgãos que requerem elevados níveis de energia como o cérebro, o músculo estriado esquelético e o músculo estriado cardíaco. As manifestações clínicas resultam de uma redução acentuada da produção de energia mitocondrial, como consequência de um aumento da percentagem de moléculas de DNA mitocondrial mutadas.

São exemplos de doenças provocadas por mutações a nível do DNA mitocondrial, a encefalomiopatia mitocondrial familiar (doença que cursa com epilepsia mioclónica, miopatia e, por vezes, com surdez, demência, ataxia, hipoventilação e cardiomiopatia) ou a neuropatia óptica hereditária de Leber. A neuropatia óptica hereditária de Leber é devida a alterações das proteínas envolvidas na cadeia de transporte de electrões. O primeiro sintoma a aparecer é a perda da visão central, a que se segue o aparecimento de escotoma central. Desenvolve-se, habitualmente, entre os 20 e os 30 anos, embora haja casos que ocorrem desde a infância e outros em idades mais avançadas. A perda da visão observa-se para os dois olhos em simultâneo. A proporção de indivíduos do sexo masculino afectados em relação aos indivíduos do sexo feminino é de 4:1.

Na hereditariedade mitocondrial distinguem-se as seguintes características (Fig VII.10):

- a doença é transmitida sempre por via materna;
- na descendência de uma mulher doente, os homens e as mulheres são doentes;

- um homem afectado tem descendência saudável;
- pode-se observar heterogeneidade nos indivíduos afectados (devido a heteroplasmia);
- os órgãos são afectados de forma diversa em função do tecido preponderante.

Nos casos em que há heteroplasmia numa mulher afectada, não é possível prever o que acontece na descendência já que um descendente pode herdar mitocôndrias normais ou mitocôndrias com a mutação ou ainda uma mistura dos dois tipos em proporções variáveis. A expressividade pode assim variar entre irmãos, devido a mutações de severidade diversa, em diferentes genes. Por outro lado, a severidade tem ainda a ver com a percentagem de mitocôndrias com mutações que ocorrem em cada órgão, com a percentagem de células com mitocôndrias mutadas (v.g., uma elevada percentagem de células nervosas com mitocôndrias mutadas) e com o reflexo das deficiências provocadas nesses órgãos para o fenótipo doente. As condições de homoplasmia para as mutações não serão compatíveis com o desenvolvimento embrionário.

A natureza materna da transmissão hereditária do DNA mitocondrial deve-se ao facto de as mitocôndrias de origem paterna serem eliminadas após a penetração do espermatozóide no ovócito. Por outro lado, no citoplasma de um ovócito humano existem cerca de 100.000 mitocôndrias, enquanto que um espermatozóide contém cerca de 100 mitocôndrias.

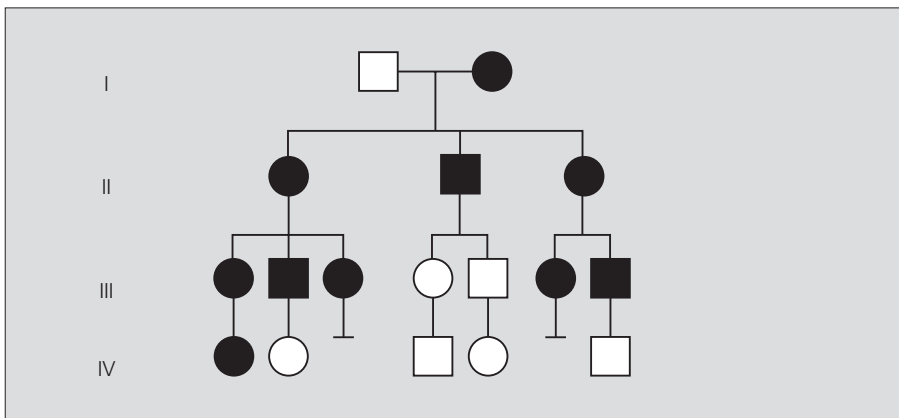


Fig. VII.10 – Heredograma característico de hereditariedade mitocondrial, com homoplasmia.

5.4. "IMPRINTING" GENÓMICO

De acordo com os conceitos clássicos da genética mendeliana, um gene comporta-se do mesmo modo, independentemente do sexo do progenitor através do qual foi herdado pelo descendente. No entanto, apesar deste conceito continuar a ser verdadeiro para muitos caracteres genéticos, calcula-se que haverá cerca de 1% dos genes humanos cuja expressão não é independente do sexo do progenitor, estando sujeitos a "imprinting" genómico. O "imprinting" consiste numa modificação epigenética da expressão génica, de natureza reversível, que inibe a expressão de um alelo em gerações sucessivas, em função do sexo do progenitor que o transmite. Cria haploidia funcional localizada a um *locus*.

A inibição da expressão génica, a nível da transcrição, é devida à ligação de um radical metilo a bases citosina, na região reguladora do gene. Os genes que sofrem "imprinting" evidenciam, caracteristicamente, regiões ricas em C-G com metilação diferenciada. A metilação ocorre durante a gametogénese (Fig VII.11) e mantém-se estável durante as divisões mitóticas, atingindo apenas algumas regiões cromossómicas específicas.

Designa-se por "imprinting" materno o processo em que a inactivação de um alelo resulta da sua passagem por um progenitor do sexo feminino e "imprinting" paterno se a inactivação ocorre no progenitor masculino.

Um alelo inactivado por "imprinting" paterno (Fig VII.12), é transmitido pelo pai aos descendentes do sexo masculino e do sexo feminino numa forma inactivada. Na geração seguinte, continua inactivado nos descendentes dos indivíduos do sexo masculino e deixa de estar inactivado e passa a ser transcrito nos descendentes dos indivíduos do sexo feminino. Acontece o oposto no "imprinting" materno (Fig VII.13).

Embora a transmissão dos alelos sujeitos a "imprinting" obedeça às leis de Mendel, a sua expressão fenotípica não é mendeliana. O fenótipo pode ser afectado em termos de expressividade, idade de início ou natureza dos sintomas.

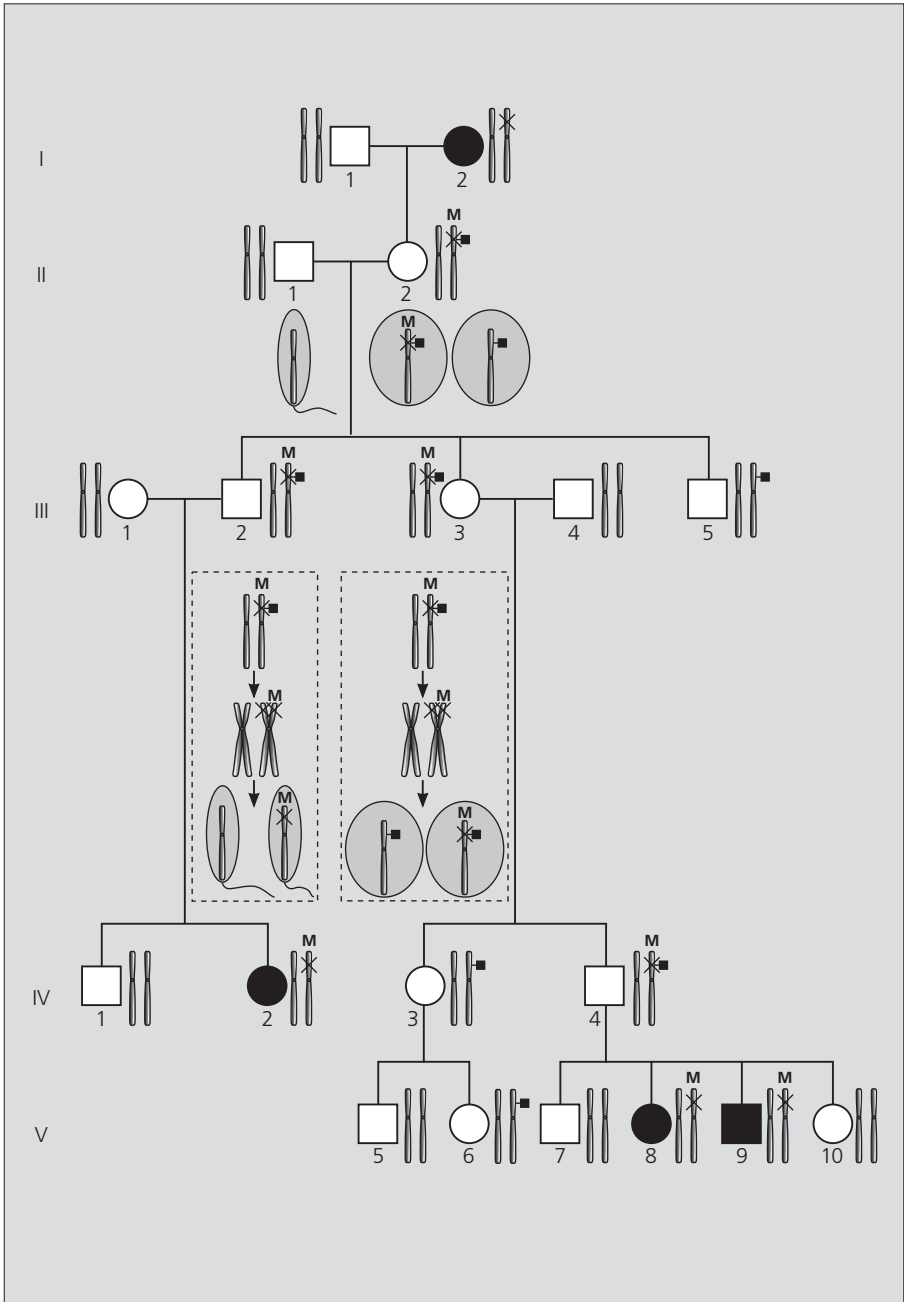


Fig. VII.11 – Esquema ilustrativo da segregação cromossômica e expressão fenotípica dos alelos de um locus sujeito a "imprinting" materno. A mutação é de natureza autossômica dominante. A inativação do alelo mutado, por metilação, está assinalada pelo pequeno quadrado a negro anexo ao local da mutação (X). M – cromossoma de origem materna na geração II.

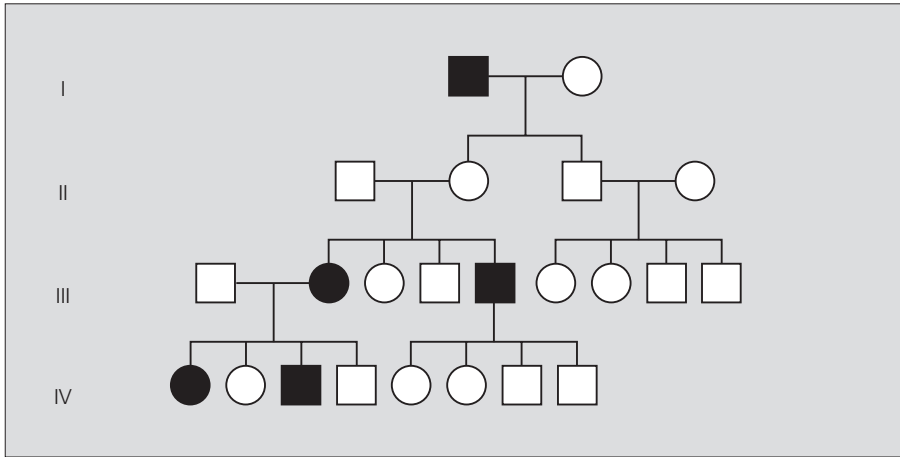


Fig. VII.12 – Heredograma característico de hereditariedade sujeita a “imprinting” paterno.

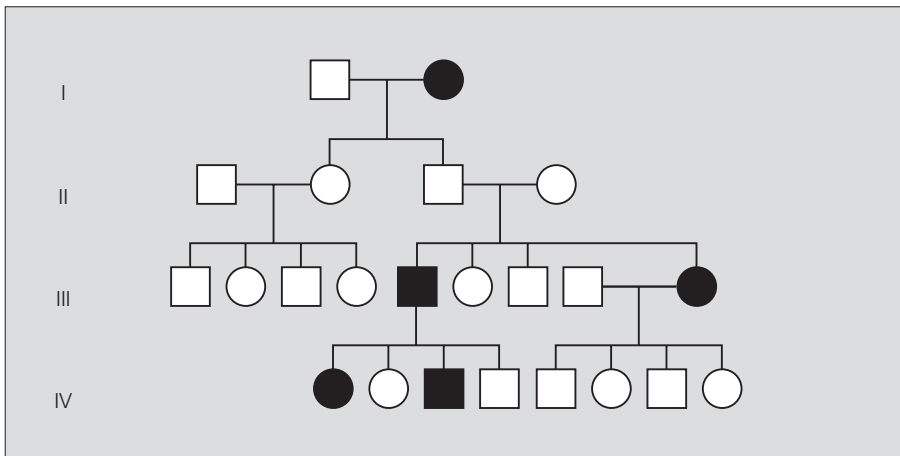


Fig. VII.13 – Heredograma característico de hereditariedade sujeita a “imprinting” materno.

Pode acontecer que o “imprinting” de um determinado gene se verifique apenas em alguns tecidos do organismo, ou que a sua expressão seja monoalélica em alguns tecidos e bi-alélica em outros tecidos do mesmo indivíduo. Pode ainda acontecer que o “imprinting” de determinados genes se verifique apenas durante algumas fases do desenvolvimento. Como exemplos refiram-se

o gene *IGF2* que apresenta “imprinting” materno em múltiplos tecidos, embora tenha expressão bi-alélica em órgãos como o cérebro e o fígado adulto, ou o gene *WT1* (associado ao tumor de Wilms quando mutado) com “imprinting” paterno presente em células da placenta e do cérebro, mas com expressão bi-alélica no rim. O gene *PEG1/MEST* apresenta “imprinting” materno no tecido fetal e expressão bi-alélica no sangue dos indivíduos adultos.

O primeiro exemplo de “imprinting” genómico foi descrito para a inativação exclusiva do cromossoma X paterno na trofoectoderme embrionária. A mola hidatiforme completa poderá também ser devida a “imprinting” em *loci* de um complemento cromossómico de origem exclusivamente paterna.

São exemplos de doenças em que foi identificado “imprinting” genómico, as síndromas de Angelman, de Prader-Willi e de Beckwith-Wiedeman, a distrofia miotónica, a coreia de Huntington, o retinoblastoma, o tumor de Wilms, a leucemia mielóide crónica e a diabetes juvenil.

O “imprinting” genómico pode estar subjacente ao aumento da frequência de determinados tipos de cancro na criança, como o retinoblastoma, o rabdomiossarcoma, o tumor de Wilms ou o osteossarcoma. Nestes casos, a inativação de um dos alelos de um *locus* antioncogénico seria herdado, já inativado por “imprinting”, através do espermatozóide ou do ovócito. A inativação ou perda do alelo funcional restante ocorreria posteriormente, conduzindo a homozigotia recessiva sob o ponto de vista funcional.

5.5. DIGENISMO

160

O digenismo diz respeito às condições em que um fenótipo é determinado por mutações em dois alelos localizados em *loci* que não estão em ligação. A doença não se exprime quando apenas um dos alelos mutados está presente. Como exemplo refira-se uma das formas de retinite pigmentar em que o fenótipo se desenvolve se um indivíduo tiver herdado uma mutação no gene *RDS* localizado em 6p e uma mutação no gene *ROM* localizado em 11q. Os dois progenitores não têm a doença.

5.6. DISSOMIA UNIPARENTAL

A dissomia uniparental é uma forma muito rara de hereditariedade. Pode ocorrer como heterodissomia ou como isodissomia. Na heterodissomia uniparental, o complemento cromossômico diplóide é constituído por um par de cromossomas homólogos que provém de um mesmo progenitor. A sua ocorrência dever-se-á a não-disjunção na primeira divisão da meiose. Na isodissomia uniparental, o par cromossômico em causa tem igualmente origem num único progenitor, mas resulta da duplicação de um dos cromossomas do par de homólogos. A isodissomia dever-se-á a não-disjunção na segunda divisão da meiose. Além dos mecanismos expostos baseados em erros ocorridos na meiose é ainda necessário, para que não ocorra trissomia, que haja perda do cromossoma oriundo do progenitor que contribuiria apenas com um cromossoma. Se um dos gametas for nulissômico por não-disjunção para um determinado cromossoma, a fecundação por um gameta haplóide normal dará origem a um zigoto monossômico para o cromossoma envolvido o qual, por duplicação, poderá originar isodissomia uniparental. Se um gameta normal for fecundado por um gameta nulissômico e houver não-disjunção subsequente também se originará isodissomia. Um mosaico constituído por células diplóides normais e células com isodissomia pode ter origem se uma célula do embrião perder um cromossoma e houver duplicação do cromossoma restante.

Cerca de 20% a 30% dos casos de síndrome de Prader-Willi são devidos a heterodissomia uniparental materna para o cromossoma 15. A heterodissomia uniparental paterna para o cromossoma 15 é responsável por casos de síndrome de Angelman. Há ainda casos de síndrome de Beckwith-Wiedeman em que está em causa isodissomia uniparental paterna para o cromossoma 11 com origem pós-zigótica. Uma condição de isodissomia uniparental parece também estar subjacente a dois casos raros de fibrose quística em que apenas um dos progenitores era heterozigótico para a mutação e houve lugar a um descendente homozigótico doente.

A influência do sexo do progenitor na regulação da expressão de alguns genes implica que, para o desenvolvimento normal de um novo ser, possa não bastar um genoma diplóide quando ocorre heterodissomia ou isodissomia uniparental. Se houver heterodissomia ou isodissomia uniparental

para genes que sofrem “imprinting” podem-se desenvolver doenças por falta de expressão de um gene que o “imprinting” tenha tornado inactivo ou porque há expressão de dois alelos idênticos mutados porque não ocorreu “imprinting”.

5.7. MUTAÇÕES DINÂMICAS E ANTECIPAÇÃO.

As mutações dinâmicas consistem na expansão do número de unidades repetitivas, tipicamente constituídas por tripletos (v.g., CAG), presentes num determinado gene ou na sua vizinhança. Em condições normais, um indivíduo é portador de um número reduzido de tripletos repetidos sequencialmente. A expansão repetitiva do número de tripletos presentes no progenitor ocorre durante a meiose, durante as fases precoces do desenvolvimento fetal devido a instabilidade mitótica pós-zigótica, ou ainda durante as duas fases. A transmissão das expansões correspondentes às mutações dinâmicas pode ocorrer por via paterna ou materna como na distrofia miotónica, apenas por via materna como na síndrome do X-frágil, ou por via paterna como acontece quase sempre na forma juvenil da coreia de Huntington.

Tabela VII.18. Exemplos de doenças em que foram identificadas mutações dinâmicas, por aumento do número de tripletos

	FRAXA	HD	DM1	SBMA	SCA1	DRPLA	DMJ
Frequência	1/2.000	1/10.000	1/8.000	1/50.000	1/20.000		
Gene	<i>FMR1</i>	<i>IT15</i>	<i>DMPK</i>	<i>SBMA</i>	<i>SCA1</i>	<i>B37</i>	<i>MJD</i>
Locus	Xq27.3	4p16.3	19q13.2-q13.3	Xq21	6p22-23	12p	14q32.1
Codão	CGG/ncod	CAG/cod	CTG/ncod	CAG/cod	CAG/cod	CAG/cod	CAG/cod
Nº de codões	n:6-54	n:6-26	n:5-37	n:<35	n:6-38	n:7-23	n:12-39
	p:55-200	p:27-35	p:28-50				
	m:>200	m:>36	m:>50	m:40-52	m:39-83	m:53-88	m:62-86
Antecipação	Sim	Sim (6%)	Sim			Sim	
Hered	Ligada ao X	AD	AD	X-Rec	AD	AD	AD
Expansão	mat	pat	mat+pat	pat/pred		pat	pat+mat(*)

FRAXA: X-frágil; HD: coreia de Huntington; DM1: distrofia miotónica tipo 1; SBMA: atrofia muscular espinhulbar (doença de Kennedy); SCA1: atrofia espinhocerebelosa tipo 1; DRPLA: atrofia dentatorrubropalidoluisiana; DMJ: doença de Machado-Joseph; n: número normal de codões; p: número de codões correspondente a pré-mutação; m: número de codões associado a doença; Hered: tipo de hereditariedade; ncod: localização da expansão em sequência não codificadora; cod: localização da expansão em sequência codificadora; X-Rec: recessiva ligada ao X; AD: autossómica dominante; pat: a expansão do número de codões ocorre no sexo masculino; mat: a expansão do número de codões ocorre no sexo feminino; pred: predominante. (*) Os pais transmitem maiores expansões e maiores contrações do que as mães.

Até um certo número de unidades repetitivas, a expansão não afecta a expressão normal do fenótipo, designando-se esta fase como de pré-mutação. O número de unidades repetitivas não se mantém constante durante o processo de transmissão entre as gerações podendo aumentar ou diminuir. A partir de um determinado número de tripletos, que varia consoante as doenças, observa-se um efeito patogénico em relação com essa expansão.

A antecipação é um fenómeno associado às mutações dinâmicas. Consiste no aumento de gravidade da expressão de um determinado alelo numa família, em gerações sucessivas. A idade de manifestação da doença pode também ser antecipada ao longo das gerações. Na Tabela VII.18 estão apresentadas diversas doenças devidas a mutações dinâmicas.

5.7.1. SÍNDROMA DO X-FRÁGIL

A síndrome do X-frágil é a segunda causa de atraso mental de natureza genética, logo a seguir à síndrome de Down. No entanto, como causa de atraso mental, tem maior importância do que a síndrome de Down devido ao maior número de pessoas em risco e à possibilidade de evitar estas situações recorrendo a aconselhamento genético e a DPN. Assim, deve ser rastreada a presença de X-frágil, em todos os indivíduos com atraso mental.

É mais frequente no sexo masculino do que no sexo feminino, com uma frequência, respectivamente, de 1 para 1.250 e de 1 para 1.650 a 5.000. Nos homens, a presença da mutação é acompanhada de atraso mental, enquanto que nas mulheres portadoras de um cromossoma X com mutação, o atraso mental é menos grave, havendo 20% a 30% dos casos com manifestações discretas e apenas 1% com manifestações moderadas. A diferença de intensidade das manifestações habitualmente observadas entre homens e mulheres, deve-se ao facto de o homem ser portador de um único cromossoma X e de a mulher possuir dois cromossomas X, sendo um deles, em geral, normal.

A síndrome do X-frágil é causada por mutação do gene *FMR1*, localizado em Xq27.3. O gene *FMR1* é constituído por 17 exões, originando diversos RNAm por "splicing" alternativo e, conseqüentemente, diversas isoformas de proteínas. Na região 5' do gene, não traduzida, encontra-se uma sequência polimórfica por variação do número de unidades repetitivas CGG. O número

normal de tripletos varia entre 6 e 54. Entre a normalidade e a mutação, há um estágio intermédio designado pré-mutação, durante o qual se encontra uma expansão do número de tripletos CGG para além do limite normal, mas ainda inferior ao número correspondente a mutação (Tabela VII.18). Na condição mutada, o gene *FMR1* está hipermetilado, pelo que não há transcrição.

O estudo citogenético continua a ser o primeiro método de diagnóstico da síndrome do X-frágil. Em células cultivadas em meio de cultura pobre em ácido fólico ou timidina, encontra-se um "sítio frágil" no cromossoma X. Esta alteração é detectada apenas em 10% a 40% das células, por razões que não se conhecem. A percentagem varia com a idade e com a inteligência do portador.

A existência de pré-mutação torna a condição muito instável, sobretudo na mulher. O número de tripletos CGG aumenta, habitualmente, em gerações sucessivas. O risco de haver uma expansão conducente a mutação, durante as meioses de uma mulher com pré-mutação, depende do número de unidades repetitivas presentes. Entre 61 e 70 unidades repetitivas, o risco para a mutação é de 16%. Para pré-mutações maternas com 71 a 80 codões CGG repetidos, o risco é de 70%. Nos casos em que a pré-mutação tem mais de 80 CGG, o risco de mutação é praticamente de 100%.

Os doentes com síndrome do X-frágil (Fig VII.14) apresentam, em adultos, uma face longa e estreita com prognatismo, orelhas grandes, macroorquidia,



Fig. VII.14 – Indivíduo do sexo masculino com síndrome do X-frágil. É patente o tamanho aumentado dos pavilhões auriculares.

atraso mental moderado a severo com tendência para um discurso repetitivo, hiperactividade, dificuldades de aprendizagem e um risco acrescido para autismo.

Embora ligada ao cromossoma X, a hereditariedade não tem características mendelianas (Fig VII.15). Na descendência de um homem portador de pré-mutação, os homens são normais e as mulheres são todas portadoras de pré-mutação. A expansão do número de tripletos pode ocorrer durante a meiose das mulheres constitucionalmente portadoras de uma pré-mutação. A extensão da expansão não é constante entre os descendentes atingidos. Assim, mesmo os indivíduos que herdam a mutação, podem apresentar sintomatologia variável, consoante o número de tripletos. Quanto maior o número de tripletos, mais graves são as manifestações e mais precocemente se expressam.

A mãe normal de um indivíduo do sexo masculino afectado é portadora obrigatória de um cromossoma X com pré-mutação, o que pode ser comprovado por estudo citogenético. Nestas condições, 40% a 50% dos descendentes do sexo masculino evidenciarão síndrome do X-frágil. Nas descendentes portadoras do cromossoma com o sítio frágil, cerca de 80% terão atraso mental discreto.

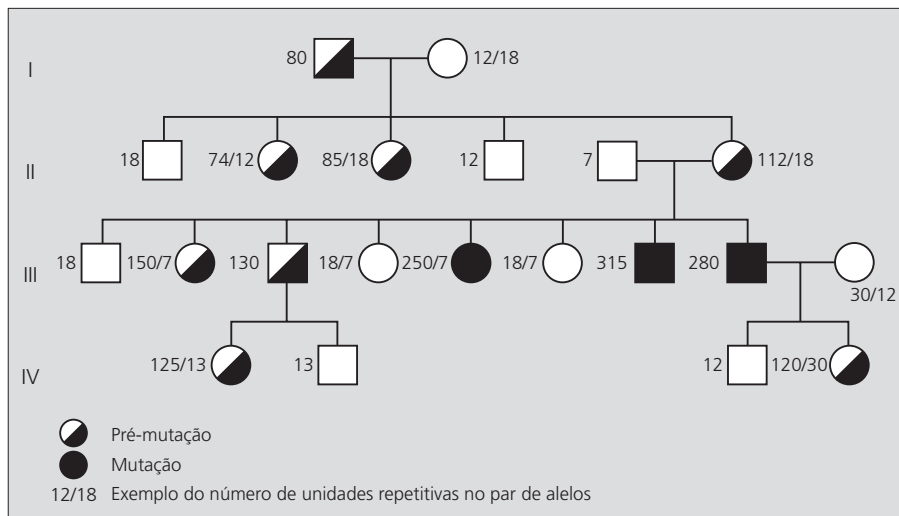


Fig. VII.15 – Hereditograma de um caso de síndrome de X-frágil, com indicação da variação interindividual do número de codões CGG (v.g., 12/18 e 280), associada à natureza dinâmica da mutação.

A penetrância da mutação não é completa nos homens, havendo cerca de 20% com a mutação que não expressam as características da síndrome do X-frágil. Embora os doentes não tenham capacidade reprodutiva, os portadores da mutação que não desenvolvem a síndrome podem-se reproduzir. Transmitem assim a mutação a todas as filhas, sendo todos os filhos normais.

CAPÍTULO VIII

GENÉTICA DE POPULAÇÕES

1. INTRODUÇÃO

A genética de populações estuda a frequência com que ocorrem os genes normais ou anormais numa população, estabelecendo as diferenças quantitativas da sua frequência. Trata-se de uma área da Genética dedicada ao estudo da variabilidade genética hereditária e das formas como é influenciada ao longo das gerações e em função dos factores ambientais.

Entre as aplicações da genética de populações contam-se o cálculo da frequência de portadores de alelos recessivos, a detecção de desequilíbrios de ligação génica ou a análise de questões relacionadas com a evolução humana. A evolução pode, por esta via, ser entendida como consequência da alteração da frequência de determinados genótipos e do aparecimento e expansão de novos genótipos decorrentes de mutações que conferem vantagem biológica aos seus portadores. A variabilidade das frequências alélicas para diferentes grupos étnicos está associada a significativas diferenças da incidência de determinadas patologias humanas em função da sub-população em causa (Tabela VIII.1).

Os estudos de genética de populações são mais simples quando se referem a um traço ou carácter cuja transmissão se rege pelas leis de Mendel. Contudo, muitos dos caracteres mais importantes ou mais interessantes dependem de vários genes que frequentemente interagem com outros genes e com o meio ambiente.

Tabela VIII.1. Exemplos de sub-populações com aumento da frequência para patologias de natureza genética hereditária

POPULAÇÃO	PATOLOGIA
Bacia do Mediterrâneo (gregos, italianos)	Deficiência em G6PD
	Talassémia β
	Febre mediterrânea familiar
Branços sul-africanos	Homozigotia para a hipercolesterolemia familiar
Chineses	Deficiência em G6PD
	Deficiência em lactase do adulto
	Talassémia α
Escandinavos	Deficiência em α 1-antitripsina
Europeus (Norte da Europa)	Fibrose quística
Japoneses	Acatasémia
Negros (África)	Drepanocitose
	Deficiência em G6PD

Em genética de populações usa-se a designação tronco para indicar a pessoa de quem descendem os indivíduos consanguíneos. Uma linha consiste na sequência de passos que liga um indivíduo ao seu consanguíneo, passando pelo ancestral comum. A linha que une dois descendentes e um ancestral comum no intervalo de uma geração tem dois passos: um passo do descendente ao ancestral e outro do ancestral ao outro descendente. O termo grau é uma medida de distância entre duas pessoas consanguíneas. Para o Direito Canónico, um grau corresponde a uma geração e para o Direito Civil português um grau corresponde a um passo. Assim, a consanguinidade entre dois irmãos é de primeiro grau para o Direito Canónico e de segundo grau para o Direito Civil, e entre primos direitos é, respectivamente, de segundo grau e de quarto grau. Fala-se de consanguinidade completa a que é dada por um tronco comum representado por um casal e de consanguinidade incompleta quando o antepassado considerado tronco se casou duas ou mais vezes sendo, por isso, o único ancestral comum para duas ou mais pessoas. Numa família, designam-se por familiares próximos, os membros com familiares em comum até ao grau de bisavós. Designam-se como casamentos consanguíneos os que ocorrem entre familiares próximos.

2. FREQUÊNCIA ALÉLICA E GENOTÍPICA

Se for possível examinar o conteúdo alélico de uma população inteira, relativamente a um determinado carácter, poder-se-á determinar quantos elementos da população têm duas cópias do mesmo alelo num *locus* de um determinado par de cromossomas, quantos têm só uma cópia e quantos não têm nenhuma cópia. Para dois ou mais alelos responsáveis por um carácter a razão encontrada entre o número total de cópias de um determinado alelo e o número total de alelos determinado na população considerada, indica a frequência relativa ou proporção com que o alelo estudado ocorre nessa população. Habitualmente, os estudos da frequência de um alelo numa população são feitos em amostras representativas dessa população. A soma das frequências de todos os alelos que concorrem para um *locus* é igual a um (v.g., $p_A + q_a = 1$, no caso de dois alelos).

Quando o número de *loci* for maior que um, o número de genótipos será x^n , sendo x o número possível de genótipos para cada *locus*, conforme o número de alelos, e n o número de *loci* implicados.

Um dos modos de detectar a variedade de alelos baseia-se em estudos electroforéticos do fenótipo (a proteína, v.g., enzima esterase-2). Esta enzima é codificada por vários alelos que coexistem numa determinada população. Em cada indivíduo só ocorrem dois alelos (ou só um alelo em duplicado, na forma homozigótica). Embora o produto de qualquer dos alelos seja a enzima esterase-2, a sequência de aminoácidos resultante de cada um dos alelos não é exactamente igual, ainda que essa diferença não afecte a função. Assim, é possível diferenciar o produto de cada alelo analisando a sua migração em estudos electroforéticos e, desse modo, agrupar os indivíduos em função do par de alelos de que são portadores, entre os diversos pares de alelos que podem resultar das combinações de alelos possíveis. Seguidamente, pode ser determinada a frequência de cada alelo na população estudada.

Nem sempre é possível determinar a frequência de um alelo a partir da sua expressão fenotípica, seja pela detecção directa da proteína, seja pela determinação da sua actividade enzimática. As frequências determinadas a partir da actividade enzimática podem ser influenciadas por factores metabólicos ou externos. Por isso, cada vez mais se recorre à genotipagem por estudos moleculares do DNA, frequentemente através de métodos que aliam a PCR e a determinação de RFLPs.

3. EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

A frequência de dois alelos presentes numa população tende a manter-se constante ao longo das gerações. Assim, se dois alelos *A* e *a* se encontrarem numa grande população, respectivamente com a frequência *p* e *q*, qualquer que esta seja (e sendo *A* e *a* os únicos alelos para o *locus* em causa, $p + q = 1$), após uma geração com acasalamento ao acaso, os três genótipos *AA*, *Aa* e *aa* encontram-se em equilíbrio nas proporções relativas p^2 (para o genótipo *AA*), $2pq$ (para o genótipo *Aa*) e q^2 (para o genótipo *aa*) (Tabela VIII.2). O equilíbrio anterior é designado como equilíbrio de Hardy-Weinberg. A soma das frequências genotípicas correspondentes aos três únicos genótipos que concorrem para o *locus* em causa é igual a 1 ($p^2 + 2pq + q^2 = 1$).

Tabela VIII.2. Frequências genotípicas para um *locus* para que concorrem os alelos *A* e *a*

		Gâmetas maternos	
		<i>A</i> (<i>p</i>)	<i>a</i> (<i>q</i>)
Gâmetas paternos	<i>A</i> (<i>p</i>)	<i>AA</i> (p^2)	<i>Aa</i> (pq)
	<i>a</i> (<i>q</i>)	<i>Aa</i> (pq)	<i>aa</i> (q^2)

Este equilíbrio mantém-se de geração em geração (equilíbrio genético), desde que os cruzamentos sejam ao acaso (panmixia), as frequências alélicas sejam iguais no sexo masculino e no sexo feminino e não haja uma alteração da frequência dos genes na população por migração, mutação ou selecção. Nestas condições, desde que se trate dos alelos de um só *locus* autossómico (sejam dois ou mais alelos), o equilíbrio verifica-se ao fim de uma geração.

Para um *locus* ligado ao cromossoma X, o equilíbrio só é atingido ao fim de várias gerações. Para dois *loci*, o número de gerações necessárias para ser atingido o equilíbrio pode ser muito maior, o que depende da fracção de recombinação.

A frequência de heterozigotos é maior para 3 alelos do que para 2 alelos, quando referidos a um só *locus*. Numa população, os heterozigotos são muito mais frequentes do que os homozigotos, para a forma recessiva do gene. Quanto maior for o número de alelos e mais próximas as suas frequências, tanto maior será o número de heterozigotos e consequentemente a variabilidade génica.

Nos indivíduos do sexo feminino, com dois cromossomas X, a frequência dos alelos ligados ao cromossoma X segue os mesmos princípios que foram enunciados para os autossomas, considerando o acasalamento ao acaso. Nos indivíduos do sexo masculino, só com um cromossoma X, a frequência genotípica dos alelos ligados ao cromossoma X é igual à frequência do alelo no sexo masculino.

3.1. FACTORES QUE AFECTAM O EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

A) *Migração* – O fenómeno da migração diz respeito ao movimento de grupos de indivíduos, mais ou menos numerosos, que chegam a uma região e se misturam com a população autóctone. A entrada de uma determinada percentagem de genes numa população altera a frequência génica verificada antes da migração.

Desde que os indivíduos que saem ou entram numa população não sejam sujeitos a selecção prévia e o seu número não seja significativo relativamente ao número de elementos dessa população, mantém-se o equilíbrio de Hardy-Weinberg na população de origem.

B) *Mutação* – Diz respeito ao aparecimento de um gene novo numa população e constitui a fonte de variação genética nessa população. A taxa de mutação por geração na espécie humana varia consoante os genes, entre 1/10.000 na neurofibromatose até menos de 1/1.000.000 na coreia de Huntington, tomando exemplos de valores relativos à população da Europa Ocidental.

C) *Seleção* – Refere-se à selecção de um alelo ou alelos, em detrimento de outro alelo cuja ocorrência num indivíduo reduza a sua capacidade para procriar. Em termos matemáticos traduz-se na probabilidade que um gene mutado tem de passar à geração seguinte, em comparação com a probabilidade do gene normal. Os mecanismos de selecção são múltiplos, podendo ser naturais ou artificiais e incluindo mesmo factores sociais e o equilíbrio psicológico. Exercem-se em qualquer das etapas do desenvolvimento do indivíduo desde a concepção até à vida adulta. Pode contudo acontecer que um gene mutado não diminua a capacidade do indivíduo para resistir às pressões do meio que o rodeia. Um exemplo bem conhecido é o da drepanocitose, provocada pela ocorrência de hemoglobina S (HbS).

Na forma homozigótica para o gene recessivo, a sobrevivência é difícil, devido à acentuada anemia verificada. Contudo, na forma heterozigótica, o grau de anemia moderada não acarreta problemas significativos. Por outro lado, a ocorrência de HbS na forma heterozigótica dificulta o desenvolvimento do paludismo nos indivíduos que a possuem, uma vez que os glóbulos vermelhos infectados pelo agente do paludismo — *plasmodium falciparum* — são eliminados mais facilmente da circulação por fagocitose, o que não se passa com os indivíduos com Hb normal. Nas regiões em que o paludismo é endêmico, os indivíduos heterozigóticos para a HbS têm vantagem, em termos de sobrevivência, quando comparados com os indivíduos com hemoglobina normal. Nestas condições o equilíbrio de Hardy-Weinberg não se verifica. Perante a selecção do genótipo heterozigótico, a sua frequência é de facto mais elevada nas regiões com paludismo, quando comparada com regiões sem paludismo, não se verificando nas regiões palúdicas um equilíbrio de Hardy-Weinberg para este gene, idêntico ao existente na população geral.

D) *Equilíbrio entre selecção e mutação* – Um gene mutado que confira vantagem ao seu portador no processo de selecção natural, acabará por se instalar na população. Contudo, a situação mais frequente consiste na ocorrência de genes recessivos e desfavoráveis em consequência de mutação. Numa população há sempre genes deletérios que ocorrem por mutação e que não foram ainda eliminados. A frequência de um determinado alelo é o resultado do equilíbrio estabelecido entre a eliminação dos alelos mutados desfavoráveis, pelos mecanismos de selecção natural, e a sua ocorrência “de novo” provocada pela taxa de mutação. A velocidade de eliminação de um alelo mutado depende da sua natureza. Se a mutação originar um gene dominante deletério que cause a morte ao seu portador antes da idade reprodutiva, será eliminado na mesma geração em que ocorre. Se o alelo resultante não interferir significativamente na capacidade biológica, o equilíbrio entre mutação e selecção é atingido pela ocorrência de homozigotos, o que pode demorar dezenas de gerações a ocorrer, em condições de acasalamento ao acaso. Este equilíbrio entre selecção e mutação pode, contudo, ser afectado quando um gene recessivo, desfavorável em condições normais, confira vantagem ao seu portador na forma heterozigótica, perante condições de selecção específicas, como é o caso anteriormente descrito para o par HbS/paludismo.

Por intervenção médica, há três formas de alterar a frequência dos alelos de uma população:

- Por identificação dos portadores de alelos associados a doenças recessivas e subsequente aconselhamento, para que não haja lugar a acasalamento entre si, evitando deste modo o aparecimento da doença provocada por homozigotia para a forma mutada do gene;
- Por realização de DPN e interrupção voluntária de gravidez, nos casos em que seja identificada uma condição homozigótica, ou hemizigótica para as doenças ligadas ao cromossoma X, de modo a modificar a prevalência da doença e a frequência dos alelos mutados;
- Por tratamento médico de situações que seriam fatais ou incapacitantes, permitindo, deste modo, a passagem dos seus métodos à descendência.

E) *Deriva genética* – Diz respeito à fixação de alelos que ocorrem numa população pequena, de tal modo que muitos alelos teoricamente possíveis, considerando uma grande população, nunca ocorrem nessa população a partir de determinado momento, facto que é tanto mais importante quanto mais reduzida for a população. Ao fim de algumas gerações a constituição génica dessa população pode divergir consideravelmente da população geral, por ausência de alelos que deixaram de ocorrer nessa população. Se numa população há 3 alelos, A, B e C, para um carácter, e C é raro, pode acontecer que em determinado momento e por simples acaso, o alelo C não seja transmitido a nenhum descendente do grupo, por ser muito raro. Nas gerações seguintes o gene não ocorre.

A deriva genética tem-se verificado para vários caracteres, sendo os grupos sanguíneos ABO um exemplo em que os estudos abundam.

Uma situação que favorece a ocorrência de deriva genética verifica-se nos “isolados populacionais”, constituídos por pequenas populações isoladas, em que os membros da comunidade não se acasalam fora do grupo por razões geográficas, políticas, culturais ou religiosas. Nestas condições, além da deriva genética também ocorrem coeficientes mais elevados de consanguinidade.

F) *Acasalamento por escolha* – Ocorre quando os acasalamentos são feitos dentro de grupos organizados pelo fenótipo (cor da pele, altura, inteligência, etc.). Os fenótipos semelhantes tendem a ter genótipo semelhante. Este tipo de acasalamento aumenta a proporção de homozigotos na população.

G) *Endogomia* – Assentando o equilíbrio de Hardy-Weinberg na panmixia ou acasalamento ao acaso, a endogamia é uma das formas de contrariar tal equilíbrio. Na endogamia, caracterizada por acasalamentos entre consanguíneos, a frequência de homozigotos é maior do que a esperada. Tal facto é particularmente relevante quando se repercute na homozigotia para genes recessivos que reduzem a aptidão biológica dos indivíduos em que tal se verifique.

4. CONSANGUINIDADE E ENDOCRUZAMENTO

Entre indivíduos consanguíneos definem-se o coeficiente de consanguinidade e o coeficiente de endocruzamento. O *coeficiente de consanguinidade*, também chamado coeficiente de parentesco ou de coancestralidade, define a probabilidade que há de duas pessoas terem em comum, num determinado *locus*, um gene idêntico, herdado de um ancestral comum. De um modo mais geral, o coeficiente de consanguinidade refere-se à percentagem de genes que, entre consanguíneos, são idênticos por ascendência comum: 50% de genes em comum entre irmãos e entre pais e filhos, 25% entre tio/sobrinho, 12,5% entre primos.

O risco genético decorrente de consanguinidade é de considerar para descendentes de casais consanguíneos, mas não para descendentes de casais em que um dos progenitores é descendente de um casal consanguíneo e o outro progenitor é um indivíduo não aparentado. O casamento de dois irmãos com duas irmãs não é um caso de consanguinidade, embora o casamento entre filhos destes casais represente um risco genético acrescido para os seus descendentes, comparativamente com o risco registado entre primos.

Para calcular o coeficiente de consanguinidade contam-se as linhas que ligam os dois indivíduos através de cada ancestral comum e os passos de cada linha. O número de linhas representa-se por k e o número de passos por n . Estes valores entram depois na fórmula de cálculo do coeficiente de consanguinidade (r , de “relationship”), que se obtém pelo somatório das fracções correspondentes a cada uma das linhas que ligam os dois indivíduos. O valor de r indica a proporção de genes que em dois indivíduos são idênticos por terem sido herdados de um ascendente comum.

$$r = \sum_{i=1}^k [(1/2)^n]$$

Na contagem de passos para genes que são transmitidos no cromossoma X, o passo entre pai e filha não é contado; a probabilidade de passagem deste gene às filhas é igual a 1, uma vez que só têm um cromossoma X, e esse cromossoma tem de ser transmitido ao descendente para que este seja do sexo feminino. Para genes ligados ao cromossoma Y não há que contar passos. Dois indivíduos do sexo masculino ligados entre si por uma linha de indivíduos do sexo masculino, que não tenha sido quebrada em nenhum dos passos por um indivíduo afastado, do mesmo sexo, têm o mesmo cromossoma Y e o coeficiente é 1. Se tiver entrado um outro elemento do sexo masculino ou é 1 ou 0.

Diz-se que há *endocruzamento* quando os acasalamentos são feitos entre indivíduos mais relacionados pelo genótipo do que se fossem escolhidos ao acaso entre a população. Nestas condições, define-se o coeficiente de endocruzamento, F, como a proporção de *loci* para os quais um indivíduo é homozigótico por descendência ou, de outra forma, a probabilidade que existe de os dois alelos de um *locus* serem idênticos num descendente de um acasalamento consanguíneo. Este valor é 1/2 do coeficiente de consanguinidade dos pais do indivíduo considerado.

$$F = 1/2 \sum_{i=1}^k [(1/2)^n], \text{ ou seja, } F = 1/2 r$$

Para genes ligados ao cromossoma X, o coeficiente de endocruzamento é zero entre os descendentes de irmãos do sexo masculino, uma vez que não herdaram os genes presentes no cromossoma X do seu ancestral.

Quando o coeficiente de endocruzamento é zero, como acontece com o acasalamento ao acaso, a frequência genotípica observada para determinado *locus* é igual à esperada pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg. O aumento do coeficiente de endocruzamento traduz-se na redução da frequência de heterozigotos numa população. No limite, se o endocruzamento for completo (F = 1), a frequência de heterozigotos é zero, sendo a população constituída apenas por homozigotos. Assim, nos filhos de casais

consanguíneos, as frequências genotípicas que se determinem pelo princípio de Hardy-Weinberg para um *locus* são afectadas pelo factor de endocruzamento F multiplicado pelas frequências de p e q (Fpq). Nestas condições, à frequência dos genótipos homozigóticos p^2 e q^2 é adicionada a parcela Fpq (p^2+Fpq ; q^2+Fpq) e à frequência de heterozigóticos $2pq$ é subtraído o valor de $2Fpq$ ($2pq-2Fpq$). O efeito da consanguinidade é particularmente evidente na frequência genotípica dos heterozigóticos.

O coeficiente de endocruzamento é útil para prever a probabilidade que há de um filho de consanguíneos ser homozigoto para um gene recessivo, quando se sabe que um antepassado comum dos pais é portador desse gene. Também é útil para calcular a probabilidade relativa de ocorrência de doenças em acasalamentos de parentes muito próximos.

Nos casos de casais consanguíneos, a probabilidade de um filho herdar as duas cópias de um gene com a mutação é maior do que na população geral, uma vez que descendem de um antepassado comum e podem ter herdado desse antepassado o mesmo gene com a mutação. As consequências podem ser dramáticas (a todos os títulos) nos casos de incesto, em que o risco de alterações graves que incluem o atraso mental e a epilepsia é cerca de 40 vezes maior do que na população geral.

O casamento consanguíneo entre primos direitos acrescenta um risco para anomalias congénitas na descendência de cerca de 2%, aos cerca de 3% observados na população geral. Habitualmente, estão em causa condições recessivas, como algumas formas de atraso mental, de surdez e de cegueira, a fibrose quística, doenças metabólicas, drepanocitose ou talassémia *major*.

5. EXEMPLOS PRÁTICOS

176

5.1. DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA ALÉLICA

Tomando como exemplo uma população constituída por 400 indivíduos, em que 105 têm homozigotia para o alelo A , 200 têm homozigotia para o alelo a e 95 são heterozigotos Aa , qual a frequência relativa dos dois alelos nesta amostra de população?

$$\text{Alelo } A: 2 \times 105 + 1 \times 95 = 305$$

$$\text{Alelo } a: 2 \times 200 + 1 \times 95 = 495.$$

Designando por p a frequência dos alelos e sendo, neste caso, a soma do número de alelos A e a igual a 800, as respectivas frequências serão:

$$pA = 305/800 = 0,38$$

$$qa = 495/800 = 0,62$$

A soma das frequência de todos os alelos que concorrem para um *locus* é igual a um, pelo que:

$$pA + qa = 0,38 + 0,62 = 1$$

5.2. DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA GENOTÍPICA

Consideremos os alelos autossômicos A e a para um *locus*. Se os alelos A e a se encontram na população com a frequência pA e qa , os espermatozoides e os óvulos contêm-nos nessa mesma frequência. Num acasalamento ao acaso constituir-se-ão os genótipos AA , Aa e aa (Tabela VIII.2).

Ao genótipo AA corresponde a frequência p^2 , ao genótipo Aa a frequência $2pq$ e ao genótipo aa a frequência q^2 .

No caso de uma população de 1.000 indivíduos, em que a frequência do alelo A é de 0,9 e a do alelo a é de 0,1, a frequência é de 0,81 para o genótipo homozigótico AA , de 0,01 para o genótipo homozigótico aa e de 0,18 para o genótipo heterozigótico Aa (Tabela VIII.3).

O cálculo do número de indivíduos com cada tipo de genótipo obtém-se multiplicando o número total de indivíduos estudados pela frequência determinada para cada genótipo. Assim, o genótipo AA encontra-se em 810 elementos ($1.000 \times 0,81$), o genótipo aa em 10 ($1.000 \times 0,01$) e o genótipo heterozigótico Aa em 180 ($1.000 \times 0,18$).

Tabela VIII.3. Frequência dos genótipos

	A (0,9)	a (0,1)
A (0,9)	AA (0,81)	Aa (0,09)
a (0,1)	Aa (0,09)	aa (0,01)

Para três alelos A , B e C , com as frequências p_A , p_B e p_C , a frequência dos genótipos será $p^2A + p^2B + p^2C + 2pApB + 2pApC + 2pBpC$.

5.3. DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA ALÉLICA, POR CONHECIMENTO DA FREQUÊNCIA GENOTÍPICA

Quando se conhece a frequência genotípica, pode-se deduzir a frequência alélica. Assim, se numa população, num determinado *locus* ocorrerem as formas alélicas A e a , e as frequências genotípicas de AA , Aa e aa forem, respectivamente, 0,84, 0,15 e 0,01, a frequência do alelo A será igual à soma da frequência do genótipo homocigótico AA mais metade da frequência do genótipo Aa , ou seja $p(A) = 0,915$. De igual modo, a frequência do alelo a será igual à soma da frequência do genótipo aa mais metade da frequência do genótipo Aa , ou seja $q(a) = 0,085$. A soma de $p(A) + q(a)$ é igual a 1.

Para o caso de haver múltiplos alelos, a frequência de cada alelo será igual à soma da frequência do seu genótipo homocigótico mais metade da frequência de cada um dos genótipos heterocigóticos em que o alelo em causa se encontra.

5.4. APLICAÇÃO DO EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG A CONDIÇÕES AUTOSSÔMICAS RECESSIVAS

Uma das aplicações mais importantes do equilíbrio de Hardy-Weinberg consiste na determinação da frequência de portadores de uma mutação autossômica recessiva, a partir da frequência de doentes na população geral (v.g., fibrose quística).

A fibrose quística tem uma frequência de doentes em nados-vivos de 1/2.500). É provocada pela homocigotia para um alelo recessivo, que designaremos por a . Ao dizer-se que a frequência de recém-nascidos doentes é de 1/2.500, significa que se encontra um indivíduo com o genótipo homocigótico aa em cada 2.500 indivíduos da população geral. Pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg, é possível determinar a frequência do alelo recessivo.

$$q^2a = 1/2.500, \text{ ou seja, } qa = 1/50$$

É também possível determinar a frequência do alelo dominante. A soma das frequências do alelo dominante, que designaremos por A, com a do alelo recessivo é igual a um. Assim,

$$pA + qa = 1$$

$$pA = 1 - qa, \text{ ou seja, } 1 - 1/50 = 49/50.$$

Numa população em que os acasalamentos sejam feitos ao acaso e não haja factores que perturbem o equilíbrio de Hardy-Weinberg, é ainda possível calcular a frequência de indivíduos heterozigóticos para o gene mutado da fibrose quística, a partir dos valores previamente encontrados.

$$2pAqa, \text{ ou seja, } 2 \times 49/50 \times 1/50 \approx 1:25$$

5.5. APLICAÇÃO DO EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG A GENES LIGADOS AO CROMOSSOMA X

Considere-se, como exemplo, a hemofilia A determinada por um alelo recessivo ligado ao X, com uma frequência de 1/10.000 nos indivíduos do sexo masculino (doentes na forma hemizigótica). A frequência do alelo na população masculina corresponde à frequência do alelo na população geral. A frequência do alelo normal (p) e do alelo mutado (q) é idêntica no sexo masculino e no sexo feminino. Na população geral, cerca de 2/3 dos alelos com mutações recessivas ligadas ao X encontram-se nas mulheres e 1/3 nos homens, uma vez que as mulheres têm dois cromossomas X e os homens apenas um.

Nos indivíduos do sexo feminino, os heterozigotos serão portadores e os homozigotos serão doentes. Se a frequência do carácter nos indivíduos do sexo masculino for qa, a frequência do carácter na população feminina será qa × qa. Nestas condições, e para a hemofilia antes referida, nos indivíduos do sexo feminino com um cariótipo 46,XX haverá um doente em cada cem milhões, ou seja,

$$qa \times qa = 1/10.000 \times 1/10.000 = 1/100.000.000$$

Quando está presente uma mutação dominante localizada num alelo ligado ao cromossoma X e sendo, por exemplo, de 1/10.000 a frequência de mulheres afectadas, é possível determinar a frequência do alelo mutado, de homens afectados e de mulheres heterozigóticas e homozigóticas. Designem-se por D o alelo mutado e por d a forma normal do alelo.

O número de homens afectados será igual a metade do número encontrado para as mulheres, dado que têm apenas um cromossoma X, em vez dos dois cromossomas X presentes nas mulheres, ou seja 1/20.000. Por sua vez, a frequência do alelo mutado (qD) na população, será igual à frequência de homens doentes.

A frequência de mulheres afectadas é igual à soma do número de mulheres heterozigóticas para o alelo mutado (genótipo Dd , cuja frequência é $2pdqD$), com o número de mulheres homozigóticas para a forma mutada do gene (genótipo DD , cuja frequência é q^2D). No entanto, o valor de q^2D é desprezível $(1/20.000)^2$. Assim, a frequência de mulheres doentes é aproximadamente igual ao número de mulheres heterozigóticas.

5.6. EFEITOS DA CONSANGUINIDADE NAS FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS

A frequência de uma doença autossómica recessiva é de 1/10.000 indivíduos da população geral. Qual a frequência da doença nos descendentes de um casal de primos em primeiro grau?

Calcule-se a frequência do alelo normal p e do alelo recessivo q .

$$q^2 = 10.000, \text{ ou seja, } q = 1/100$$
$$p + q = 1, \text{ pelo que } p = 1 - 1/100 = 99/100$$

180

A frequência do genótipo homozigótico q^2 é adicionada da parcela Fpq . O valor de F (coeficiente de endocruzamento) para os descendentes de primos direitos é de 1/16. Assim, a frequência de homozigóticos recessivos devido à influência do endocruzamento será sete vezes superior.

$$q^2 + Fpq = 1/10.000 + 1/16 \times 99/100 \times 1/100$$

ou seja,

$$1/10.000 + 6/10.000 = 7/10.000$$

Comparativamente com o grande aumento da frequência de homozigotos recessivos, o aumento dos homozigotos normais é insignificante (cerca de 0,06%).

$$p^2 + Fpq = (99/100)^2 + 1/16 \times 99/100 \times 1/100$$

ou seja,

$$9801/10.000 + 6/10.000 = 9807/10.000$$

A redução de heterozigotos é, ainda assim, aparente, com um valor de cerca de 6%.

$$2pq - 2Fpq = 2 \times 99/100 \times 1/100 - 2 \times 1/16 \times 99/100 \times 1/100$$

ou seja,

$$198/10.000 - 12/10.000 = 186/10.000$$

5.7. CÁLCULOS DE CONSANGUINIDADE E ENDOCRUZAMENTO

Subjacente ao cálculo dos coeficientes de consanguinidade e de endocruzamento, dever-se-á ter presente que a probabilidade de um alelo presente num determinado *locus* de um dos progenitores, ser transmitido a um filho é de 1/2, pela aritmética da meiose, e de ser transmitido a um neto de $1/2 \times 1/2 = 1/4$. O mesmo raciocínio se aplica para as gerações seguintes.

Na Tabela VIII.4 estão indicados os coeficientes de consanguinidade e de endocruzamento para diversos níveis de parentesco, bem como o risco para doenças autossômicas recessivas na descendência dos casais consanguíneos com o parentesco considerado.

Tabela VIII.4. Coeficientes de consanguinidade e endocruzamento em função do parentesco

PARENTESCO	r	F	RISCO AR
Irmãos	1/2	1/4	1/8
Meios-irmãos	1/4	1/8	1/16
Tio-sobrinha, ou tia-sobrinho	1/4	1/8	1/16
Primos em 1º grau	1/8	1/16	1/32
Segundos primos	1/32	1/64	1/128

r – coeficiente de consanguinidade;

F – coeficiente de endocruzamento;

RISCO AR – risco para doenças autossômicas recessivas na descendência.

Para calcular a consanguinidade entre pai e filha (Fig. VIII.1), conta-se uma linha ($k = 1$) e um passo ($n = 1$). O coeficiente de consanguinidade é de $1/2$ (há 50% de identidade génica).

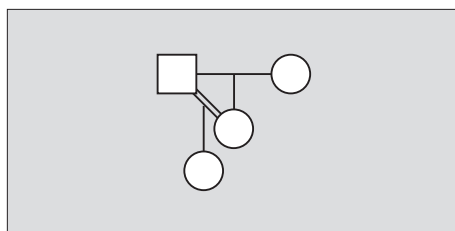


Fig. VIII.1 – Consanguinidade entre um pai e uma filha. Entre o pai e a filha conta-se um passo ($n=1$). O coeficiente de consanguinidade é $1/2$ (há 50% de identidade génica).

Para a consanguinidade entre irmãos (Fig. VIII.2), o número de passos é de dois ($n = 2$) para cada uma das linhas ($k = 2$) que os ligam, uma através do pai e outra através da mãe;. Assim, r será igual a $(1/2)^2 + (1/2)^2$, ou seja, $1/2$. Por sua vez, F será igual a $1/2 \times r$, ou seja, $1/4$.

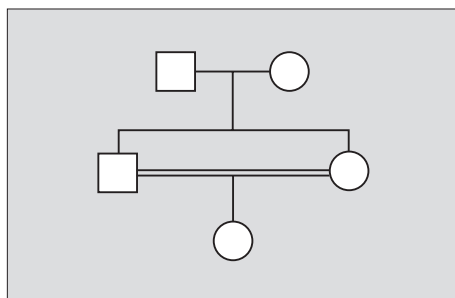


Fig. VIII. 2 – Consanguinidade entre irmãos. O número de passos entre irmãos é de dois para cada uma das duas linhas que os ligam, uma através do pai e outra através da mãe ($k = 2$; $n = 2$; $r = (1/2)^2 + (1/2)^2 = 1/2$. $F = 1/2 \times r = 1/4$).

Quando o cálculo de consanguinidade diz respeito ao parentesco entre um tio e uma sobrinha (Fig. VIII.3), existem três passos ($n = 3$) para cada uma das duas linhas ($k = 2$) que os ligam através dos antepassados comuns. Neste caso, r será igual a $(1/2)^3 + (1/2)^3$, ou seja $1/4$ e F será igual a $1/2 \times r$, ou seja $1/8$.

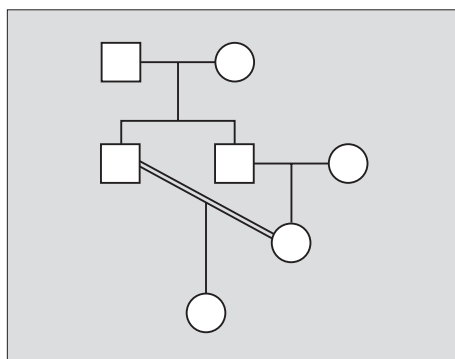


Fig. VIII. 3 – Consanguinidade entre um tio e uma sobrinha. Existem três passos para cada uma das duas linhas que os ligam através dos antepassados comuns ($k = 2$; $n = 3$; $r = (1/2)^3 + (1/2)^3 = 1/4$. $F = 1/2 \times r = 1/8$).

Nos casos de consanguinidade entre primos com dois avós em comum (Fig. VIII.4), há duas linhas que ligam os primos ($k = 2$), cada uma com quatro passos ($n = 4$). Assim, r será igual a $1/8$, como resultado da soma de $(1/2)^4$ com $(1/2)^4$. Por sua vez, sendo F igual a $1/2 \times r$, terá um valor de $1/16$.

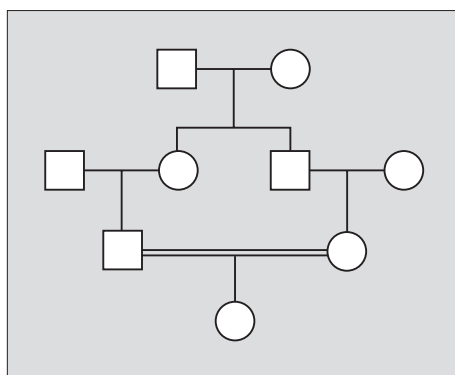


Fig. VIII. 4 – Consanguinidade entre primos com dois avós em comum. Há duas linhas que ligam estes primos ($k = 2$; $n = 4$; $r = (1/2)^4 + (1/2)^4 = 1/8$. $F = 1/2 \times r = 1/16$).

Se a consanguinidade disser respeito a primos com um único avô em comum (Fig. VIII.5), há apenas uma linha a ligar os dois primos ($k = 1$), sendo de quatro o número de passos ($n = 4$). Assim, r será igual a $(1/2)^4$, ou seja, $1/16$. Para F , o valor será de $1/32$.

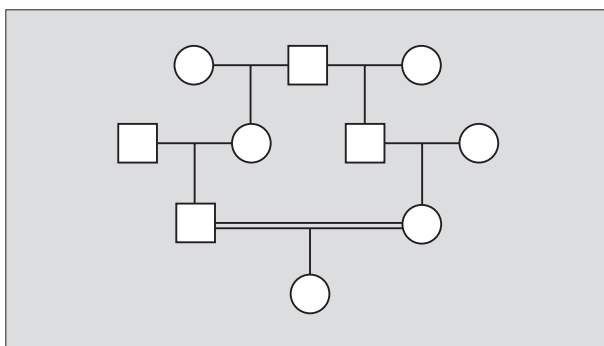


Fig. VIII. 5 – Consanguinidade entre primos, apenas com o avô em comum. Há apenas uma linha a ligar os dois primos ($k = 1$; $n = 4$; $r = (1/2)^4 = 1/16$. $F = 1/2 \times r = 1/32$).

Na família representada na Figura VIII.6, encontram-se dois casais consanguíneos. Para calcular o coeficiente de consanguinidade entre os membros da família indicados por IV-3 e IV-4, identificam-se os troncos comuns a ambos e as linhas e os passos correspondentes. Encontram-se quatro linhas ($k = 4$), duas com seis passos ($n = 6$) e as outras duas com quatro passos ($n = 4$), pelo que r será igual a $(1/2)^6 + (1/2)^6 + (1/2)^4 + (1/2)^4$, ou seja $5/32$.

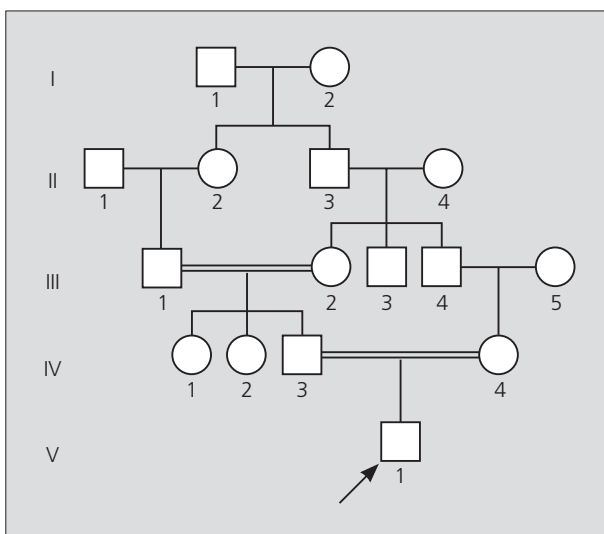


Fig. VIII. 6 – Heredograma em que se encontram dois casais consanguíneos. Para calcular o coeficiente de consanguinidade presente entre IV-3 e IV-4 identificam-se os troncos comuns a ambos e as linhas e os passos correspondentes ($r = (1/2)^6 + (1/2)^6 + (1/2)^4 + (1/2)^4$, ou seja $5/32$).

Se se tratar da consanguinidade entre os filhos dos casamentos entre os membros de dois pares de irmãos (Fig. VIII.7), r terá um valor de $1/4$, comparativamente com o valor de $1/8$, para primos direitos.

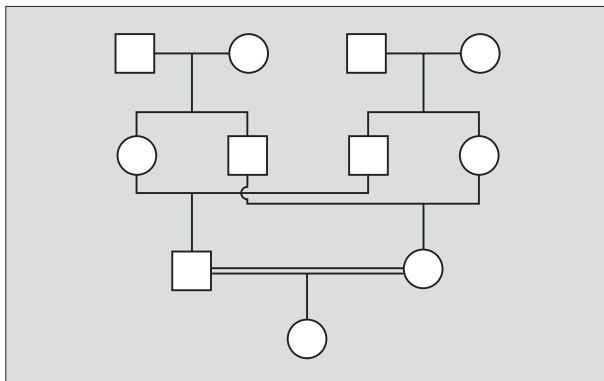


Fig. VIII. 7 – Consanguinidade observada para os filhos dos casamentos entre os membros de dois pares de irmãos. No caso presente, o coeficiente de consanguinidade é de $1/4$, comparativamente com o coeficiente de consanguinidade para primos direitos que é de $1/8$.

Para os filhos dos casamentos entre os membros de um par de irmãs gêmeas verdadeiras e de um par de irmãos (Fig. VIII.8), o valor de r será de $3/8$, comparativamente com o valor de $1/8$, para primos direitos.

Na verdade, uma vez que há identidade genética entre irmãos gêmeos monozigóticos, para efeito deste tipo de cálculos, comportam-se como uma única entidade genética.

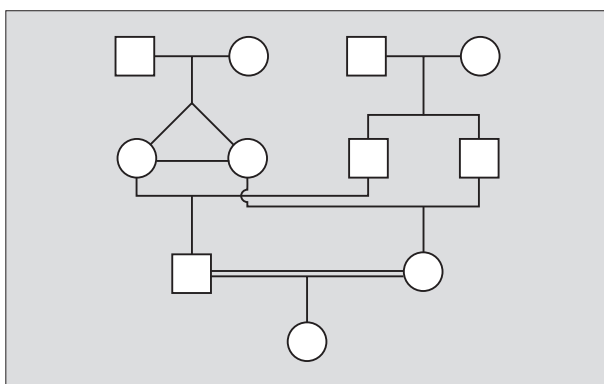


Fig. VIII. 8 – Consanguinidade observada para os filhos dos casamentos entre os membros de um par de irmãs gêmeas verdadeiras e de um par de irmãos. No caso presente, o coeficiente de consanguinidade é de $3/8$, comparativamente com o coeficiente de consanguinidade para primos direitos que é de $1/8$.

(Página deixada propositadamente em branco)

CAPÍTULO IX

CÁLCULOS DE RISCO

1. INTRODUÇÃO

O risco genético diz respeito à probabilidade de o descendente ou descendentes de um casal serem afectados por uma anomalia de natureza hereditária, devido à presença de um determinado gene ou conjunto de genes. A sua percepção tem uma componente objectiva e uma componente subjectiva.

A determinação do risco assenta numa história familiar detalhada, com elaboração de um heredograma o mais completo possível, na determinação do tipo de hereditariedade subjacente e num diagnóstico preciso. Se a hereditariedade for mendeliana, a indicação do risco de recorrência num membro de uma família não oferece habitualmente problemas, ressalvadas as condições já previamente indicadas que dificultam a identificação do tipo de hereditariedade. Contudo, nas condições multifactoriais os recursos da genética para apoiar o cálculo de risco continuam a ser pouco satisfatórios, dada a necessidade de recorrer a riscos empíricos. Relativamente às causas cromossómicas, a sua associação a condições hereditárias é relativamente rara.

A determinação e a comunicação do risco genético deve ter em conta as consequências para a pessoa em risco e para a família em termos do mal (ou prejuízo) que esse conhecimento pode acarretar, bem como da carga emocional para o indivíduo em causa e para a família.

O risco genético poderá aumentar de uma forma progressiva, embora lenta, com a melhoria dos cuidados médicos, na medida em que estes permitam que indivíduos com anomalias hereditárias possam atingir a idade

reprodutiva e originar descendentes, o que dificilmente aconteceria na ausência de tratamento médico. A terapia génica somática terá um efeito semelhante, já que não corrige a anomalia a nível das células germinais.

Por vezes, observa-se uma agregação familiar para uma doença, sem possibilidade de definir um padrão de hereditariedade. Neste casos, o risco para uma determinada doença é maior entre os familiares de um indivíduo com essa doença do que na população controlo. Diz-se que há uma história familiar “positiva”, quando a proporção de casos de doença com um familiar afectado é maior do que a proporção encontrada num grupo controlo adequado.

2. RISCO ABSOLUTO E RISCO RELATIVO

O risco absoluto e o risco relativo para um consulente, bem como o risco de recorrência para outros membros da família devem ser apresentados e explicados até que se tornem bem compreendidos. Habitualmente, quando se fala em risco de recorrência pretende-se caracterizar a probabilidade de uma determinada condição voltar a ocorrer em próxima gravidez, num filho gerado pelo mesmo casal, ou dentro de uma mesma família.

O risco absoluto traduz a probabilidade dos consulentes virem a ter uma determinada doença num determinado período de tempo, por acção de um determinado factor de risco específico. A indicação do risco relativo (RR) destina-se a tornar claro o aumento de risco para um consulente pertencente a um sub-grupo da população geral que partilhe, por exemplo, determinado ambiente profissional, uma mesma origem étnica ou uma idade semelhante, em relação ao risco geral observado quando se considera a população total.

Em génética mendeliana, o RR traduz a variação da frequência com que uma determinada doença ou carácter pode ocorrer nos indivíduos portadores de determinada alteração genética, em comparação com os indivíduos que não são portadores dessa alteração. Especificamente, o RR devido à presença de um genótipo é dado pelo quociente entre a probabilidade de ocorrência de determinada doença ou carácter devido à presença do genótipo predisponente e a probabilidade de ocorrência da mesma condição nos indivíduos da população sem aquele genótipo.

Um RR inferior a um, para desenvolver doença associada a um genótipo, indica que o risco para a doença é menor nos portadores do genótipo em causa do que nos elementos da população que não sejam portadores desse genótipo (tem um efeito protector). Quando o RR é maior do que um, o risco para desenvolver a doença ou caracter é maior nos portadores do genótipo do que nos não portadores.

Por exemplo, se numa subpopulação de mulheres portadoras de uma determinada mutação do gene *BRCA1*, o risco cumulativo para cancro da mama durante a vida for de 85% e o risco na população geral for de 10%, o RR para uma mulher da subpopulação considerada será o quociente entre 85% e 10%, ou seja 8,5, o que equivale a dizer que a presença da mutação numa mulher implica um aumento de RR de 8,5 vezes, em relação a uma mulher que não seja portadora da mutação em causa.

3. RISCO EMPÍRICO

Em múltiplas condições genéticas, apenas é possível determinar o risco empírico, como ocorre na maioria dos casos de natureza multifactorial, em que as causas genéticas e os mecanismos que as originam não são suficientemente bem conhecidos ou não são conhecidos. Também nas causas cromossómicas e mesmo nas causas mendelianas, o risco indicado é frequentemente empírico.

O risco empírico para uma condição é calculado a partir de estudos populacionais extensos pela constatação da tendência para a recorrência da anomalia nas famílias em que há um indivíduo atingido. Trata-se de uma estimativa baseada em dados observados, mais do que em bases teóricas.

Os valores dos riscos empíricos são habitualmente de confiança, desde que os dados que serviram de base à sua determinação tenham sido recolhidos em indivíduos seleccionados sem enviesamentos e que o consulente em causa faça parte da mesma população ou de uma população com idênticas características. Na verdade, o risco empírico para desenvolver uma determinada condição pode apresentar variações regionais, sendo possível definir zonas com maior incidência do que outras. As variações

podem também verificar-se ao longo do tempo, como aconteceu com a redução do risco para defeitos do tubo neural, nos países em que houve generalização da tomada de ácido fólico durante a gravidez.

Por outro lado, o risco empírico para novos descendentes de um casal não se mantém igual ao da população geral, quando entre os anteriores filhos desse casal já ocorreu a condição em causa (alteração do risco de recorrência). O risco é ainda influenciado pela presença de casos idênticos noutros familiares próximos e não apenas em irmãos e, frequentemente, também pela idade de aparecimento da condição.

4. COMUNICAÇÃO DO RISCO

As opções e formas de comunicação do risco genético deverão ter em consideração o que o médico conhece sobre o seu consulente, nomeadamente no que respeita ao perfil educacional, sócio-económico e psicológico.

A percepção individual do risco é diversa, pelo que se deverá estar preparado para a sua indicação em termos quantitativos precisos ou aproximados (v.g., pequeno, médio, elevado). O valor que se transmite ao consulente é, habitualmente, uma probabilidade de ocorrência, ou seja o número de vezes que um determinado acontecimento pode ocorrer num número elevado de possibilidades. Convencionalmente, as probabilidades designam-se de modo decimal (entre zero e um), sendo que o zero corresponde à probabilidade nula de ocorrência do acontecimento (caracter ou doença) e um corresponde à probabilidade de o acontecimento se verificar sempre. Se um acontecimento se observa uma vez em cinco possibilidades de ocorrência, tal facto designa-se como uma probabilidade de 0,2. Nestas condições e para o mesmo acontecimento, a probabilidade de não ocorrer é de quatro vezes em cinco, ou seja de 0,8. Naturalmente que a soma da probabilidade de ocorrência (0,2) com a probabilidade de não ocorrência (0,8) é igual a um. Há outros modos de indicar as probabilidades a que se pode recorrer para tornar mais clara a explicação do seu significado, em função da capacidade de compreensão dos consulentes (Tabela IX.1).

Tabela IX.1. Modos equivalentes de indicar riscos durante o aconselhamento genético

PROBABILIDADE	DECIMAL (0-1)	PERCENTAGEM (%)	FRACÇÃO	"ODDS"
Ocorrência: 1 em 5	0,2	20%	1/5	1 para 4
Não-ocorrência: 4 em 5	0,8	80%	4/5	4 para 1

Para além da "quantidade" do risco, a decisão do consulente assenta também na "qualidade" do risco, ou seja nas consequências ("peso") em termos de gravidade das alterações se vier a ter a doença, na experiência prévia em relação à afecção em causa, na existência ou ausência de medidas correctivas, na disponibilidade de diagnóstico precoce ou de prevenção, na idade em que as pessoas são afectadas e no número de pessoas atingidas na família. A "qualidade" do risco é o factor que mais conta na decisão sobre as opções reprodutivas.

Um risco de recorrência elevado, ainda que seja de natureza autossómica dominante, mas que não interfira significativamente com uma existência normal (v.g. a hipodontia ou a polidactilia), ou que tenha solução terapêutica como a fenda labial, raramente será considerado um problema. No entanto, uma condição como o defeito do tubo neural, numa população em que o risco de recorrência seja de 3% quando já há um descendente afectado, é habitualmente motivo de séria preocupação.

Para além das indicações quantitativas sobre o risco genético, há ainda modos qualitativos de indicar o risco de recorrência, conforme sintetizado na Tabela IX.2 para condições monogénicas, cromossómicas e multifactoriais.

Há erros de interpretação da informação sobre riscos que por serem muito comuns merecem referência. Um destes erros diz respeito, por exemplo, à informação do risco de um em cinco para determinada doença.

Tabela IX.2. Risco de recorrência em função do tipo de anomalia genética presente

TIPO DE ANOMALIA	RISCO DE RECORRÊNCIA	EXCEPÇÕES
Alterações cromossómicas	Baixo	Translocações equilibradas
Doenças mendelianas	Alto	Neomutações
Doenças multifactoriais	Baixo	Múltiplos casos na família, severidade dos sintomas, precocidade, proximidade do grau de parentesco, presença no sexo menos afectado.

É comum ser entendido como se o nascimento de um indivíduo afectado numa fratria signifique que os próximos quatro irmãos não correm o mesmo risco de serem afectados. É essencial esclarecer que o risco indicado se refere a cada gravidez, inclusive recorrendo à analogia com o lançamento de uma moeda, em termos de igual probabilidade de “sair cara ou coroa” de cada vez que se lança a moeda!

Quando da indicação do risco é ainda necessário informar o consulente sobre o risco de cerca de 3% de ocorrência de uma malformação congénita ou doença de causa genética que uma gravidez na população geral representa, independentemente de riscos acrescidos de causa hereditária. Este valor pode ajudar a relativizar valores de risco de recorrência de causa hereditária relativamente baixos.

5. CÁLCULO DE PROBABILIDADES: EXCLUSÃO E INDEPENDÊNCIA DOS ACONTECIMENTOS

Na perspectiva do cálculo de probabilidades para a ocorrência de um carácter ou doença, é necessário esclarecer, face a duas possibilidades, se uma exclui a outra ou se são independentes.

A ocorrência de uma possibilidade pode excluir a outra, como acontece com uma gravidez: o embrião ou é do sexo masculino ou é do sexo feminino. A probabilidade de ser do sexo masculino é de 1 em 2 ou seja de $1/2$, e há idêntica probabilidade de ser do sexo feminino, ou seja também de $1/2$. A probabilidade do descendente ser do sexo masculino ou do sexo feminino é igual a um, o que equivale à soma da probabilidade de ocorrência de cada acontecimento: $(1/2+1/2=1)$.

192

Em termos gerais, nas condições mutuamente exclusivas, a soma do risco para a ocorrência com a soma do risco para a não ocorrência é igual a um. Numa gravidez em que os dois progenitores sejam heterozigotos para uma mutação autossómica recessiva e o estado de portador não implique doença, verifica-se igualmente uma condição mutuamente exclusiva: o filho ou é doente ou é normal. Sendo de $1/4$ o risco de ser doente, será de $3/4$ a probabilidade de ser saudável. A soma é igual a um.

No entanto, as duas possibilidades podem ser independentes como acontece em relação ao risco de doença para dois descendentes de um doente com uma condição mendeliana autossômica dominante, em duas gravidezes sucessivas. Para cada gravidez, a possibilidade de transmitir o alelo normal ou o alelo mutado presentes num determinado *locus* é mutuamente exclusiva. No entanto, os acontecimentos que, na primeira gravidez, levam à segregação do alelo normal ou do alelo mutado não vão afectar o que acontece numa gravidez subsequente, já que são factos independentes. Assim, se numa primeira gravidez, o risco de transmitir o alelo mutado e de ter um filho doente é de $1/2$, tal probabilidade de $1/2$ mantém-se numa segunda gravidez. A probabilidade de ter os dois filhos doentes é igual ao produto da probabilidade presente em cada uma das gravidezes, ou seja de $1/4$: ($1/2 \times 1/2 = 1/4$).

Os cálculos de independência dos acontecimentos também se aplicam para a segregação independente de alelos localizados em cromossomas diferentes.

6. O RISCO GENÉTICO EM CASOS DE CASAMENTOS CONSANGUÍNEOS

Cada indivíduo é portador, em média, de um gene deletério para uma doença recessiva grave mas compatível com a vida, para além de 2 a 6 mutações recessivas letais. As mutações letais serão responsáveis por abortos espontâneos e nados-mortos quando ocorrem em homozigotia. No entanto, a mutação compatível com a vida originará doença grave em homozigotia recessiva num descendente, sendo a maior ou menor probabilidade de ocorrência dependente do coeficiente de consanguinidade presente entre os progenitores.

Os membros de um casal são consanguíneos quando têm um ancestral comum que seja no máximo bisavô. O acasalamento entre familiares em primeiro grau (pai-filha; mãe-filho; irmão-irmã) é designado incesto, uma condição em que a percentagem de genes idênticos é de 50%. A proporção de genes idênticos diminui com a distância em relação ao tronco comum, sendo de $1/8$ entre primos direitos e de $1/32$ entre segundos primos.

Os casamentos consanguíneos implicam um aumento de risco para doenças de natureza autossômica recessiva ou multifactorial, pelo que o risco não é idêntico para diferentes populações. No casamento entre primos direitos, o risco de anomalias genéticas severas é cerca de duas vezes maior do que na população geral. A mortalidade para os descendentes de primos direitos também está aumentada. No seu conjunto, o risco acrescido decorrente do aumento de anomalias severas ou mortalidade é de cerca de 3%. Assim, os filhos do casamento entre primos direitos têm um risco para anomalias genéticas severas ou morte que é aproximadamente o dobro do risco que se verifica na população geral. Para a descendência de casamentos entre segundos primos e mesmo do primo direito de um indivíduo com um descendente deste, não é aparente um aumento significativo de risco para anomalias genéticas severas ou mortalidade.

Contudo, as consequências são dramáticas (a todos os títulos) nos casos de incesto, em que o risco para morte ou anomalias graves, regista um aumento da ordem dos 30% (cerca de 1/3 da descendência afectada) em relação à população geral. A elevada prevalência de atraso mental em descendentes de incesto, ao poder ocorrer também na ausência de anomalias físicas, contribui para que, globalmente, haja cerca de 50% de descendentes com algum tipo de afecção devida a este grau de consanguinidade.

A existência de incesto pode ser suspeitada mesmo sem conhecimento real dos factos e sem estudo dos progenitores de uma criança (v.g., uma criança em processo de adopção), pelo estudo da percentagem de polimorfismos (v.g., minissatélites) para os quais se detecta homozigotia.

7. EXEMPLOS PRÁTICOS DE RISCOS GENÉTICOS

7.1. MUTAÇÕES “DE NOVO”

Para a caracterização de uma condição genética presente num descendente de um casal, como decorrente de uma mutação herdada ou de uma mutação “de novo”, é essencial a realização de uma história familiar cuidadosa. A identificação do tipo de hereditariedade é importante, sobretudo nos casos de natureza autossômica dominante ou recessiva ligada ao X.

A indicação do risco de recorrência em próximas gravidezes dentro do mesmo casal, depende do tipo de hereditariedade presente. Se não houver referência a uma condição idêntica na história familiar e for percebido que se trata de uma mutação “de novo”, o risco de recorrência para uma nova gravidez será idêntico ao da população geral, desde que as células germinais restantes não sejam portadoras da mutação. No entanto, o risco de recorrência deve ser analisado em função da doença presente.

7.2. MOSAICISMO GONADAL

Face ao nascimento de um descendente afectado por uma condição de transmissão habitualmente hereditária, ausente nos progenitores ou na família, existe uma possibilidade forte de a causa ser atribuída a uma mutação “de novo”, sendo difícil de estabelecer o diagnóstico diferencial em relação a mosaicismo gonadal como causa, antes de ocorrer um segundo nascimento com a mesma afecção. No entanto, em casos de mutações autossómicas dominantes e recessivas ligadas ao X, a probabilidade de se tratar de mosaicismo gonadal é real.

Como exemplo de uma condição recessiva ligada ao cromossoma X, em que o mosaicismo gonadal aparenta ser relativamente frequente, refira-se a DMD. Quando esta doença ocorre num filho de uma mulher em que a mutação está ausente nas células somáticas, há uma probabilidade de 60% de ser uma mutação “de novo” e de 40% de haver mosaicismo gonadal. Para uma próxima gestação, o risco de recorrência é de 10%, percentagem que se obtém multiplicando a probabilidade de haver mosaicismo na mãe (40%) pela probabilidade de o embrião ser do sexo masculino (1/2) e pela probabilidade de a mãe transmitir o cromossoma X com a mutação (1/2).

O mosaicismo gonadal pode também estar subjacente ao nascimento de dois ou mais descendentes afectados por uma condição autossómica dominante, sendo os pais saudáveis, o que pode gerar confusão no que respeita ao tipo de transmissão hereditária presente, ao sugerir uma natureza recessiva para a condição. No caso de o portador de mosaicismo ser do sexo masculino, se o gene já tiver sido identificado, a presença da mutação poderá ser estudada numa amostra de esperma e a percentagem de células germinais portadoras da mutação pode ser caracterizada.

O risco de recorrência indicado para o mosaicismo gonadal é de natureza empírica, dependendo da percentagem de células germinais com a mutação. No entanto, mesmo que o mosaicismo tenha uma elevada probabilidade de estar presente, pela existência de dois filhos com uma doença autossómica dominante num mesmo casal, o risco efectivo de recorrência em nova gravidez pode, ainda assim, variar entre um valor muito baixo se o acaso tiver levado a que dois raros gâmetas mutados tenham sido seleccionados de entre a grande maioria sem mutação, e 50% de risco se o acaso tiver seleccionado dois gâmetas não mutados oriundos de uma população de gâmetas em que metade tenha a mutação e metade não tenha a mutação.

7.3. HEREDITARIEDADE MITOCONDRIAL

Em situações de hereditariedade mitocondrial, a sua identificação permite excluir o risco para os descendentes de indivíduos do sexo masculino, quer sejam ou não afectados. No entanto, para os descendentes de indivíduos do sexo feminino afectados em que esteja presente heteroplasmia, é muito difícil estimar o risco genético para os descendentes, não havendo regra que possibilite indicar a percentagem de descendentes que serão afectados. Num indivíduo com heteroplasmia, seja homem ou mulher, também não há possibilidade de estabelecer uma correlação definitiva entre a proporção de mitocôndrias com a mutação no sangue periférico e a severidade de uma determinada doença dado que no tecido envolvido na doença, a percentagem de mitocôndrias com a mutação pode ser diferente da que é encontrada no sangue periférico. Esta incerteza estende-se à avaliação de resultados obtido a este respeito por estudo pré-natal.

7.4. HEREDITARIEDADE MULTIFACTORIAL

Na maior parte dos casos, o risco de recorrência para uma doença multifactorial é inferior a 5%, sendo variável de uma doença para outra e entre famílias diferentes. O risco é influenciado por parâmetros como o grau de parentesco em relação ao indivíduo afectado, a severidade da doença, o número de familiares afectados, o sexo do indivíduo afectado (maior risco

se ocorre em indivíduo do sexo em que a doença é mais rara), a precocidade das manifestações e a hereditabilidade.

Para algumas condições multifactoriais, existem tabelas com a indicação de riscos empíricos para o desenvolvimento da doença e para o risco de recorrência. Para outras condições, poder-se-á recorrer à Tabela IX.3, para cálculo do risco de recorrência, inserindo como variáveis a frequência da condição na população a que pertence o indivíduo afectado, a hereditabilidade, o número de progenitores afectados e o número de filhos afectados num casal.

Tabela IX.3. Cálculo de risco de recorrência em condições multifactoriais

		PROGENITORES AFECTADOS								
		0			1			2		
		FILHOS AFECTADOS			FILHOS AFECTADOS			FILHOS AFECTADOS		
<i>p</i>	<i>h</i> (%)	0	1	2	0	1	2	0	1	2
1	80	1,0	6,5	14,2	8,3	18,5	27,8	40,9	46,6	51,6
	50	1,0	3,9	8,4	4,3	9,3	15,1	14,6	20,6	26,3
	20	1,0	2,0	3,3	2,0	3,3	4,8	3,7	5,3	7,1
0,1	80	0,1	2,5	8,2	2,9	9,8	17,9	31,7	37,4	42,4
	50	0,1	1,0	3,2	1,0	3,4	6,9	6,6	10,9	15,3
	20	0,1	0,3	0,7	0,3	0,7	1,3	0,8	1,4	2,3

Adaptado de: P.S. Harper (1993). *p* – frequência na população; *h* – hereditabilidade.

7.5. HEREDITARIEDADE MENDELIANA

Os cálculos de risco quando assentam em hereditariedade monogénica são simples de realizar, sendo possível estabelecer os riscos genéticos de modo bem definido (ver Figs. IX.1 e IX.2, para hereditariedade autossómica recessiva).

Já não é tão fácil, por exemplo, em casos de hereditariedade autossómica dominante de penetrância incompleta, em que o grau de penetrância pode variar entre diferentes populações, como ocorre com as mutações do gene *BRCA1*. Neste gene, foram encontradas mutações com uma penetrância de cerca de 86% durante a vida, em mulheres judias pertencentes a famílias da Europa de Leste, comparativamente com uma penetrância de 45% em mulheres de outras etnias.

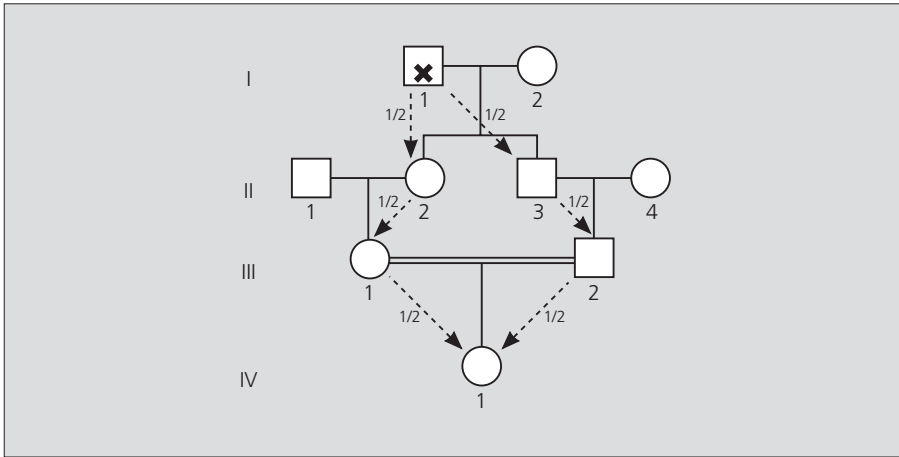


Fig. IX.1 – Risco para doença num descendente de um casal consanguíneo, devida a homozigotia recessiva para um alelo mutado presente num antepassado comum. O antepassado I-1 é heterozigoto para uma mutação recessiva (x). O risco de o casal da geração III ter um filho doente é de $1/64$. Este valor é o produto das probabilidades de o alelo mutado ser herdado pelos indivíduos II-2 e II-3, de ser transmitido por eles aos respectivos filhos (III-1 e III-2) e ainda de ser transmitido por estes à filha (IV-1). Entre progenitor e descendente, a probabilidade do alelo mutado ser transmitido é de $1/2$. O risco é idêntico se o alelo mutado estiver presente em I-2.

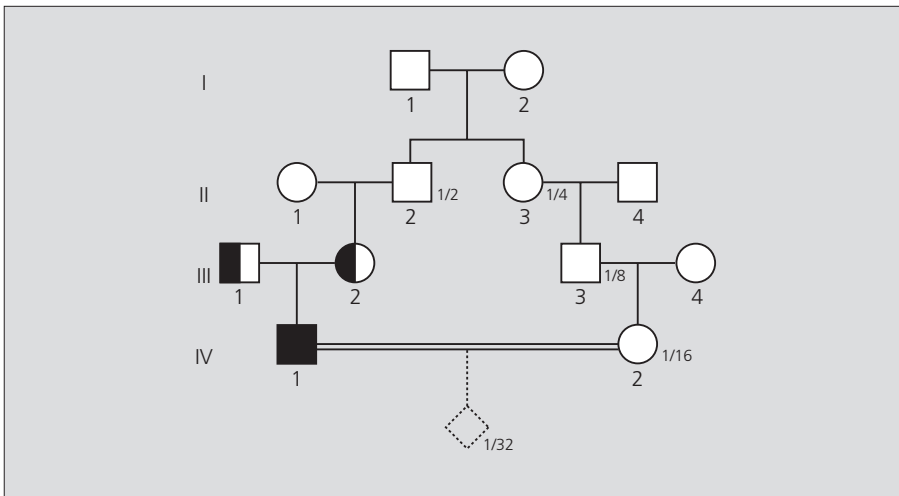


Fig. IX.2 – Risco para doença num descendente de um casal de segundos primos, em que o homem tem uma doença autossômica recessiva. A mãe (III-2) do doente (IV-1) é portadora obrigatória, pelo que a probabilidade de a sua mãe (II-2) ser portadora é de $1/2$. A probabilidade de II-3 (irmã de II-2) ser portadora é de $1/4$ e a probabilidade de o seu filho (III-3) ser portador é de $1/8$. Assim, a probabilidade de IV-2 (filha de III-3) ser portadora é de $1/16$. Um filho do casamento entre IV-1 e IV-2 tem um risco de $1/32$ de ser doente $1 \times 1/16 \times 1/2 = 1/32$.

Nos cálculos de risco para uma mutação dominante de penetrância incompleta, deve ser tido em consideração o valor de penetrância calculada para a população em causa. Num descendente de um indivíduo com uma doença com este tipo de hereditariedade, e na ausência de confirmação da condição de portador ou de não portador no descendente, o risco de recorrência é igual a metade do risco estimado para o progenitor (tem a probabilidade de 50% de herdar o alelo mutado e de 50% de herdar o alelo normal). Contudo, se houver uma penetrância de 86%, como a que foi anteriormente indicada para o cancro da mama em mulheres judias, o risco para uma descendente de uma mulher doente será de 43% (produto de 50% pelo valor da penetrância). Desta forma, haverá 7% de heterozigotos que, sendo normais, se juntam aos 50% de descendentes normais que herdam o alelo normal e que são homozigotos para o alelo normal. Pelas regras da hereditariedade autossômica dominante espera-se que, na descendência de um indivíduo normal, não haja indivíduos afectados. Contudo, na descendência dos 57% de indivíduos normais, os 7% de heterozigotos (7/57) concedem risco para a doença nos descendentes, com uma probabilidade igual ao produto de $7/57 \times 1/2 \times 86\%$, ou seja, cerca de 5%.

Nos casos de hereditariedade dominante ligada ao X, em que esteja presente uma mutação letal *in útero* em homozigotia ou em hemizigotia no sexo masculino (v.g., *incontinentia pigmenti* tipo II), alteram-se as proporções esperadas entre doentes e saudáveis e entre descendentes do sexo masculino e do sexo feminino. Assim, a proporção entre o sexo feminino e o sexo masculino é de 2 para 1 (2/3 de mulheres para 1/3 de homens), dado que metade das gestações respeitantes a embriões do sexo masculino termina em aborto espontâneo, por estar presente a mutação. Entre os nascituros e adultos apenas serão afectados descendentes do sexo feminino na razão esperada de 1 em 2. Nos casos de *incontinentia pigmenti* tipo II, para além da alteração das proporções esperadas, o aconselhamento genético é ainda afectado pela circunstância de estar presente, na maioria das vezes, uma mutação "de novo". Sendo as mães saudáveis, estes casos poderão ser confundidos com *incontinentia pigmenti* tipo I. Contudo, o tipo I resulta de um rearranjo a nível de Xp11 e não tem carácter familiar.

De igual modo, dever-se-á ter particular atenção nos cálculos de risco quando está presente heterogeneidade génica, como é ilustrado na Fig. VII.8, a propósito da surdez originada por mutações autossômicas recessivas.

7.6. CÁLCULO DE RISCO PELO TEOREMA DE BAYES

O cálculo de risco em casos mendelianos pode ser dificultado quando estão presentes situações como a penetrância incompleta, a heterogeneidade, a expressividade variável ou a manifestação tardia. Nestes casos, o cálculo de risco recorrendo ao teorema de Bayes permite uma maior precisão e adequação à situação familiar, para indicação do risco de recorrência, em termos de probabilidades. Para realizar este cálculo, é utilizada informação condicional que modifica o valor do risco observado *a priori*, recolhida a partir da história familiar como seja a idade de aparecimento da doença, a penetrância, ou o número de descendentes não afectados. Naturalmente que os conhecimentos que decorrem da sequenciação do genoma humano irão permitir, cada vez mais, que os dados utilizados para aconselhamento sejam objectivos, com abandono progressivo dos cálculos probabilísticos sobre a possível presença ou ausência da mutação patogénica num determinado indivíduo. Os estudos directos do genoma permitem afirmar, em concreto, se uma mutação está presente ou ausente.

7.6.1. APLICAÇÃO DO TEOREMA DE BAYES NUMA CONDIÇÃO RECESSIVA LIGADA AO X

A figura IX.3 é o heredograma de uma família em que está presente uma forma mutada do gene ligado ao cromossoma X que codifica o factor VIII anti-hemofílico. Os indivíduos do sexo masculino que herdaram o alelo mutado têm hemofilia A. A questão diz respeito à probabilidade de a mulher assinalada por III-6 ser heterozigótica para o alelo mutado. A sua mãe (II-5) tem dois irmãos e um filho afectados, o que evidencia que é portadora obrigatória. Deste modo, sendo um caso de hereditariedade recessiva ligada ao X, a probabilidade de III-6 ter herdado o alelo mutado é de 50% e, obviamente, a probabilidade de não o ter herdado é também de 50%. Contudo, quando se constata que III-6 tem 4 filhos do sexo masculino sem hemofilia (IV-1, IV-2, IV-3 e IV-4), é intuitivo pensar que a probabilidade de não ter herdado a mutação deverá ser maior do que a probabilidade de a ter herdado. Ou seja, a informação respeitante aos seus filhos condiciona a probabilidade calculada inicialmente para III-6.

Nestas condições, o teorema de Bayes permite determinar, quantitativamente, a probabilidade de III-6 ser heterozigótica ou não ser heterozigótica para a mutação recessiva.

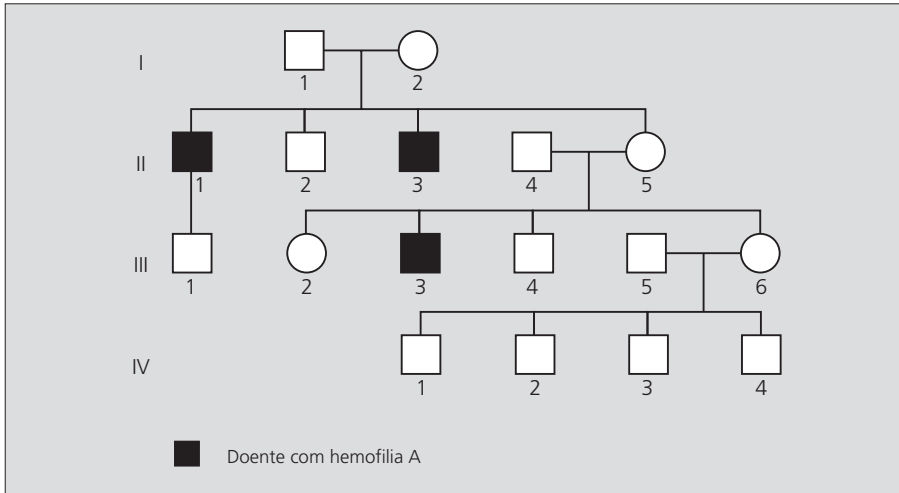


Fig. IX.3 – Heredograma de uma família em que está presente uma forma mutada do gene que codifica o factor VIII anti-hemofílico.

A probabilidade *a priori* de III-6 ser heterozigótica é de $1/2$ e a de não ser heterozigótica é também de $1/2$.

Para a condição heterozigótica, a probabilidade condicionada de ter quatro filhos saudáveis é igual a $1/16$ (produto de $1/2 \times 1/2 \times 1/2 \times 1/2$, sendo $1/2$ a probabilidade de, sendo heterozigótica, não transmitir a mutação, em cada gravidez). Para o condição de não heterozigótica, a probabilidade condicionada para os quatro filhos serem saudáveis é igual a um.

A partir dos valores anteriores determina-se a probabilidade conjunta de $1/32$ e de $1/2$, respectivamente para a condição heterozigótica e de não heterozigótica, como produto do valor da probabilidade *a priori* pelo da probabilidade condicionada.

Seguidamente, o teorema de Bayes permite calcular a probabilidade *a posteriori* de III.6 ser heterozigótica e de não ser heterozigótica, em conformidade com os cálculos explicitados na Tabela IX.4. Assim, a probabilidade *a posteriori* de III.6 ser heterozigótica é de $1/17$, um valor bem inferior à probabilidade *a priori* de $1/2$, se a existência dos quatro filhos saudáveis não for ponderada. A probabilidade *a posteriori* de III.6 não ser heterozigótica é de $16/17$, bem maior do que o valor de $1/2$ inicialmente determinado sem ter em consideração os quatro filhos saudáveis.

Os valores finais obtidos através do teorema de Bayes, sustentam a intuição que, pelo simples exame do heredograma (Fig. IX.3), alertava para uma baixa probabilidade de III.6 ser heterozigótica.

Tabela IX.4. Cálculo de probabilidades pelo teorema de Bayes, para uma condição recessiva ligada ao X

PROBABILIDADE	III.6 HETEROZIGÓTICA	III.6 NÃO PORTADORA
<i>A priori</i>	1/2	1/2
Condicionada	1/16	1
Conjunta	$1/2 \times 1/16 = 1/32$	$1/2 \times 1 = 1/2$
<i>A posteriori</i>	$1/32 / (1/32 + 1/2) = 1/17$	$1/2 / (1/32 + 1/2) = 16/17$

7.6.2. APLICAÇÃO DO TEOREMA DE BAYES NUMA CONDIÇÃO AUTOSSÓMICA DOMINANTE DE PENETRÂNCIA INCOMPLETA

Considere-se, como exercício, uma mutação autossômica dominante de expressão precoce (antes dos 10 anos de idade do seu portador) e com penetrância incompleta igual a 50% (apenas metade dos portadores são afectados). Nestas condições, qual será a probabilidade de um indivíduo saudável, com 30 anos de idade, vir a ter um filho doente, sabendo-se que o seu pai teve manifestações da doença aos 18 anos.

Pelo cálculo de Bayes (Tabela IX.5), verifica-se que a probabilidade de o *propositus* ser heterozigótico é de 1/3. Assim, a probabilidade de ter um filho doente será igual a $1/3 \times 1/2 \times 1/2 = 1/12$, sendo que o segundo factor (1/2) corresponde à probabilidade de transmitir o alelo mutado se for heterozigótico e o terceiro factor (1/2) corresponde ao valor da penetrância (50%).

Tabela IX.5. Cálculo de probabilidades pelo teorema de Bayes, para uma condição autossômica dominante, de penetrância incompleta

PROBABILIDADE	HETEROZIGÓTICO	NÃO HETEROZIGÓTICO
<i>A priori</i>	1/2	1/2
Condicionada	$1 - 1/2$ (1/2 é a penetrância)	1
Conjunta	$1/2 \times (1 - 1/2) = 1/4$	$1/2 \times 1 = 1/2$
<i>A posteriori</i>	$1/4 / (1/4 + 1/2) = 1/3$	$1/2 / (1/4 + 1/2) = 2/3$

CAPÍTULO X

ERROS INATOS DO METABOLISMO. FARMACOGENÉTICA. ECOGENÉTICA

1. INTRODUÇÃO

O fenótipo é o resultado da interacção entre os produtos codificados pelos genes e múltiplos factores ambientais. Este aspecto é particularmente relevante para os caracteres e as anomalias de natureza multifactorial, embora se tenham identificado diversas situações de natureza monogénica (com penetrância condicionada) em que o fenótipo doente apenas surge pela interacção entre a alteração génica e factores ambientais (v.g., FCU, porfíria aguda intermitente, favismo). A própria temperatura pode influenciar a expressão génica como se observa na epidermólise bolhosa, uma condição autossómica dominante cuja expressão fenotípica depende da subida da temperatura, não se manifestando para baixas temperaturas. Na interacção dos genes com o meio é particularmente evidente a variabilidade inter-individual, inter-étnica e inter-racial na resposta a factores ambientais ou à administração de fármacos.

Para se compreenderem alguns aspectos da interacção dos produtos codificados pelos genes com factores ambientais e os seus reflexos a nível fenotípico serão abordadas, neste capítulo, condições tradicionalmente estudadas sob a designação de erros inatos do metabolismo ou metabopatias. No entanto, independentemente do traço comum que resulta de serem devidas a erros inatos (traduzidos em perturbações de vias metabólicas se forem enzimas do metabolismo ou ao nível de outras funções se forem proteínas estruturais ou funcionais sem intervenção em processos

metabólicos) foi feito um enquadramento diverso para melhorar a racionalização da intervenção preventiva e/ou terapêutica. Valorizou-se, por isso, o processo que conduz à reacção adversa. Os casos em que a reacção adversa resulta da administração de substâncias com fins medicamentosos foram incluídos na farmacogenética. Os casos em que a resposta individual adversa é condicionada pela exposição a factores ambientais sem objectivos farmacológicos (v.g., a dieta alimentar) foram agrupados na ecogenética. As condições abordadas como erros inatos do metabolismo poderiam ser integradas na ecogenética, dada a preponderância dos factores ambientais e a possibilidade de condicionar ou mesmo de eliminar o aparecimento de doença pela manipulação da exposição ambiental, em sentido lato, ou da dieta alimentar, em particular. No entanto, foi mantida uma abordagem autónoma de alguns erros inatos de metabolismo, por serem demonstrativos da forma como se desenvolvem as doenças do metabolismo.

2. ERROS INATOS DO METABOLISMO

Os erros inatos do metabolismo, ou metabolopatias, consistem num extenso grupo de perturbações hereditárias causadas por mutações em genes que codificam enzimas envolvidas em vias metabólicas. A designação histórica de “erro inato do metabolismo” respeita a opção inicial do médico inglês Archibald Garrod que em primeiro lugar se referiu a estas alterações e as descreveu.

Garrod verificou que, nos doentes com alcaptonúria, era aparente um bloqueio numa das etapas metabólicas com excreção de um produto anormal na urina que a tornava escura. Por outro lado, observou ainda que estas alterações eram mais frequentes em descendentes de casais consanguíneos e que os casos se encontravam habitualmente entre os membros de uma fratria, sem que os pais ou outros elementos da família evidenciassem qualquer alteração. O comportamento da alcaptonúria foi interpretado por Garrod em 1902 como sendo tradutor da natureza autossómica recessiva desta anomalia, o que constituiu a primeira descrição na espécie humana de uma anomalia com este tipo de hereditariedade. Apenas em 1958 foi identificada a causa como sendo a deficiência em oxidase do ácido homogentísico a nível hepático.

Na verdade, a maioria das metabopatias é de natureza autossómica e, em menor número de vezes, recessiva ligada ao cromossoma X. A condição autossómica dominante observa-se muito raramente.

Nas metabopatias está em causa, muito frequentemente, a deficiência ou ausência de uma enzima por mutação ocorrida no gene respectivo. As alterações génicas podem-se traduzir:

- na ausência de proteína ou na produção de pequenas quantidades, seja devido ao aparecimento de um codão “stop” na região proximal do gene, a alterações do “splicing” ou a instabilidade do RNAm;
- na produção de uma enzima anormal com pouca ou nenhuma actividade em relação ao substracto.

A ausência ou a redução significativa da actividade de uma enzima ou de outro tipo de molécula, pode originar bloqueios metabólicos e alterações patológicas (Figs. X.1 e X.2) por:

- acumulação do precursor não metabolizado, a montante, o que pode exercer um efeito tóxico em concentrações elevadas ou acumular-se no interior de alguns organelos;

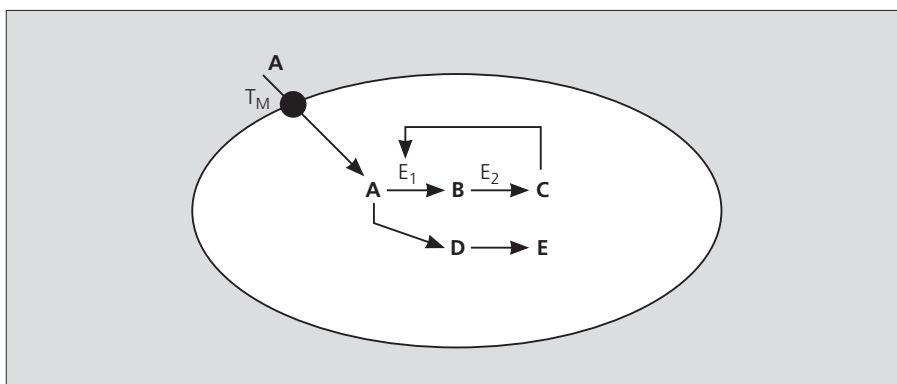


Fig. X.1 – Patogenicidade dos erros inatos do metabolismo. O produto A entra para a célula por acção de um transportador de membrana ou por ligação a um receptor (T_M). Se houver bloqueio a este nível, ocorrerá acumulação do produto no exterior das células. Dentro das células, o produto A é metabolizado, originando os produtos intermediários B e C, respectivamente por acção das enzimas E₁ e E₂. Na ausência de produto final C, pode falhar o mecanismo de “feed-back” que regula a actividade da enzima E₁. Na ausência de metabolismo, o produto A acumula-se nas células e poderão ser activadas vias alternativas com conseqüente produção de metabólitos tóxicos intermediários (D) ou finais (E).

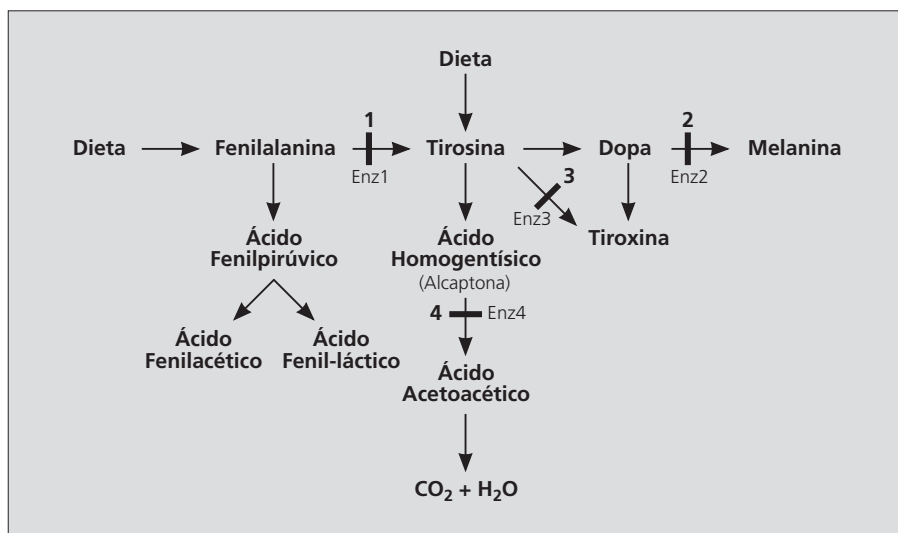


Fig. X.2 – Metabolismo da fenilalanina e bloqueios metabólicos. O bloqueio na posição 1, por ausência de fenilalanina hidroxilase (Enz1) dá origem à fenilcetonúria. A activação da via alternativa origina ácido fenilpirúvico e, subseqüentemente, os ácidos fenilacético e fenil-láctico. Se o bloqueio ocorre na posição 2, por deficiência da enzima tirosinase (Enz2) ocorre albinismo oculo-cutâneo. A ausência da enzima desalogenase (Enz3) origina hipotiroidismo congénito, por deficiência da hormona tiroxina. A falta da enzima oxidase do ácido homogentísico (Enz4) origina alcaptonúria. A referência à “Dieta” inclui a comparticipação da degradação dos tecidos para o fornecimento do aminoácido essencial fenilalanina.

- deficiência de moléculas resultantes do metabolismo que funcionem como substratos de reacções subseqüentes ou sejam produtos finais;
- perturbação de mecanismos de regulação do metabolismo por “feed-back”;
- produção de moléculas tóxicas originadas pela activação de vias metabólicas alternativas.

A FCU é um exemplo paradigmático dos erros inatos do metabolismo e de susceptibilidade genética para um agente ambiental. Tem uma prevalência de cerca de 1/12.500 recém-nascidos em Portugal. É devida, na grande maioria das vezes, a homozigotia recessiva ou heterozigotia composta para o *locus* que codifica a enzima hepática fenilalanina hidroxilase localizado em

12q22-q24.1. Já foram identificadas mais de 300 mutações a nível deste gene. As mutações influenciam de forma diversa a actividade enzimática e têm, por isso, consequências diferentes em termos da gravidade dos sintomas, nomeadamente do atraso mental que pode variar de profundo a praticamente inexistente. Na verdade, da combinação de alelos presentes num indivíduo podem resultar quatro fenótipos para a FCU: a FCU clássica com atraso mental profundo; a FCU moderada; a FCU suave; e uma forma em que a excreção urinária de fenilalanina é a única manifestação fenotípica.

A FCU é heterogénea. Os sintomas podem resultar, em casos muito raros (1×10^{-6}), de deficiência das enzimas dihidropteridina reductase ou dihidrobiopterina sintetase, duas enzimas envolvidas na síntese da tetrahydrobiopterina. Esta molécula é um co-factor da fenilalanina hidroxilase e participa também na hidroxilação da tirosina e do triptofano a nível do cérebro. Nestes casos, os valores da fenilalanina hidroxilase são normais, mas há hiperfenilalaninémia e atraso mental. A manipulação da dieta no que respeita ao controlo dos valores da fenilalaninémia não é efectiva em termos de prevenção dos sintomas da FCU.

As crianças com FCU não manifestam quaisquer sintomas ao nascer, devido à protecção concedida pela enzima de origem materna na vida intra-uterina. Contudo, ao fim de algumas semanas apresentam vómitos, eczemas e convulsões. A urina e o suor destas crianças evidenciam um cheiro característico com origem nos produtos do metabolismo alternativo da fenilalanina. A fenilalaninémia pode atingir valores 10 vezes superiores aos valores normais. O atraso mental desenvolve-se rapidamente e, com o avançar da idade, começa a observar-se microcefalia.

As manifestações da FCU são devidas ao efeito tóxico das concentrações elevadas da fenilalaninémia e à presença dos metabolitos tóxicos originados pelo metabolismo alternativo da fenilalanina (Fig. X.2). A toxicidade traduz-se em défice da mielinização e do desenvolvimento do cérebro.

Por outro lado, o bloqueio enzimático subjacente à FCU vai afectar a produção de melanina (Fig. X.2), pelo que os indivíduos com FCU podem apresentar, por vezes, a pele e os olhos mais claros do que os seus irmãos.

A forma mais comum de detectar a FCU decorre da realização do rastreio sistemático dos recém-nascidos, que alguns países estabeleceram a partir de 1961 e que deu os primeiros passos em Portugal, em 1972. A partir de uma

gota de sangue recolhida em papel mata-borrão, preferencialmente a partir do 4º dia após o nascimento, é realizado o teste de inibição do crescimento bacteriano de Guthrie. A amostra de sangue é colhida na maternidade ou no Centro de Saúde e, posteriormente, enviada pelos pais do recém-nascido para o Instituto de Genética Médica Jacinto de Magalhães sediado no Porto. Na mesma amostra é também realizado o rastreio do hipotireoidismo congénito, com uma prevalência de 1/3.700 recém-nascidos em Portugal.

A detecção da FCU deve ser realizada nos primeiros dias de vida e deve ser iniciada uma alimentação adequada, pobre em fenilalanina, durante o primeiro mês de vida, para prevenir o desenvolvimento do atraso mental. Os valores da fenilalaninémia devem ser mantidos entre 2mg/dl e 6mg/dl, de modo a evitar o excesso de fenilalanina e providenciar as concentrações necessárias deste aminoácido essencial.

Actualmente, recomenda-se a restrição alimentar da fenilalanina durante toda a vida, com manutenção dos valores da fenilalaninémia dentro dos parâmetros antes indicados e, de forma muito estrita, pelo menos até aos oito anos de idade. Na FCU, a dieta deve ser estendida aos edulcorantes artificiais (aspartame) que são também metabolizados para fenilalanina.

A necessidade de restrição alimentar em fenilalanina e o doseamento da fenilalaninémia é particularmente aguda nas mulheres com FCU que desejem engravidar. Nestes casos o controlo deve ser iniciado algumas semanas antes de engravidar e durante toda a gravidez para evitar o desenvolvimento de fetopatia devida à hiperfenilalaninémia. Esta fetopatia pode traduzir-se em anomalias congénitas diversas que englobam o microcefalia, anomalias do desenvolvimento do SNC que se virão a traduzir em atraso mental, cardiopatias congénitas e baixo peso.

O filho de uma mulher com FCU tem a probabilidade de 1 em 110 de ser doente⁽¹⁾. Contudo, as manifestações da fetopatia devida à FCU da mãe são independentes da condição heterozigótica do filho e dependem apenas do acção tóxica da hiper-fenilalaninémia transmitida pelo ambiente materno.

⁽¹⁾ A probabilidade de 1/110 é o produto da probabilidade (igual a 1) de o descendente herdar um alelo mutado da mãe, pela probabilidade (igual a 1/110) de herdar um alelo mutado oriundo do pai (desde que este pertença à população geral). O valor de 1/110 obtém-se pela multiplicação de 1/55 (valor aproximado da frequência de heterozigóticos na população geral) por 1/2 (probabilidade de um heterozigoto transmitir o alelo mutado a um descendente).

2.2. DOENÇA DE GAUCHER

A doença de Gaucher é uma esfingolipidose, rara na população geral, mas com uma frequência de 1/600 nos judeus Ashkenazi (da Europa do leste). O gene está localizado em 1q21. É uma condição de natureza autossômica recessiva que decorre da deficiência da enzima glicocerebrosidase (glicosilceramida β -glicosidase). Na gênese da deficiência enzimática podem-se encontrar diversas mutações. A deficiência traduz-se em actividade catalítica reduzida e alguma instabilidade da proteína.

Os sintomas têm origem na acumulação de glicosilceramida nos lisossomas dos macrófagos. Na medula óssea observam-se formas celulares típicas designadas “células de Gaucher”.

Há três formas de doença de Gaucher: o tipo adulto, que representa cerca de 80% dos casos, o tipo infantil com cerca de 15% dos casos e uma forma juvenil. O tipo adulto pode iniciar a sua expressão nos últimos anos da infância e comumente na adolescência. Cursa com atraso de crescimento, episódios de febre, dores das articulações, do tronco e dos membros (dores ósseas), tendência para fracturas, hepatoesplenomegália, hiperesplenismo e anemia ligeira. Quando o início é tardio, a sobrevivência não é afectada. No tipo infantil, os sintomas são precoces: entre os três e os seis meses verifica-se que as crianças não aumentam de peso e desenvolvem hepatoesplenomegália e pelos seis meses há deterioração do sistema nervoso central e pneumonias repetidas. Em média, a morte ocorre no segundo ano de vida. A forma juvenil tem um envolvimento do sistema nervoso central mais tardio, por volta dos 4-8 anos. A morte ocorre, em média, aos doze anos.

Recentemente, foi ensaiado um tratamento baseado na administração da enzima em falta que, embora dispendioso, se mostrou efectivo no tipo adulto da doença de Gaucher.

3. FARMACOGENÉTICA

O termo farmacogenética foi introduzido por Vogel, em 1959. Aborda a influência de determinados genes na variação da resposta a fármacos usados para fins terapêuticos. Quando os polimorfismos estão presentes em *loci* que codificam enzimas envolvidas no metabolismo de agentes terapêuticos e a actividade enzimática é diversa em função do polimorfismo presente, podem observar-se variações significativas da actividade fisiológica do produto usado, determinadas geneticamente. Para além de procurar caracterizar e explicar as causas genéticas da susceptibilidade para respostas adversas face às substâncias medicamentosas, a farmacogenética procura ainda evitar a ocorrência deste tipo de respostas. A melhor forma de evitar as consequências adversas é evitar a administração do fármaco ao indivíduo com susceptibilidade e aos familiares.

No metabolismo das moléculas usadas para fins terapêuticos pode estar envolvido um único gene codificador da enzima envolvida, ainda que frequentemente de natureza polimórfica, ou podem estar envolvidos diversos genes. Nos casos determinados de forma monogénica uma população poderá ser subdividida em dois grupos: um correspondente aos metabolizadores activos em que se encontra homozigotia para a forma normal do gene ou heterozigotia; um grupo de menor dimensão que engloba os indivíduos com deficiência acentuada para o metabolismo devido a homozigotia recessiva. Por vezes, é possível identificar três grupos correspondentes, respectivamente, aos homozigotos para a forma normal do gene, aos heterozigotos e aos homozigotos recessivos (distribuição trimodal). Quando estão envolvidos diversos genes observa-se uma distribuição normal traduzida numa curva de Gauss.

As respostas adversas a agentes terapêuticos (Tabela X.1) podem afectar indivíduos portadores de mutações a nível de genes envolvidos na codificação de enzimas ligadas a processos metabólicos, indivíduos saudáveis portadores de polimorfismos genéticos em *loci* que codificam enzimas igualmente ligadas a processos metabólicos e indivíduos portadores de formas de genes que codificam proteínas estruturais e funcionais sem actividade enzimática.

Na investigação da susceptibilidade para determinados fármacos, de modo a prevenir reacções adversas, a história familiar pode ser um recurso precioso.

Tabela X.1. Exemplos de reacções adversas a agentes terapêuticos

FÁRMACO	ENZIMA/PROTEÍNA	HEREDITARIEDADE	LOCUS	PREVALÊNCIA	MANIFESTAÇÕES
Primaquina, sulfonamidas, nitrofurantoina	G6PD (deficiência)	Recessiva ligada ao X	Xq28	Caucasianos: rara excepto Mediterrânicos Africanos: 10%	Urinas escuras, icterícia, anemia
Succinilcolina	Colinesterase (deficiência)	Autossómica recessiva	3q26.1 -q26.2	1/2.000	Apneia prolongada
Isoniazida	NAT2 (acetilador lento)	Autossómica recessiva	8p22	acetiladores lentos: 64%	Neuropatia periférica
Isoniazida	NAT2 (acetilador rápido)	Autossómica dominante	8p22	acetiladores rápidos: 36%	Redução do efeito; toxicidade hepática
Halotano + succinilcolina	Mutação receptor rianodina (às vezes)	Autossómica: dominante (50%); recessiva (20%)	19q13.1	1/20.000	Hipertermia maligna
Fenobarbital, sulfonamidas	Uroporfirinogéneo I sintetase (deficiência)	Autossómica dominante	11q23-qter	1/10.000-1/20.000	Porfíria aguda intermitente
Peróxido de hidrogéneo	Catalase (deficiência)	Autossómica recessiva	11p13	1/25-1/250.000	Acatalasia: úlceras bucais
Nortriptilina, fenformina, Debrisoquina	CYP2D6 (metabolizador lento)	Autossómica recessiva	22q11.2-qter	5/100	Biotransformação deficiente; toxicidade
Aminoglicosídeos	Fracção mitocondrial 12SrRNA	Mitocondrial (por via materna)	mtDNA	1/10.000 (talvez maior)	Surdez

Da interacção dos fármacos com as enzimas envolvidas no seu metabolismo podem, por vezes, ocorrer efeitos adversos que se traduzem:

- em reduzida acção do fármaco com ausência do efeito terapêutico esperado (v.g., nos acetiladores rápidos o metabolismo intenso da isoniazida leva a uma baixa da sua concentração sérica e a um efeito tuberculostático reduzido, ainda que se usem doses médias habitualmente eficazes; na amplificação do gene da diidrofolato reductase, o metabolismo acelerado do metotrexato conduz à anulação da acção terapêutica);
- numa resposta fisiológica exagerada (v.g., a deficiência em colinesterases predispõe para apneia prolongadas após administração de succinilcolina);
- num aumento de efeitos colaterais (v.g., nos acetiladores lentos, há aumento dos efeitos colaterais da isoniazida como a neuropatia periférica, mesmo para doses médias; a deficiência em diidropirimi-dina desidrogenase predispõe para a toxicidade do 5-fluorouracilo);

- no desencadeamento ou precipitação de efeitos característicos de doenças geneticamente determinadas (v.g., a hemólise da porfíria aguda intermitente é desencadeada apenas quando há administração de alguns fármacos como o fenobarbital ou sulfonamidas; a hipertermia maligna surge apenas quando é administrado halotano e succinilcolina, devido à presença de uma forma mutada do receptor da rianodina).

3.1. ENZIMAS DE METABOLISMO DE GENOTÓXICOS

No metabolismo de fármacos e de genotóxicos ambientais, a variabilidade genética pode afectar a severidade e a frequência com que uma determinada doença ou reacção adversa ocorre numa população. Há, contudo, outras variáveis que devem ser consideradas como sejam a idade, o sexo, o estado de nutrição e os hábitos alimentares, o estilo de vida e a eventual existência de doença prévia.

Entre os intervenientes no processo metabólico dos genotóxicos e dos fármacos salientam-se as enzimas que hidroxilam as moléculas para promover a sua excreção e as enzimas de conjugação (Fig. X.3).

As enzimas da fase I como o citocromo oxidase metabolizam várias substâncias químicas em produtos intermediários reactivos, algumas vezes carcinogénicos como os epóxidos (Fig. X.4). Esta situação ocorre com os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos ou as N-nitrosaminas, de entre os muitos carcinogéneos presentes no fumo do tabaco, e que requerem metabolismo intermediário antes de exercerem a sua acção carcinogénica. Na fase II intervêm enzimas como as glutationas S-transferases e as N-acetiltransferases que catalizam, por conjugação, a desintoxicação de produtos intermediários genotóxicos originados na fase I (Fig. X.3).

Um dos objectivos dos estudos destas enzimas em associação com a ocorrência de determinadas manifestações adversas ou doenças, consiste em determinar a constelação de genótipos mais favorável para a protecção de um indivíduo face a determinado factor ambiental e a que aumenta a sua susceptibilidade.

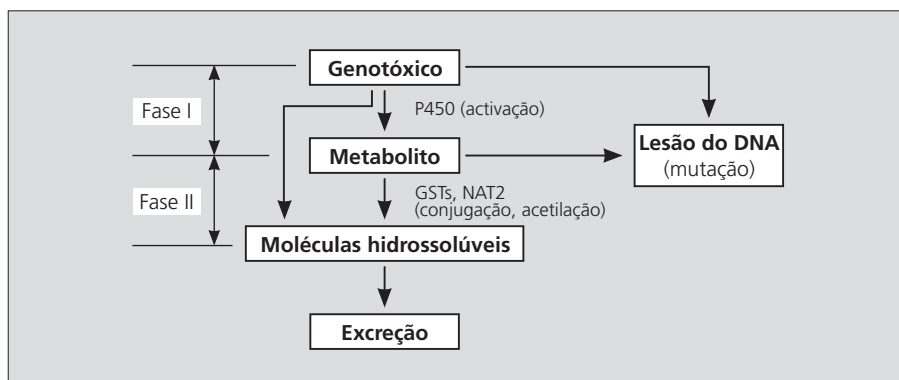


Fig. X.3 – Fases do metabolismo de um genotóxico.

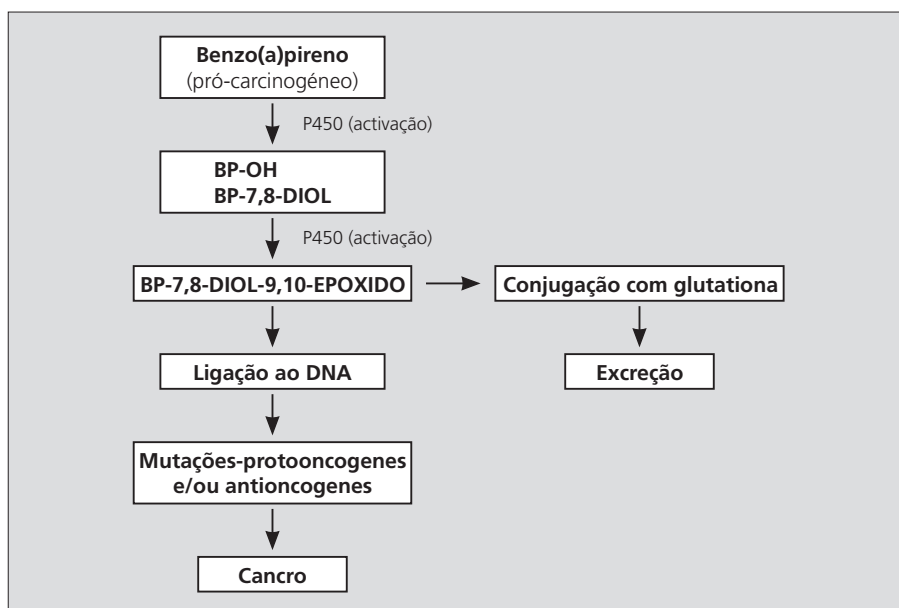


Fig. X.4 – Metabolismo do benzo(a)pireno e cancro.

3.1.1. CITOCROMO OXIDASE P450

Nos mamíferos, o sistema do citocromo P450 (CYP450) é uma super-família multigénica complexa constituída por 10 famílias (num único organismo exprimem-se mais de 30 genes *CYP450*). O número elevado de isoenzimas

da superfamília do *CYP450* terá resultado da enorme quantidade de compostos químicos diversos a que os mamíferos estão expostos, nomeadamente através da alimentação, e que têm de ser metabolizados e/ou eliminados para proteger o organismo. Quase todas as famílias de enzimas do *CYP450* mantêm a capacidade de incorporar um átomo de oxigénio molecular no substrato, tornando a molécula mais hidrofílica, o que facilita o seu posterior metabolismo e excreção. Contudo, a oxidação mediada pelo *CYP450*, a nível dos átomos de carbono pode formar epóxidos, e a nível do azoto e dos átomos de enxofre pode originar produtos tóxicos e mutagénicos.

Além das reacções adversas de toxicidade devidas à acumulação de alguns fármacos por metabolismo deficiente, observadas em metabolizadores lentos após ingestão de quantidades posológicas médias, a falta de metabolização pode ser responsável pela falta de resposta terapêutica quando a forma activa do fármaco resulta do seu metabolismo, como acontece com a ciclofosfamida ou a procarbazina.

O metabolismo de substâncias estranhas como mecanismo de desintoxicação de toxinas e carcinogénios ambientais mediado, por exemplo pela debrisoquina hidroxilase codificada pelo gene *CYP2D6*, poderá ainda originar moléculas carcinogénicas (Fig. X.5). Algumas nitrosaminas específicas do fumo do tabaco são substratos para a debrisoquina hidroxilase que, ao serem metabolizados, podem produzir metabolitos mutagénicos.

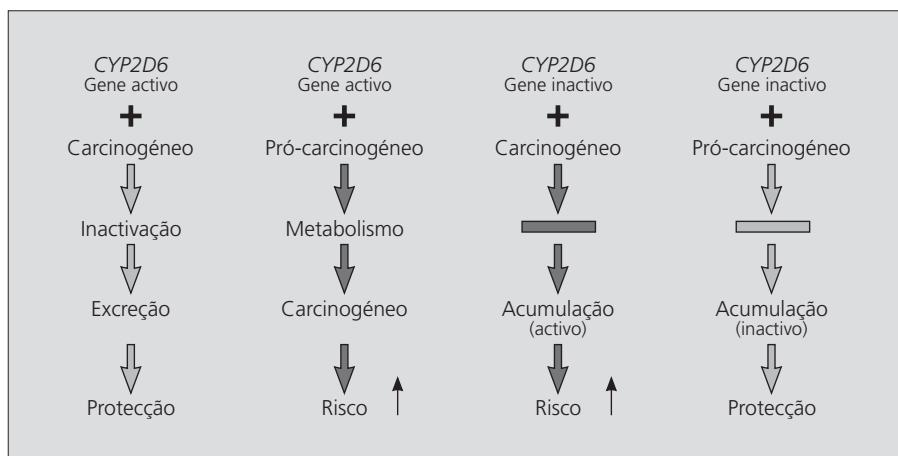


Fig. X.5 – Diagrama demonstrativo das possíveis correlações entre exposição a carcinogénios ou pró-carcinogénios, estatuto genotípico para o gene *CYP2D6* que codifica a debrisoquina hidroxilase e risco para o cancro.

Em relação à susceptibilidade para o cancro, não é indiferente o tipo de genótipo presente num indivíduo, podendo este facto justificar diferenças interindividuais por exposição a uma mesma substância (Fig. X.5). Assim, um fenótipo metabolizador activo é vantajoso nos indivíduos que contactam com substâncias carcinogénicas (v.g., nitrosureias) que são metabolizadas e excretadas numa forma não carcinogénica, mas torna-se contraproducente quando os indivíduos contactam com moléculas procarcinogénicas (v.g., benzo(a)pireno) que, após a hidroxilação, originam moléculas carcinogénicas. Para os indivíduos que contactam com este último grupo de moléculas, o fenótipo metabolizador activo poderá estar relacionado com maior susceptibilidade para determinada forma de cancro e o fenótipo metabolizador lento será uma forma vantajosa já que evitará a produção de moléculas carcinogénicas (Fig. X.5). Passar-se-á o contrário se o contacto ocorrer com uma substância carcinogénica que a metabolização inactiva e é excretada nessa forma. Nestes indivíduos, o fenótipo metabolizador lento é desvantajoso.

3.1.2. GLUTATIONA S-TRANSFERASES

As enzimas da fase II do metabolismo, como as glutathione S-transferases (GSTs), catalizam, por conjugação, a desintoxicação de intermediários genotóxicos originados na fase I (Figs. X.3 e X.4). São enzimas homodiméricas ou heterodiméricas que se encontram em diversas espécies e estão presentes em todos os órgãos humanos, embora as suas concentrações sejam diferentes de tecido para tecido.

As GSTs catalizam a conjugação da glutathione reduzida (GSH) com uma grande variedade de compostos electrofílicos, tornando-os solúveis em água, entre os quais carcinogénicos e drogas citotóxicas, prevenindo, deste modo, a ligação destes compostos ao DNA.

Nos mamíferos, as GSTs são codificadas por uma família de genes que compreende quatro classes citosólicas designadas por alfa, mu, pi e theta e uma microsomal designada mic. A classe mu das GSTs engloba os genes *GSTM1*, *GSTM2*, *GSTM3* e *GSTM4*. O gene *GSTM1* ocupa um locus no braço curto do cromossoma 1 (1p13), para o qual concorrem três formas alélicas designadas por *GSTM1*0*, *GSTM1*A* e *GSTM1*B*. O genótipo homocigótico *GSTM1*0/GSTM1*0* devido a deleção génica é responsável pelo fenótipo "null", correspondente a ausência de actividade da enzima que codifica.

O genótipo *GSTM1* “null” é o mais frequente em várias populações. As frequências genótípicas podem divergir entre regiões, seja pelo processo de povoamento, pela agregação étnica ou por acção de factores ambientais selectivos para determinado genótipo.

Foi demonstrado que os fumadores com fenótipo “null” têm um risco aumentado para desenvolverem cancro do pulmão, embora as conclusões não sejam consensuais. Os resultados contraditórios são frequentes nos estudos da ecogenética dirigidos para a oncogénese, já que frequentemente a selecção das amostras da população e as metodologias utilizadas para caracterizar os polimorfismos são diferentes, a que se associa a variabilidade interindividual e interpopulacional.

3.1.3. N-ACETILTRANSFERASES

As N-acetiltransferases também intervêm na fase II do metabolismo (Fig. X.3). São responsáveis pela acetilação de grupos amino, hidroxil e sulfidril de múltiplos compostos, em que se inclui um número elevado de arilaminas carcinogénicas.

O *locus* NAT, localizado em 8p22, compreende dois genes funcionais *NAT1* e *NAT2* e um pseudogene designado *NATP*. O gene *NAT2* é o mais frequente. É reconhecido como o responsável pela variação interindividual na velocidade de acetilação tendo sido descritos vários alelos. Quando o genótipo é homozigótico ou heterozigótico para alelos que codificam enzimas funcionais constitui-se um fenótipo acetilador rápido. Pelo contrário, se o genótipo é homozigótico recessivo, observa-se um fenótipo acetilador lento. Em Portugal, cerca de 64% dos indivíduos são acetiladores rápidos e os restantes 36% são acetiladores lentos. A frequência de acetiladores lentos e rápidos varia quando se comparam diversas populações ou grupos étnicos (v.g., nos orientais, a frequência de acetiladores lentos é de cerca de 10%, comparativamente com um valor médio de 50% nos europeus).

3.2 DEFICIÊNCIA DA G6PD E REACÇÕES ADVERSAS

O gene da G6PD está localizado em Xq28. É bastante polimórfico, havendo alguns alelos que codificam enzimas com actividade deficiente ou

mesmo nula. A deficiência em G6PD é a deficiência enzimática hereditária mais comum. É rara nos caucasianos, excepto na bacia do Mediterrâneo, onde cerca de 35% dos indivíduos do sexo masculino apresentam uma redução da actividade enzimática para 0% a 5%. Entre os indivíduos de raça negra do sexo masculino, atinge cerca de 20%, com uma actividade enzimática reduzida a cerca de 10% a 20%. De uma forma pouco intensa, atinge 1% a 2% das mulheres negras.

A elevada frequência com que se encontra o polimorfismo responsável pela deficiência será devida à vantagem selectiva resultante da resistência à infecção pelo *Plasmodium falciparum* (malária) quando em heterozigotia. A actividade deste gene é importante para manter a integridade da membrana dos glóbulos vermelhos, sobretudo quando ocorre exposição a agentes oxidantes.

Nos portadores de deficiência para a G6PD há produtos medicamentosos que originam reacções adversas, como a primaquina e outras 8-aminoquinolonas usadas para tratar a malária, sulfonas, sulfonamidas, a nitrofurantoína, a fenacetina, análogos da vitamina K. O uso da primaquina pode originar, após 2-3 dias de administração, urinas escuras e baixa da concentração dos glóbulos vermelhos e da hemoglobina devido à hemólise provocada por uma produção deficiente de NADPH. Nos casos mais graves há urinas quase negras, fraqueza, dores abdominais, dores do dorso e icterícia. A gravidade da anemia está relacionada com o menor ou maior grau de deficiência da enzima. Estas mutações que apenas se manifestam quando os seus portadores contactam com determinadas substâncias designam-se mutações condicionais.

3.3. SENSIBILIDADE À SUCCINILCOLINA

A colinesterase sérica (pseudocolinesterase) é a enzima responsável pelo metabolismo, por hidrólise, da succinilcolina (suxametónio). Este fármaco é usado na anestesia para provocar o relaxamento muscular. Na ausência de colinesterase sérica, a succinilcolina não é inactivada em poucos minutos como normalmente, e observa-se apneia prolongada.

A deficiência para a succinilcolina parece compaginar-se com uma transmissão de natureza autossómica recessiva. É possível definir uma curva

trimodal, ocorrendo a condição homozigótica recessiva para a colinesterase em 1/2.000 pessoas e a heterozigotia em cerca de 3% a 4% dos indivíduos. O gene está localizado em 3q26.1-q26.2 e evidencia heterogeneidade alélica acentuada.

3.4. METABOLISMO DA ISONIAZIDA

A isoniazida é um fármaco utilizado como tuberculostático. O metabolismo da isoniazida processa-se por acetilação mediada pela enzima N-acetiltransferase.

Nos indivíduos acetiladores rápidos a eliminação da isoniazida varia entre alguns minutos e cerca de duas horas, enquanto que nos acetiladores lentos se pode estender até 7-8 horas. Os indivíduos acetiladores lentos, devido à persistência de concentrações séricas elevadas durante um período mais longo do que o esperado, têm uma maior probabilidade de desenvolverem efeitos adversos resultantes da administração de doses médias de isoniazida, de que se salienta uma polinevrite muito dolorosa das mãos, dos pés e das extremidades. Nos acetiladores rápidos as concentrações séricas baixam rapidamente e, para além da redução do efeito terapêutico, há um risco elevado de toxicidade hepática, quando associada à rifampicina, observado nos japoneses e nos chineses.

3.5. HIPERTERMIA MALIGNA

A hipertermia maligna tem uma prevalência de 1/20.000 pessoas sujeitas a anestesia. É cerca de três vezes mais elevada nas crianças, comparativamente com os adultos. Embora evidencie características de heterogeneidade, tem sido possível identificar um padrão autossômico dominante no seu modo de transmissão. Um dos genes já identificado (gene do receptor da rianodina) está localizado em 19q13.1-q13.2. Outros *loci* associados a hipertermia maligna encontram-se em 17q11.2-q24 e 3q13.1.

A hipertermia maligna é habitualmente desencadeada pela inalação de halotano, sobretudo quando o relaxamento muscular foi obtido com administração de succinilcolina. Os sintomas parecem ter origem numa

perturbação dos canais de cálcio. Esta perturbação origina um aumento exagerado da concentração de cálcio ionizado no sarcoplasma, de que resultam os sintomas respectivos. As crises caracterizam-se por febre elevada podendo atingir 42,3°C, rigidez muscular, taquipneia e taquicardia, acidose respiratória e metabólica, cianose, edema cerebral e coma. A febre tem de ser combatida energeticamente e deve ser administrado dantroleno. Após uma crise, há sinais de rabdomiólise, elevada concentração sérica da creatinacinase, mioglobulinúria e insuficiência renal crónica. A mortalidade atingia cerca de 60 % dos casos antes do uso do dantroleno, tendo baixado para cerca de 10%. Nos sobreviventes, verificam-se danos graves a nível cerebral e renal.

3.6. PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE

A porfíria aguda intermitente é uma doença de natureza autossómica dominante resultante da deficiência de uroporfirinogéneo I sintetase, uma enzima envolvida na síntese do grupo heme. As crises cursam com dor abdominal, obstipação e perturbações psiquiátricas. Contudo, para que as crises de porfíria aguda intermitente se iniciem, há necessidade de contactar com factores desencadeantes como o fenobarbital ou as sulfonamidas, duas substâncias usadas para fins terapêuticos. Assim, embora seja uma doença de natureza autossómica dominante, a penetrância do gene depende do contacto com o agente desencadeante.

3.7. ACATALÁSIA

A acatalásia é uma situação rara que tem origem na deficiência em catalase, uma enzima que degrada o peróxido de hidrogéneo. Entre a população japonesa, há uma frequência aumentada para esta condição. A transmissão é de natureza autossómica recessiva e o gene localiza-se em 11p13.5-11p13.6. Caracteriza-se pelo desenvolvimento de úlceras extensas na cavidade bucal, devidas à produção de peróxido de hidrogéneo por bactérias (sobretudo os estreptococos hemolíticos). As manifestações sépticas orais atingem apenas metade dos portadores da deficiência.

Nos indivíduos com acatalásia, mesmo em efracções ligeiras da mucosa bucal, a produção de peróxido de hidrogéneo que não é inactivado pela catalase vai converter a hemoglobina em metahemoglobina. A anóxia conduz à necrose dos tecidos envolventes da efracção inicial e à formação de úlceras sépticas extensas.

Nos indivíduos em que os sintomas se exprimem em idades jovens, antes dos 10 anos, pode-se desenvolver infecção dos maxilares e queda dos dentes. A extracção de todos os dentes constitui, frequentemente, o tratamento para esta doença, com a consequente cicatrização das úlceras.

3.8. PERSPECTIVAS FUTURAS

O avanço do conhecimento no âmbito da farmacogenética permite antever a possibilidade de a prescrição de medicamentos vir a ser feita de forma personalizada, recorrendo à genotipagem por SNPs. Poderá ainda contribuir para o desenho e desenvolvimento de novas moléculas com finalidades terapêuticas.

4. ECOGENÉTICA

A designação ecogenética foi usada pela primeira vez por Brewer em 1971. É o ramo da Genética que estuda a variabilidade das respostas individuais geneticamente determinadas a agentes ambientais, procurando identificar as razões e as consequências dessa variabilidade perante um mesmo agente. As diferenças interindividuais são devidas aos polimorfismos genéticos e a alelos mutantes raros.

Os factores ambientais são agentes primordiais na selecção dos indivíduos. Nestes factores incluem-se os produtos alimentares, os poluentes ambientais, os tóxicos produzidos por fungos, bem como variados agentes físicos, químicos e infecciosos. Os organismos desenvolveram sistemas enzimáticos polimórficos que procuram eliminar os efeitos tóxicos e corrigir os efeitos mutagénicos dos factores ambientais (Tabela X.2).

Tabela X.2. Associações entre factores ambientais, susceptibilidade genética e doença

FACTOR AMBIENTAL	GENE DE SUSCEPTIBILIDADE	DOENÇA/SINTOMAS
Ingestão de álcool	<i>ADH, ALDH</i>	Alcoolismo
Colesterol	Receptor das LDLs	Xantomas, xantelasmas, aterosclerose, enfarte do miocárdio precoce
Ingestão de favas, pólen, naftaleno	<i>G6PD</i>	Favismo, anemia hemolítica
Ingestão de leite	Lactase	Hipolactasia: intolerância à lactose
Ingestão de fructose	Aldolase B	Intolerância à fructose
Galactose	Galactose 1-fosfato uridiltransferase	Cataratas, atraso mental, cirrose
Suplemento de ferro no pão	Associação a HLA-A3 e -B7	Hemocromatose
Deficiência em ácido fólico	Poligénica	Defeito do tubo neural
Fumo e poeiras	α 1-antitripsina	DPOC
Paratião	Paraoxonase	Intoxicação

DPOC – doença pulmonar obstrutiva crónica.

A frequência dos polimorfismos genéticos humanos evidencia uma grande variabilidade, quando se comparam diversas populações, no que respeita a variáveis como a localização geográfica e a etnia. Esta variabilidade é tradutora da adaptação ao meio e conflui na combinação dos alelos que, ao longo das gerações, se constituíram no fundo genético mais favorável para os membros de uma determinada população poderem lidar com os factores ambientais, em condições que assegurassem a melhor capacidade biológica para a reprodução.

Face a um determinado factor ambiental, os membros de uma população podem estar em equilíbrio, em equilíbrio condicional apresentando susceptibilidade acrescida para desenvolverem doença ou serem hipersusceptíveis. Os indivíduos com hipersusceptibilidade têm uma elevada probabilidade de desenvolverem doença (em comparação com os outros grupos populacionais), para exposições ambientais curtas e de baixa intensidade a substâncias tóxicas ou poluentes ambientais. Na determinação dos resultados observados para o par indivíduo/meio interagem factores:

- que aumentem a concentração de substâncias biologicamente activas no local activo;
- que aumentem a reacção de substâncias químicas com as moléculas alvo no organismo e que originem uma resposta;
- que promovam o desenrolar da série de etapas que medeiam entre o início da reacção orgânica e as manifestações de doença.

Com este enquadramento e os meios e conhecimentos adequados, será possível identificar os membros de uma população com susceptibilidade aumentada para determinada doença, quando são submetidos a um determinado factor ambiental. Sendo a maioria das doenças comuns o resultado da interacção entre factores ambientais ou factores genéticos, oferece-se, assim, ao médico e ao epidemiologista, a possibilidade de actuar a nível dos factores ambientais e dos factores genéticos, ou de ambos. Mesmo para algumas condições monogénicas é possível uma acção eficaz na prevenção de doenças actuando a nível ambiental, como sucede com a FCU ou a galactosémia.

4.1. DIETA E HÁBITOS ALIMENTARES

4.1.1. ÁLCOOL E ALCOOLISMO

No alcoolismo, os factores psicossociais parecem ser mais frequentes do que os factores genéticos. Os estudos inter-étnicos mostraram que os efeitos desagradáveis subsequentes à ingestão de álcool são mais frequentes em orientais, quando comparados com caucasianos, o que resulta de uma maior acumulação de acetaldeído.

O acetaldeído é o produto do metabolismo do álcool, a nível hepático, por acção da enzima desidrogenase alcoólica (ADH). A ADH é uma enzima dimérica resultante da combinação de subunidades codificadas por três genes diferentes localizados em 4q21-24, *ADH1* que codifica a subunidade α e é expressa sobretudo nas fases precoces da vida fetal, *ADH2* que codifica a subunidade β e *ADH3* que codifica a subunidade γ .

O gene *ADH2* pode apresentar uma forma variante, resultante de uma mutação, que codifica uma subunidade β_2 com uma actividade catalítica muito maior do que a subunidade típica.

222

A frequência do alelo variante de *ADH2* difere entre diversas etnias e povos, indo de 5% a 10% para os ingleses, até mais de 85% nos japoneses, chineses e outros povos com antepassados mongolóides. Desta forma, compreende-se que a velocidade com que os portadores da forma variante procedem ao metabolismo do álcool para acetaldeído seja muito mais rápida do que as que se verificam em portadores da forma alélica típica, dada a maior percentagem de dímeros heterozigóticos e homozigóticos para β_2 que produzem.

A desidrogenase do acetaldeído (ALDH) é uma enzima homotetramérica responsável pelo metabolismo do acetaldeído em acetato que dará finalmente CO₂ e água. A ALDH1 localiza-se no citoplasma e a ALDH2 nas mitocôndrias. Os estudos da actividade enzimática da desidrogenase do acetaldeído, realizados em orientais, mostraram o carácter polimórfico da ALDH2. Cerca de 45% da população chinesa (e uma frequência que varia de 8% a 45% nas populações de ascendência mongolóide) não apresentam a isoenzima ALDH2. Nos indivíduos com esta deficiência (detectada sobretudo em orientais e índios da América do Sul e ausente nos caucasianos e nos negros), uma dose normal de álcool produz uma concentração sanguínea elevada de acetaldeído, com o conseqüente rubor, disforia, elevação da temperatura da pele, desconforto abdominal, fraqueza muscular, vertigens, elevação do ritmo cardíaco. Nesta perspectiva, a deficiência para esta forma da desidrogenase do acetaldeído constitui um fenótipo protector contra o alcoolismo, uma verdadeira base genética para nunca ingerir álcool.

4.1.2. HIPERCOLESTEROLÉMIA FAMILIAR

A hipercolesterolemia familiar tem uma prevalência na população geral de 1/500 indivíduos, sendo responsável por cerca de 5% dos enfartes do miocárdio verificados antes dos 60 anos de idade. É devida a uma mutação autossómica dominante a nível do gene localizado em 19p13.1-p13.3 que codifica o receptor de membrana para as LDLs. Foram descritas cerca de 150 mutações diferentes, em que se incluem deleções, inserções e mutações pontuais "missense", "nonsense" e "frameshift".

As LDLs transportam cerca de 70% do colesterol total do plasma sob a forma de éster. A ligação das LDLs aos receptores da membrana citoplasmática leva à sua endocitose, com remoção do colesterol da circulação periférica e posterior libertação de colesterol livre dentro das células. O excesso de LDLs é removido pelo fígado e excretado pela bÍlis, após metabolização.

Na condição heterozigótica, o número de receptores das LDLs nas células dificulta a entrada do colesterol para dentro das células, e conduz à sua acumulação sérica. Valores da ordem de 350 mg/dl (entre 270-550 mg/dl) devem fazer suspeitar de hipercolesterolemia familiar, bem como a existência de xantomias nos tendões, em particular no tendão de Aquiles e nos

extensores das mãos, de xantelasma e de arcus corneae, visíveis em cerca de metade dos portadores da mutação a partir da terceira década da vida. Habitualmente, não se observa obesidade. Em 50% dos homens heterozigóticos, o enfarte do miocárdio ocorre em média cerca dos 50 anos e nas mulheres cerca dos 60 anos. A manipulação da dieta para reduzir a ingestão de colesterol baixa a sua concentração plasmática cerca de 10%-15%, devendo uma maior redução ser procurada com fármacos adequados (v.g., inibidores da 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductase) e acompanhada de um estilo de vida saudável com exercício físico regular.

A homozigotia para a mutação da hipercolesterolemia familiar é rara (da ordem de um por milhão). Na subpopulação branca da África do Sul, há uma frequência aumentada de indivíduos com homozigotia. Nestes casos, os valores do colesterol plasmático podem atingir valores entre 600-1.200 mg/dl, mesmo na infância, os xantomas são visíveis antes dos 10 anos, desenvolve-se estenose da válvula aórtica por deposição de colesterol nas valvas e ocorre doença coronária e enfarte do miocárdio em criança ou na adolescência. A morte por enfarte do miocárdio ocorre, em média, antes dos 30 anos de idade. A manipulação da dieta tem muito pouco significado na redução da concentração do colesterol plasmático, ficando como recurso medicamentoso de eficácia limitada a administração de fármacos que baixam o colesterol plasmático.

4.1.3. FAVISMO E DEFICIÊNCIA EM G6PD

No que respeita à deficiência em G6PD, podem-se verificar manifestações adversas em portadores expostos a componentes ambientais como a ingestão de favas ou a inalação do respectivo pólen, o naftaleno, o trinitrotolueno, ou ainda uma infecção (sendo a mais comum a pneumonia bacteriana).

As manifestações de favismo podem ocorrer, por vezes, com a ingestão de uma única fava. São sentidas ao fim de 5 a 24 horas, sob a forma de mal-estar, febre, arrepios, palidez, dores de cabeça, tonturas, vômitos e dores lombares. As urinas escuras e a icterícia surgem ao fim de cerca de 24 horas. Quando ocorre exposição ao pólen, os sintomas podem ser visíveis ao fim de alguns instantes.

Face às diferentes pressões de selecção ambiental, o polimorfismo para a deficiência em G6PD comporta-se como um polimorfismo equilibrado

(a população pode manter os vários genótipos em proporções estáveis): concede vantagem quando em heterozigotia, como acontece com a protecção contra o *Plasmodium falciparum* (malária) e é desvantajoso em hemizigotia ou homozogotia devido à anemia hemolítica que provoca quando o portador contacta com algum dos produtos ambientais referidos acima.

4.1.4. DIETA LÁCTEA E HIPOLACTASIA

A lactase é a enzima que metaboliza o dissacarídeo lactose e o transforma nos monossacarídeos glicose e galactose. É codificada por um gene localizado em 2q. A deficiência desta enzima é uma situação rara nas crianças, sendo devida a uma condição genética de natureza autossómica recessiva. A remoção da lactose da alimentação faz regredir os sintomas que consistem em flatuência, cólicas abdominais, diarreia e irritação perianal.

Foi também identificada uma deficiência em lactase com início na idade adulta e, igualmente, de natureza autossómica recessiva, tendo o gene sido localizado em 3q22-q26. A alteração poderá dever-se a um processo de regulação pós-tradução, uma vez que a enzima dos indivíduos com baixa actividade parece ser idêntica à enzima dos que têm uma actividade normal para a lactase. O desenvolvimento dos sintomas verifica-se com a ingestão de leite. A frequência desta anomalia é baixa nas áreas geográficas em que o leite e os seus derivados constituem uma componente importante da alimentação e mais elevada nas áreas em que o recurso a este tipo de alimentos é pouco frequente.

4.1.5. INTOLERÂNCIA HEREDITÁRIA À FRUTOSE

A intolerância hereditária à frutose é uma condição autossómica recessiva com uma frequência na população geral de cerca de 1/20.000. Deve-se a uma mutação no gene que codifica a aldolase B, cujo *locus* se encontra em 9q21.3-q22.2. A actividade da aldolase B reduz-se a menos de 10% e a fructose-1-fosfato não é metabolizada no fígado em D-gliceraldeído e fosfato de di-hidroxiacetona.

Os sintomas de intolerância à fructose variam em função da idade em que foi introduzida na dieta e da quantidade ingerida. Na criança desenvolvem-se vômitos, hepatomegalia, hiperbilirrubinémia, edemas e

convulsões. As crianças de idade mais avançada, os jovens e os adultos apresentam dores abdominais, vômitos, palidez, suores e, por vezes, coma hipoglicêmico que pode ser fatal.

Para além da fructose, outros constituintes da dieta alimentar como a sucrose têm idêntico efeito (o metabolismo da sucrose origina fructose e glicose). A sucrose e a fructose encontram-se numa grande diversidade de alimentos (v.g., frutos, vegetais, doces, nozes, mel). A manipulação da dieta em tempo útil, de modo a evitar a ingestão de fructose, permite um bom prognóstico, com recuperação hepática e renal e sem sequelas neurológicas.

4.1.6. GALACTOSÉMIA

A galactosémia é heterogénea. Pode ocorrer por deficiência numa de três enzimas envolvidas no metabolismo da galactose, sendo a mais frequente, a galactose-1-fosfato uridiltransferase. A deficiência enzimática não permite o metabolismo da galactose em glicose. É uma condição autossómica recessiva que se manifesta quando há homozigotia. Tem uma prevalência de 1/35.000 a 1/60.000. A alteração genética está localizada em 9p13.

Durante a segunda semana de vida, os recém-nascidos com esta deficiência apresentam-se sem aumento de peso, com vômitos, letargia, icterícia e grande susceptibilidade para infecções por *E. coli*. O diagnóstico precoce da afecção, confirmado pela determinação da actividade enzimática, é essencial para evitar o desenvolvimento de atraso mental severo, convulsões, cataratas e cegueira, cirrose e perturbação da função renal. Nas crianças com cataratas, a galactosémia deve ser uma das possibilidades a equacionar no diagnóstico diferencial. É possível a realização de rastreio neo-natal pela realização do teste de Paigen (idêntico ao teste de Guthrie para a FCU).

226

O tratamento consiste na eliminação do leite comum da dieta e o recurso a um substituto sem galactose nem lactose, que se encontra disponível no mercado produzido à base de hidrolizados de caseína e de soja. Quando o tratamento é precoce, verifica-se desaparecimento dos sintomas. Contudo, mesmo com tratamento adequado, nas crianças observa-se dificuldades de aprendizagem e da fala e nas mulheres verifica-se quase sempre a falência ovárica.

4.1.7. SUPLEMENTO ALIMENTAR DE FERRO E HEMOCROMATOSE

Nos doentes com hemocromatose há uma maior absorção de ferro a nível do duodeno em comparação com a população geral, para iguais níveis de ingestão na dieta. Os sintomas consistem em dores articulares, aumento da pigmentação da pele, fraqueza e mal-estar. Com o tempo, o aumento de absorção é acompanhado pela formação de depósitos intracelulares anormais de ferro no fígado, coração, pâncreas, glândulas endócrinas e articulações. O efeito tóxico verifica-se quando o conteúdo de ferro no corpo ultrapassa as 15 gramas. Surge assim cirrose e, por vezes, carcinoma hepatocelular, falência cardíaca e disritmias, diabetes, melanodermia, amenorreia, perda da libido e artrite.

A hemocromatose é uma doença genética autossómica recessiva frequente, com uma distribuição generalizada a todo o mundo e uma prevalência entre os caucasianos de 2-5/1.000. A localização do gene em 6p21.3 foi definida pela ligação génica ao alelo A3 do sistema HLA, em relação ao qual foi determinada uma frequência de recombinação menor do que 1%.

A condição heterozigótica para o gene da hemocromatose, presente com uma frequência de cerca de 1/10, não provoca doença, conferindo mesmo vantagem ao proporcionar uma maior absorção de ferro. Nas mulheres, a condição homozigótica será particularmente favorável para compensar as necessidades acrescidas de ferro decorrentes da gravidez, embora seja desfavorável para o homem.

Em países como a Suécia em que é adicionado ferro ao pão, como suplemento para combater a deficiência de ferro nas crianças e grávidas, podem ser originados casos de hemocromatose mais cedo e mais graves nos homens com homozigotia. No entanto, e numa perspectiva de saúde pública, o risco acrescido para esta doença é compensado pelos benefícios esperados.

4.1.8. DEFICIÊNCIA EM ÁCIDO FÓLICO E DEFEITOS DO TUBO NEURAL

Quando o tubo neural não se fecha completamente durante a quarta semana do desenvolvimento embrionário, originam-se defeitos do tubo neural. Os defeitos podem-se localizar na região cefálica do embrião originando anencefalia (em cerca de 40% dos casos) ou encefalocelo (5% dos casos),

ou na medula espinhal dando origem a espinha bífida (em 55% dos casos). Em cerca de 80% dos indivíduos com espinha bífida encontra-se também hidrocefalia. Geneticamente, trata-se de uma condição multifactorial.

Quando na descendência de um casal há um elemento com defeito do tubo neural, o risco de recorrência numa nova gestação é de 3%, sendo que o risco para a população geral é, nos Estados Unidos, de 1/1.000. A ingestão diária de 0,4 mg de ácido fólico antes e durante a gravidez reduz em cerca de 70% o risco de recorrência de defeitos do tubo neural.

Saliente-se, contudo, que os valores da prevalência e da recorrência podem variar entre diversas regiões (e mesmo ao longo do tempo) em função das sub-populações presentes e da dieta alimentar. Foi referido que os indivíduos com ascendência celta têm um risco mais elevado, comparativamente com os restantes membros da população em que se incluem. Os conhecimentos actuais recomendam que, como suplemento da dieta, as mulheres em idade reprodutiva que planeiem engravidar, deverão tomar 0,4 mg de ácido fólico por dia.

4.2. POLUENTES AMBIENTAIS

4.2.1. FUMO E POEIRAS E DEFICIÊNCIA EM α 1-ANTITRIPSINA

A deficiência em α 1-antitripsina tem uma prevalência de 1/7.000 indivíduos do Norte da Europa e de 1/3.000 em escandinavos. É de natureza autossómica recessiva. Tem origem em mutações num *locus* que se encontra em 14q32.1.

A α 1-antitripsina é um inibidor de proteases. Pode ocorrer uma deficiência severa desta proteína quando o *locus* apresenta homozigotia para uma forma mutada do gene. Nestas condições, o risco de desenvolvimento de enfisema pulmonar é cerca de 30 vezes superior ao que é observado na população geral. Para os indivíduos heterozigóticos que fumem e estejam expostos a poluentes ambientais, há também um risco elevado de virem a sofrer de doença pulmonar obstrutiva crónica. A susceptibilidade para as doenças pulmonares é devida aos baixos níveis séricos desta enzima que não inactivam a elastase libertada pelos neutrófilos e permitem assim que aquela destrua a elastina do parênquima pulmonar.

4.2.2. INSECTICIDAS

O paratião é um dos componentes dos insecticidas usados na agricultura e na indústria. É inerte enquanto não é oxidado no retículo endoplasmático do fígado e transformado em paraoxão. O paraoxão é um composto organofosforado com actividade anti-colinesterase. A nível plasmático, é hidrolizado por uma esterase, a paraoxonase, que o converte em p-nitrofenol. Os dois alelos que codificam a paraoxonase são polimórficos e originam dois fenótipos enzimáticos, um com actividade elevada e outro com baixa actividade. A baixa actividade comporta-se como um carácter autossómico recessivo.

Nos indivíduos com reduzida actividade da enzima paraoxonase poderão ocorrer manifestações de intoxicação pelo paratião, para níveis de exposição que não provocam efeitos adversos visíveis nos indivíduos com actividade enzimática elevada.

(Página deixada propositadamente em branco)

CAPÍTULO XI

DIVISÃO CELULAR

1. INTRODUÇÃO

A divisão celular pode ocorrer por mitose ou por meiose. A mitose ocorre nas células somáticas e origina duas células-filhas idênticas. A meiose ocorre nas células germinais presentes nas gónadas masculinas e femininas, dando origem aos gametas. Quase todos os gens envolvidos no controlo da mitose (v.g., formação do fuso, replicação do DNA, segregação dos cromossomas), estão também envolvidos no controlo da meiose.

A mitose está na base da proliferação celular, ou seja, do processo que conduz a um aumento do número de células resultante de ciclos de divisão celular completos. Em condições normais, os factores extracelulares determinam o momento em que uma célula quiescente (em G₀) entra em divisão celular e também quando uma célula que está em fase G₁ continua em ciclo celular ou entra em quiescência. Após a entrada em fase S, os acontecimentos próprios do ciclo celular que levam à divisão da célula em duas células-filhas tornam-se, em grande parte, independentes dos factores extracelulares e passam a depender de controlos activados a partir do interior da célula.

No estado normal, o comportamento das células é regulado pela programação genética própria de cada célula, mas também por um espectro alargado de factores extracelulares, como sejam a natureza dos componentes físicos e químicos do meio envolvente das células, a interacção entre as células e entre as células e a matriz extracelular, a expressão de moléculas de adesão e a presença de factores de crescimento no meio envolvente.

O controlo do ciclo celular é fundamentalmente idêntico em todos os seres eucariotas, desde a levedura ao homem. Genes humanos implicados na divisão celular são semelhantes aos genes da levedura, o que traduz o seu papel fundamental para os processos biológicos e justifica a sua consequente manutenção ao longo da evolução.

2. CICLO CELULAR

Um ciclo celular engloba um período longo, designado por interfase, e uma componente de curta duração correspondente a cerca de 10% do tempo que dura um ciclo celular, designada por mitose (período M). O tempo que demora um ciclo celular varia entre as células do embrião, do feto e do período pós-natal. Sendo curto antes do nascimento, torna-se mais longo após o nascimento. Por outro lado, a duração de um ciclo celular completo e dos períodos que o constituem também são variáveis quando se comparam células de diferentes tecidos e, para um mesmo tecido, em diferentes períodos do desenvolvimento. Em tecidos com diferenciação terminal, as células não se dividem (v.g., células nervosas). Noutros órgãos, como o fígado, podem ocorrer divisões, se houver uma redução do volume do órgão.

Quando há lesão de um tecido, o ritmo proliferativo celular também se acelera de forma a promover a reparação da lesão, após o que as células precursoras das formas diferenciadas passam a dividir-se ao ritmo a que se dividiam antes da lesão. Tipicamente, o ciclo celular demora entre 10 e 30 horas, nos mamíferos.

Um ciclo celular é constituído pelos períodos G1, S, G2 e M. Os períodos S, G2 e M, em conjunto, requerem um período relativamente fixo de cerca de 10 horas. A duração de G1 é bastante variável (Fig. XI.1).

O período G1 inicia-se logo após o fim da fase M. Na fase G1 são sintetizados diversos componentes celulares como membranas, organelos e ribossomas, que praticamente duplicam o tamanho da célula. Há ainda uma importante síntese de proteínas, entre as quais as enzimas “housekeeping” necessárias para a subsequente replicação do DNA (v.g., timidinacina, timidilatosintetase, diidrofolato reductase). As histonas são sintetizadas na fase de transição entre G1 e S, sendo a sua síntese utilizada frequentemente como indicador de entrada em fase S. Neste período de síntese intensa de proteínas, as células são muito sensíveis à presença de inibidores da síntese proteica (v.g., puromicina).

Quando as células permanecem longo tempo em G₁, sem avançarem para a fase subsequente do ciclo, designam-se por células em G₀, ou quiescentes. Como exemplo da variabilidade de G₁ refira-se que nas células do fígado pode ter uma extensão de anos, em comparação com o que se verifica nas células da medula óssea em que a fase G₁ tem uma duração de cerca de 20 horas e nas fases mais precoces das células embrionárias em que a fase G₁ está praticamente ausente (Fig. XI.1).

A decisão de uma célula permanecer em G₀ ou entrar em divisão depende de factores extracelulares (v.g., condições nutritivas) e celulares (v.g., tamanho celular suficiente para originar duas células). Na fase G₀, as células diminuem de tamanho, as proteínas e o RNA degradados não são rapidamente substituídos, a síntese de macromoléculas é mais lenta, a actividade das enzimas e do transporte transmembranar são baixos e os ribossomas raramente se apresentam como polissomas.

Na fase S ocorre a replicação complementar e semiconservativa do DNA. O início da fase S depende de factores citoplasmáticos. O citoplasma de uma célula em fase S induz a replicação do DNA do núcleo de uma célula não proliferativa.

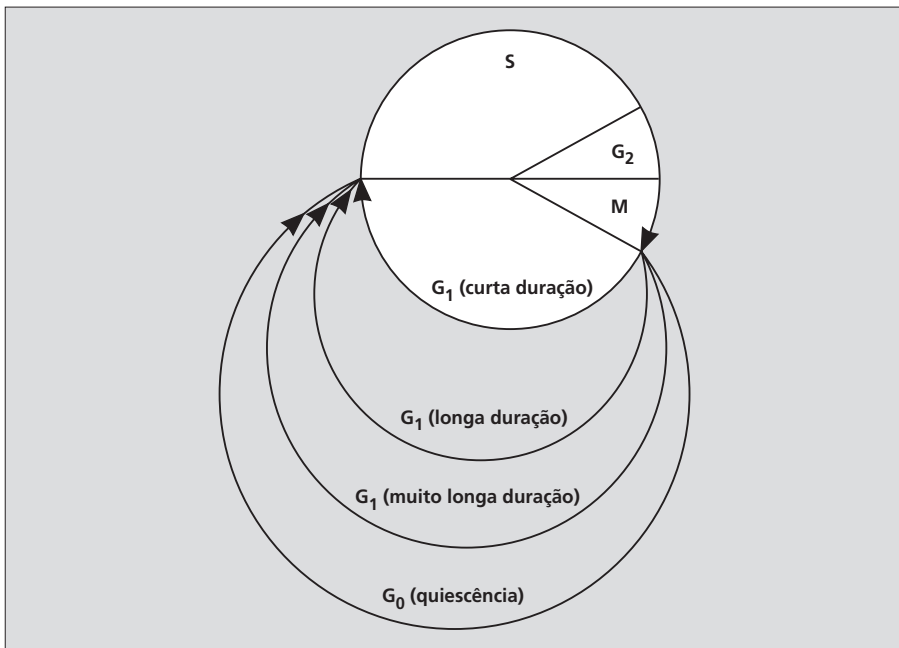


Fig. XI.1 – Ciclo celular e variabilidade da duração da fase G₁.

Num cromossoma, há regiões que replicam mais precocemente, como os genes “housekeeping” e genes que replicam mais tardiamente, como as regiões centroméricas de heterocromatina. Os cromossomas X inativados por lionização são os últimos a completar a replicação.

No fim da fase S, a quantidade de DNA é de $4n$, ou seja, o dobro da quantidade normal da espécie humana que, sendo diplóide, é de $2n$ (Fig. XI.2). As duas cópias de cada cromossoma ficam ligadas pelo centrómero (Fig. XI.3). A duração desta fase corresponde a cerca de um terço da duração do ciclo celular.

A fase G_2 é pré-mitótica, subsequente à replicação do DNA. Durante esta fase ocorre a síntese de RNA e de proteínas.

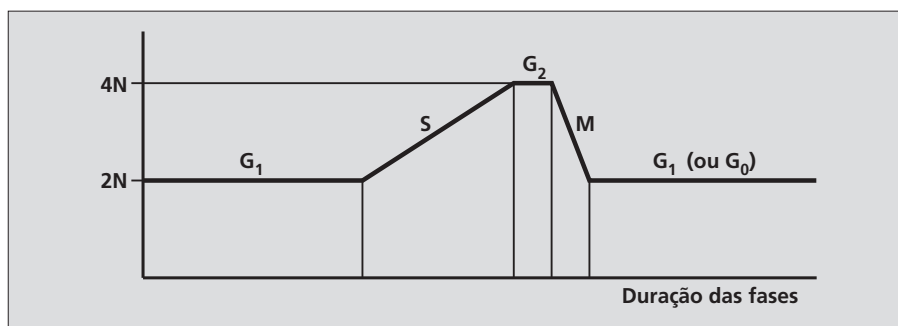


Fig. XI.2 – Fases do ciclo celular. $2N$ – número diplóide de cromossomas; $4N$ – número de cromossomas no final da fase S.

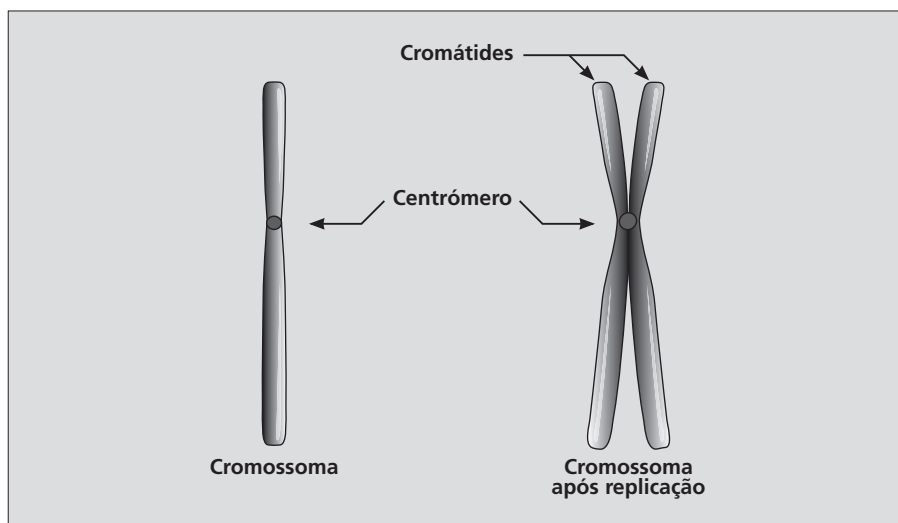


Fig. XI.3 – Esquema comparativo de um cromossoma antes e após replicação.

3. MITOSE

A mitose tem uma duração curta, entre 30 e 180 minutos, e corresponde à fase em que a célula se divide em duas células-filhas, cada uma com uma constituição cromossômica idêntica à da célula-mãe. Embora o processo se desenrole em contínuo, foram diferenciados quatro estádios na mitose – profase, metafase, anáfase e telofase. Durante a metafase, a síntese proteica está reduzida ao mínimo e a síntese de RNA apenas ocorre no início da profase e no fim da telofase.

No início da profase, os cromossomas duplicados na fase S começam a condensar-se e no final desta fase já é possível identificar, por microscopia de luz, as duas cromátides-irmãs que constituem cada cromossoma. Também durante a profase, os centríolos dividem-se e cada parte migra para os pólos da célula e tem lugar a formação do fuso. No final da profase, a membrana nuclear e os nucléolos desaparecem.

Durante a profase, pode ocorrer recombinação homóloga, ou seja, trocas de fragmentos cromossômicos entre segmentos equivalentes das cromátides irmãs (SCE, de “sister chromatid exchange”) (Fig. XI.4). Dado que correspondem a sequências idênticas, estas trocas não têm consequências, em termos de informação genética, para as células que resultam da divisão mitótica. A extensão e o número destas trocas é variável entre os cromossomas e apenas podem ser detectadas se as células em divisão forem sujeitas a procedimentos laboratoriais específicos. Estes procedimentos consistem em adicionar bromodeoxiuridina (BrdU) ao meio de cultura. A BrdU, como análogo da timidina, vai ser incorporada no DNA durante a replicação do DNA. A diferenciação que concede à cromátide-filha em que está incorporada, em termos de fluorescência ou de coloração, em comparação com a outra cromátide, permite detectar os locais em que houve trocas, pela descontinuidade de coloração que se observa ao longo das duas cromátides-irmãs. O estudo de SCE pode ser útil para detectar condições que estejam a agredir seriamente o DNA. Nestes casos, o número de SCE observado por mitose será significativamente superior ao seu valor basal.

Durante a metafase, os cromossomas atingem o máximo de condensação e são facilmente visíveis por microscopia de luz (Fig. XI.5). É o período mais

propício para realizar o estudo citogenético. Os cromossomas organizam-se na placa equatorial e ligam-se aos microtúbulos do fuso pelo centrómero. Se a ligação entre o centrómero de um par de cromátides e os microtúbulos não ocorrer, a migração dos cromossomas será afectada subsequentemente.

Na anáfase, os centrómeros dividem-se e as cromátides-irmãs de cada par separam-se e iniciam a migração para pólos opostos do fuso, como cromossomas. A migração normal dos cromossomas depende da divisão do centrómero e da ausência de perturbação no processo de despolimerização dos microtúbulos. Se ocorrerem anomalias a estes níveis, o número normal de 46 cromossomas, característico da espécie humana, pode não se reconstituir nas células-filhas.

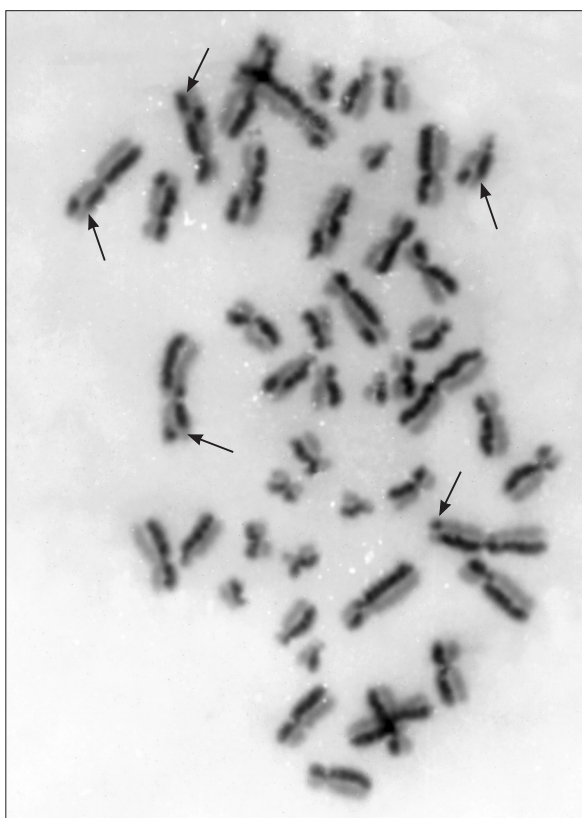


Fig. XI.4 – Placa metafásica em que as setas indicam algumas das “sister chromatid exchanges” presentes.

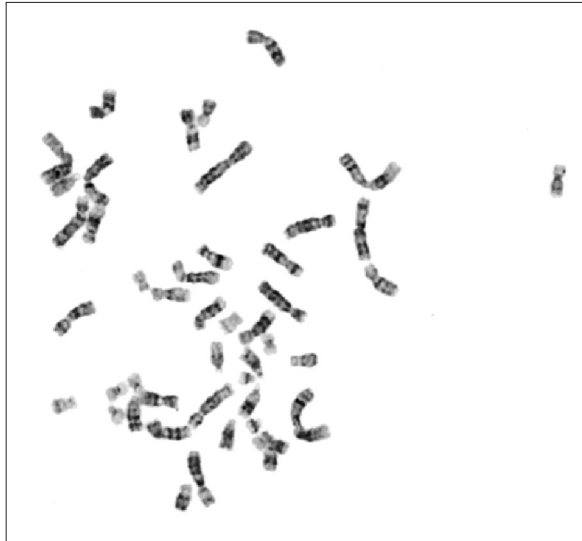


Fig. XI.5 – Placa metafásica, após bandeamento.

A telofase começa quando os cromossomas atingem o pólo do fuso. Seguidamente, inicia-se a descondensação da cromatina, reconstituem-se a membrana nuclear e os nucléolos e tem lugar a citocinese (divisão do citoplasma). Formam-se, assim, duas células-filhas, em que, normalmente, o conteúdo cromossómico é idêntico ao conteúdo da célula que lhes deu origem.

4. CONTROLO DO CICLO CELULAR

Na fase G1 ocorre o principal controlo do ciclo celular, bem como da diferenciação celular. A transição entre a fase G1 e a fase S é regulada a nível do “ponto de restrição” R1. Ultrapassado este “ponto de restrição”, o controlo dos processos subsequentes é principalmente intracelular. Na fase S existe outro “ponto de restrição” designado por R2. Na parte final de G2, está ainda descrito um “ponto de restrição” R3 que regula a entrada em mitose (Fig. XI.6).

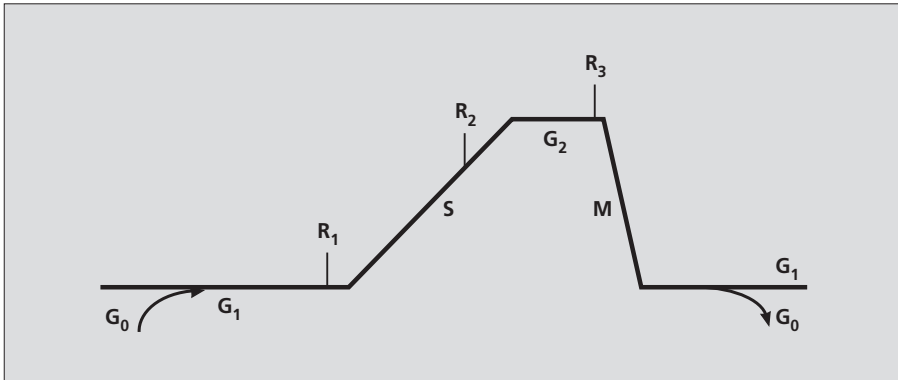


Fig. XI.6 – Distribuição dos pontos de restrição R1, R2 e R3 ao longo do ciclo celular.

Os três “pontos de restrição” R1, R2 e R3 requerem, para a sua ultrapassagem, a convergência de condições específicas, e são objecto de uma regulação muito fina. A sua existência observa-se noutras espécies além da humana, inclusive na levedura, espécie em que foram pela primeira vez descritos.

A ultrapassagem dos “pontos de restrição” é regulada por proteínas específicas designadas por ciclinas:

- ciclinas G1, cuja acção permite a ultrapassagem do “ponto de restrição” R1, localizado na parte final de G1;
- ciclinas S, que actua no “ponto de restrição” R2, localizado na fase S;
- ciclinas G2, que permitem ultrapassar o “ponto de restrição” R3, localizado na transição G2/M.

Uma decisão essencial ocorre também na transição das células de G0 para G1, uma vez que permite que células quiescentes entrem em ciclo. Em células em G0, sujeitas a um estímulo extracelular, ocorre a activação de “genes de activação precoce”, cuja transcrição se verifica alguns minutos após a estimulação por factores de crescimento, sem prévia síntese proteica. No grupo dos genes de activação precoce encontram-se os protooncogenes *FOS* e *JUN*.

Além das ciclinas, são ainda elementos-chave, no complexo processo que é o ciclo celular, as proteínas p34^{CDK}. Estas proteínas funcionam como proteinacinasas, quando em ligação com uma ciclina.

As ciclinas acumulam-se e destróiem-se ao longo do ciclo celular, em pontos definidos deste. Pelo contrário, a concentração de p34^{CDK} mantém-se constante ao longo do ciclo celular.

A necessidade de formação de um complexo entre uma ciclina e a proteína p34^{CDK} para que esta tenha actividade de cinase, e a distribuição crítica desta actividade de um modo dependente do aumento da concentração de ciclinas específicas de determinadas fases do ciclo, sugerem um papel relevante na progressão do ciclo celular para este complexo, em relação com a ultrapassagem dos “pontos de restrição”.

5. MEIOSE

A meiose é um processo de divisão celular em que, na sequência de uma única replicação de DNA, se verificam dois ciclos de divisão do material genético e de divisão celular que terminam na formação dos gâmetas. A primeira divisão da meiose é reducional e a segunda divisão é equacional. Os gâmetas são células com um número haplóide de cromossomas (n), ou seja 23 cromossomas, comparativamente com o número diplóide de cromossomas (2n), ou seja 46 cromossomas, presente nas células somáticas.

A primeira divisão da meiose tem uma profase complexa dividida em cinco estádios: leptóteno, zigóteno, paquíteno, diplóteno e diacinese.

No estádio de leptóteno, os cromossomas constituídos por duas cromátides começam a sua condensação.

Segue-se o estádio de zigóteno, em que os cromossomas homólogos emparelham e estabelecem pontos de contacto (sinapses) entre os dois cromossomas de cada par (Fig. XI.7). Enquanto que o emparelhamento dos pares de cromossomas de 1 a 22 se estende em toda a sua extensão, entre os cromossomas X e Y apenas se verifica emparelhamento e recombinação de DNA nas regiões pseudo-autossómicas: no cromossoma Y a região telomérica PAR1 do braço curto e a região telomérica PAR2 do braço longo; no cromossoma X, as regiões equivalentes. Nas regiões pseudo-autossómicas estão localizados genes envolvidos no crescimento.

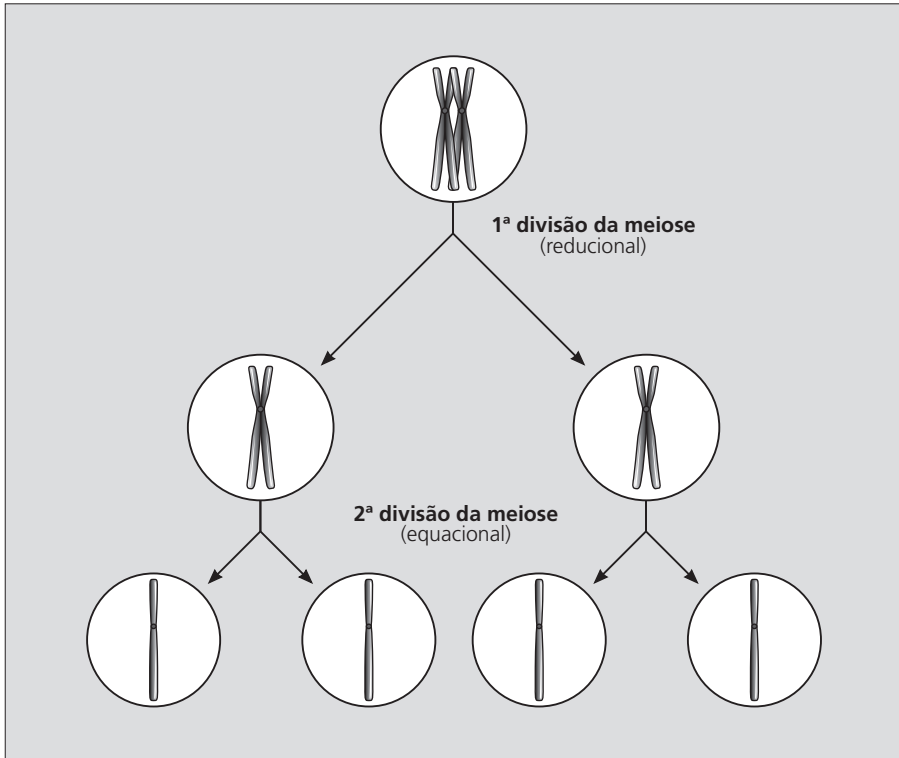


Fig. XI.7 – Fases da meiose e produção de células haplóides. O esquema regista os acontecimentos relativos a um par de cromossomas homólogos.

Após o estágio de zigóteno, os pares de cromossomas homólogos evoluem para o paquíteno caracterizado por uma elevada condensação e troca de material cromossómico entre regiões de DNA homólogas ("crossing-over"). A troca de informação durante o "crossing-over", entre os cromossomas homólogos paternos e maternos de um indivíduo, permite o aparecimento de novas combinações nos cromossomas que vão ser transmitidos à descendência através dos gâmetas.

Após o estágio de paquíteno segue-se o diplóteno em que se inicia a separação dos cromossomas homólogos, ficando apenas ligados pelas pontes de quiasma (*chiasmata*), correspondentes aos locais em que ocorreu "crossing-over".

Tabela XI.1. Diferenças entre a mitose e a meiose

MITOSE	MEIOSE
Ocorre em todas as células somáticas durante toda a vida (com exceção das células que entram em diferenciação funcional terminal)	Ocorre nas células germinais das gónadas: no homem a partir da puberdade; na mulher durante a vida intrauterina e entre a menarca e a menopausa
Envolve um ciclo de replicação do DNA e uma divisão celular	Envolve um ciclo de replicação do DNA e duas divisões celulares
Na telofase, as cromátides separam-se	Na telofase da 1ª divisão, as cromátides mantêm-se unidas pelo centrómero; apenas se separam na telofase da 2ª divisão
Inclui apenas uma divisão equacional	Inclui uma 1ª divisão reducional e uma 2ª divisão equacional
Origina duas células-filhas, geneticamente idênticas, cada uma com 2n cromossomas	Origina quatro células-filhas, cada uma com n cromossomas; as células filhas são diferentes devido à recombinação genética e à segregação independente dos homólogos
A recombinação genética é excepcional, pelo que os cromossomas das células-filhas mantêm a mesma informação genética	A recombinação genética através do "crossing-over" é a regra, pelo que se altera a informação genética para um mesmo cromossoma

Finalmente, na diacinese, os pares de cromossomas homólogos separam-se e os cromossomas atingem o máximo de condensação. A primeira divisão da meiose prossegue com a metafase, a anafase e a telofase.

No final da primeira divisão da meiose, as duas células-filhas são portadoras de 23 cromossomas, cada um constituído por duas cromátides (Fig. XI.7). A segregação dos cromossomas homólogos paterno e materno de cada par é independente da segregação dos cromossomas dos demais pares de homólogos.

A segunda divisão da meiose é um processo de divisão equacional idêntico ao que foi descrito para a mitose. Ocorre separação das duas cromátides e a formação de quatro células haplóides por divisão das duas células-filhas geradas durante a primeira divisão. Cada célula é portadora de 23 cromossomas (Fig. XI.7).

A meiose assegura a reprodução sexuada das espécies em que se verifica, ao possibilitar que as células dos descendentes de um casal sejam diplóides como as dos seus progenitores. Na ausência de meiose, o ovo ou zigoto formado por fecundação de um ovócito por um espermatozóide teria 92 cromossomas, ou seja uma tetraploidia, o que torna inviável o produto de concepção.

Quando se verificam anomalias durante a meiose podem resultar embriões poliplóides ou aneuplóides, podendo as aneuploidias ser ou não compatíveis com a vida, em função dos cromossomas envolvidos.

(Página deixada propositadamente em branco)

CAPÍTULO XII

CARIÓTIPO HUMANO

1. INTRODUÇÃO

O número de cromossomas e a sua morfologia são característicos de cada espécie, podendo variar desde um cromossoma único, como ocorre em vírus e bactérias, até centenas em algumas plantas ou animais. Em 1956, ficou estabelecido o número exacto de cromossomas da espécie humana e em 1959 foi, pela primeira vez, correlacionada uma anomalia do cariótipo com patologia – a presença de um cromossoma 21 supranumerário (trissomia 21) foi associada à ocorrência de síndrome de Down.

Em 1960, dois avanços vieram revolucionar a citogenética – o desenvolvimento de metodologias eficazes e reproduzíveis para cultura de sangue periférico e a descoberta da fitohemaglutinina como mitogénio para os linfócitos. Em 1970, foi registado mais um novo e extraordinário avanço, em particular para a citogenética tumoral, com a descrição das técnicas do bandeamento, a que se vieram juntar, em 1976, as técnicas que possibilitam a obtenção de cariótipos com bandeamento de alta resolução.

O estudo das características dos cromossomas e das suas anomalias constitui o objectivo da citogenética. As metodologias citogenéticas têm como finalidade parar a divisão celular em metafase ou prometafase e visualizar os cromossomas através de microscopia de luz. Os pares de cromátides observados resultam da condensação dos cromossomas duplicados durante a fase S do ciclo celular.

2. CARIÓTIPO HUMANO

A espécie humana tem um número diplóide de cromossomas constituído por 46 cromossomas agrupados em 23 pares. Os cromossomas dividem-se em autossomas (22 pares de cromossomas homólogos numerados de 1 a 22 por ordem decrescente de comprimento, embora o 22 seja maior do que o 21) e heterocromossomas ou cromossomas sexuais (cromossomas X e Y). Os cromossomas X e Y são bastante diferentes, no que respeita à sua extensão e aos genes que possuem (Fig. XII.1).

Devido a variações heteromórficas, os cromossomas homólogos podem apresentar aumento ou diminuição do comprimento. Os heteromorfismos são observáveis por microscopia de luz e resultam de variações da extensão de regiões de heterocromatina constitutiva presentes em indivíduos da mesma espécie. Como exemplo, refira-se a variabilidade heteromórfica da região distal do braço longo do cromossoma Y, de tal modo que este cromossoma pode aparecer com uma extensão menor do que a do cromossoma 21 ou maior do que a do cromossoma 18. Outras variações heteromórficas frequentes encontram-se nos satélites dos cromossomas acrocêntricos 13, 14, 15, 21 e 22, e nas regiões centroméricas dos cromossomas 1, 9 e 16.

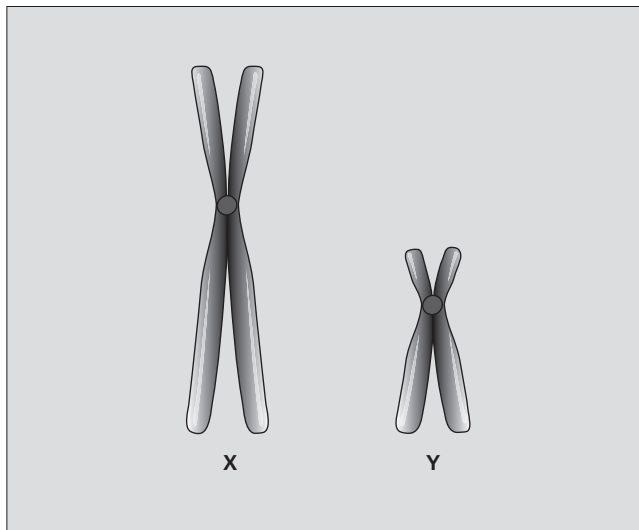


Fig. XII.1 – Esquema comparativo dos cromossomas X e Y, em metafase.

O centrómero (constricção cromossómica constituída por heterocromatina, pela qual as cromátides estão ligadas) divide um cromossoma em braço longo (q, de “queue”) e braço curto (p, de “petit”) (Fig. XII.2). A antecedência a letra que simboliza o braço indica-se o número do cromossoma (v.g., 1q para designar o braço longo do cromossoma 1). As extremidades dos cromossomas designam-se telómeros.

A posição do centrómero num cromossoma permite classificar os cromossomas em metacêntricos quando o centrómero está aproximadamente no meio do cromossoma, de tal modo que os braços têm um comprimento quase igual (cromossomas 1,3,16, 19 e 20), submetacêntricos se o centrómero se situa entre o meio do cromossoma e uma das extremidades, embora distante desta (cromossomas 2, 4-12, 17, 18 e X), acrocêntricos se o centrómero se encontra perto da extremidade, de modo que um dos braços é muito curto (cromossomas 13-15, 21,22 e Y) (Fig. XII.3). As formas cromossómicas em que o centrómero está localizado numa das extremidades designam-se por telocêntricas e não se encontram normalmente na espécie humana.

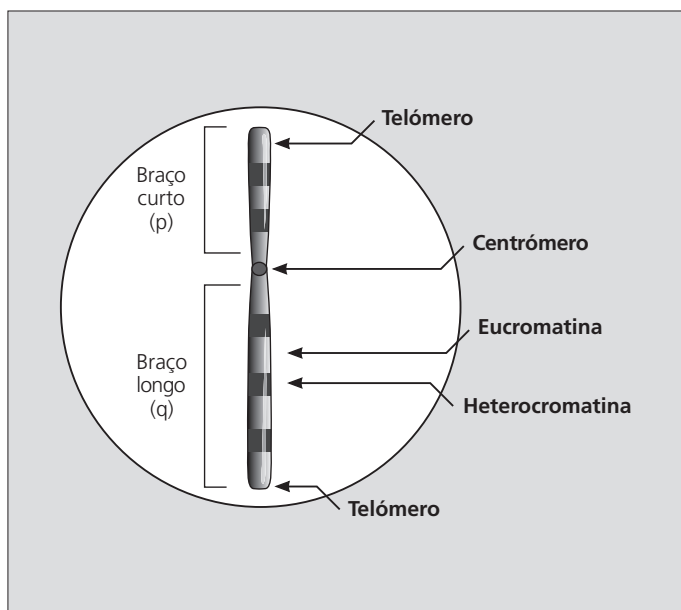


Fig. XII.2 – Esquema de um cromossoma após bandejamento.

Recorrendo aos parâmetros tamanho, posição do centrómero e presença ou ausência de satélites, é possível distribuir os cromossomas em sete grupos designados pelas primeiras letras do alfabeto (de A a G). A proposta inicial de distribuição dos cromossomas em função do tamanho foi feita por Patau em 1960. Assim, os cromossomas distribuem-se por (Fig. XII.3):

- grupo A, inclui os grandes cromossomas metacêntricos 1 e 3 (o cromossoma 1 é o maior dos cromossomas, com cerca de 10 μm) e o grande submetacêntrico 2;
- grupo B, inclui os grandes submetacêntricos 4 e 5, dificilmente individualizáveis pelo tamanho;
- grupo C, oferece as maiores dificuldades de identificação individual e engloba os médios submetacêntricos (6,7,8,9,10,11,12); o cromossoma X inclui-se também neste grupo devido às semelhanças com os cromossomas maiores;
- grupo D, engloba os cromossomas acrocêntricos de tamanho médio, com satélites (13,14,15);
- grupo E, junta os pequenos cromossomas 16,17 e 18, sendo o cromossoma 16 metacêntrico e os cromossomas 17 e 18 submetacêntricos;
- grupo F, inclui os pequenos metacêntricos 19 e 20;
- grupo G, inclui os pequenos acrocêntricos 21 e 22, com satélites e NORs (“nucleolus organizer regions”) e, por semelhança, o cromossoma Y, embora este não tenha satélites nem NORs.

A indicação do número de cromossomas e dos cromossomas sexuais (46,XY no sexo masculino e 46,XX no sexo feminino) é designado por cariótipo. O cariótipo permite também registar as aberrações cromossómicas eventualmente observadas. O número de cromossomas seguido de vírgula é a primeira indicação do cariótipo. O complemento cromossómico sexual é indicado de seguida. As eventuais alterações observadas, utilizando simbologia comumente aceite, são indicadas subsequentemente.

A apresentação sistematizada do conjunto dos cromossomas observados numa placa metafásica ou pré-metafásica de acordo com as dimensões, a morfologia e o padrão de bandas, constitui o cariograma, embora a designação mais comum seja cariótipo.

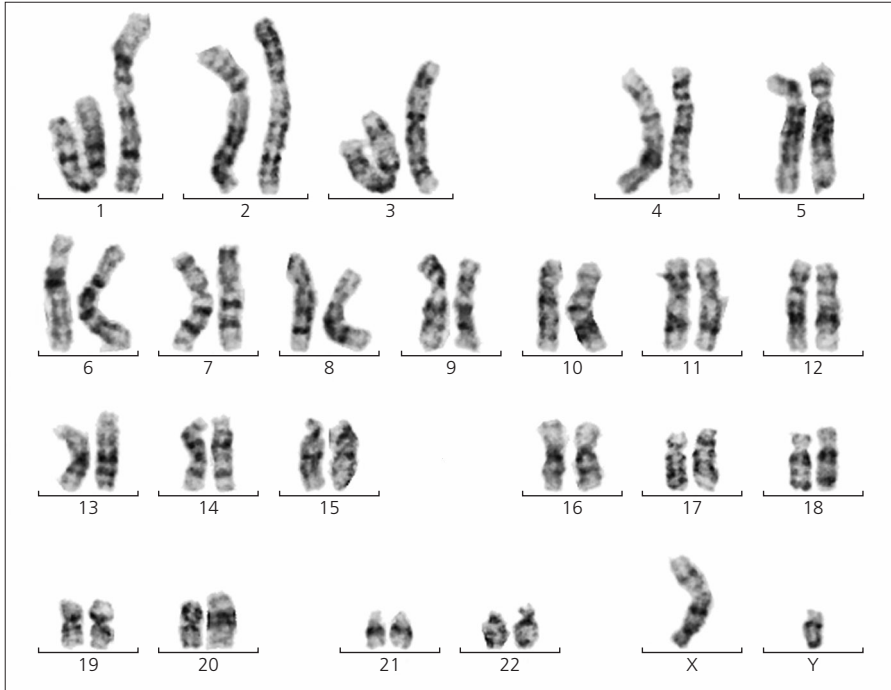


Fig. XII.3 – Cariótipo humano normal com bandeamento, de um indivíduo do sexo masculino (46,XY), obtido a partir de linfócitos de sangue periférico.

A nomenclatura dos cromossomas humanos obedece a critérios uniformizados. Uma Comissão Permanente de Nomenclatura em Citogenética Humana actualiza regularmente a terminologia e publica um relatório abreviadamente designado por ISCN (“International System for Human Cytogenetic Nomenclature”). A última actualização do ISCN data de 1995.

3. INDICAÇÕES PARA O ESTUDO DO CARIÓTIPO

O pedido de um cariótipo deve respeitar os limites de resolução da microscopia de luz. Assim, alterações genéticas que envolvam menos de 4×10^6 bp, não são detectadas em estudos citogenéticos baseados exclusivamente na observação morfológica. Na verdade, quando a patologia presente está associada a alterações génicas, o cariótipo convencional ou de alta resolução não contribuem para o esclarecimento da situação.

O pedido de um cariótipo deve especificar a razão que determinou o seu pedido e ser sempre acompanhado por uma história clínica cuidada. São indicações para o pedido de um cariótipo:

- quando se suspeita de uma anomalia cromossómica;
- em estudos familiares, quando está presente um rearranjo cromossómico estrutural conhecido (v.g., translocação equilibrada);
- na presença de anomalias congénitas múltiplas e/ou atraso de crescimento ou atraso mental;
- quando estão presentes alterações da diferenciação sexual;
- quando há história de abortos de repetição;
- quando se verifica amenorreia primária ou menopausa precoce;
- para apoiar o DPN, em casos de gravidez em idade avançada ou quando se suspeite de alterações cromossómicas;
- quando se regista atraso mental com incidência familiar em indivíduos do sexo masculino;
- em neoplasias hematológicas.

4. MÉTODOS DE ESTUDO DOS CROMOSSOMAS

Para realizar um estudo citogenético, podem ser utilizadas células provenientes de diversos tecidos, como os linfócitos do sangue periférico, células de descamação de mucosas, fibroblastos obtidos por biópsia da pele ou células da medula óssea. Para DPN, pode recorrer-se às células do líquido amniótico, ao sangue do cordão umbilical ou aos fibroblastos das vilosidades coriônicas. Após a morte, e durante vários dias, as células do tecido cartilágneo continuam vivas e a possibilitar o estudo do cariótipo.

Os linfócitos do sangue periférico são as células mais frequentemente usadas para obtenção de um cariótipo. Recolhe-se cerca de 1 ml de sangue venoso periférico utilizando heparina como anticoagulante (500 UI de heparina/1ml de sangue). O sangue é diluído em meio de cultura adequado e é adicionada fitohemaglutinina. A adição da fitohemaglutinina, como mitogénio, é essencial para estimular a proliferação dos linfócitos. A cultura decorre durante 72 horas a 37°C. Quando se usam células da medula óssea, não é necessária a adição de mitogénio nem proceder a uma cultura de

72 horas, uma vez que as células estão em proliferação. Na fase subsequente, adiciona-se um produto antimicrotubular (colchicina ou colcemida), que se deixa actuar cerca de uma hora, para que as células em divisão celular interrompam o ciclo em metafase. Para obter cariótipos de alta resolução a divisão celular é parada em prometáfase, para que os cromossomas estejam menos condensados. A dispersão dos cromossomas dentro do núcleo é feita suspendendo as células numa solução hipotónica de KCl a 0,075 M. Seguidamente, procede-se à fixação com uma mistura de etanol e ácido acético nas proporções de 3:1. A suspensão de células em fixador é usada para obter placas metafásicas (ou prometáfásicas) deixando cair uma gota sobre uma lâmina de vidro. O processo de coloração pode ser variado consoante os objectivos do estudo. As lâminas podem ainda ser usadas para desenvolver estudos que combinem a citogenética com métodos moleculares como a hibridação *in situ*, a hibridação genómica comparativa ou a PCR *in situ*.

Quando as células para estudo citogenético tem origem nas vilosidades coriónicas, o tempo de cultura pode variar entre um e 10 dias. Se forem obtidas por amniocentese, o tempo de cultura varia entre sete e 15 dias.

5. BANDEAMENTO CROMOSSÓMICO

Os métodos citogenéticos convencionais permitem detectar alterações numéricas dos cromossomas e alterações estruturais que impliquem modificação do tamanho dos braços dos cromossomas que estejam acima do limiar de resolução da microscopia de luz. Em 1970, Caspersson verificou que cada cromossoma produz um padrão de bandas específico e estável por técnicas adequadas, o que conduziu em 1971, num congresso internacional em Paris, à adopção das bandas para identificar cada cromossoma e as alterações estruturais que estejam dentro dos limites de resolução da microscopia de luz (Fig. XII.3). As técnicas de bandeamento citogenético definem bandas com coloração mais clara ou mais escura ou diferente intensidade de fluorescência, devido a descontinuidade na afinidade para a coloração. Uma banda difere da banda adjacente devido à composição de bases nucleotídicas, ao tempo do ciclo em que ocorre a replicação, à conformação da cromatina e ao número de genes e de seqüências repetitivas.

As bandas permitem dividir um cromossoma metafásico em múltiplos segmentos específicos, o que conduz à sua identificação precisa e à observação de alterações indetectáveis pela avaliação do tamanho e do comprimento dos braços. Os braços são divididos em regiões tomando como marcos o centrómero, o telómero e bandas características. A numeração das regiões (e das demais sub-divisões dos braços) é feita sequencialmente a partir do centrómero para o telómero (v.g., Xp1, Xp2; Xq1, Xq2). Cada região subdivide-se, por sua vez, em bandas (v.g., Xq21 (que se lê: Xq dois um), Xq22, Xq23, Xq24, Xq25, Xq26, Xq27, Xq28). Uma banda utilizada para assinalar o início de uma região constitui, por definição, a primeira banda dessa região.

O número de bandas observadas depende do estado de condensação dos cromossomas. Nos cromossomas metafásicos, por métodos citogenéticos convencionais, este número pode atingir as 450-550 bandas, enquanto que nas preparações de cromossomas prometáfásicos, devido à sua menor condensação, o número de bandas é de cerca de 800, permitindo a obtenção de cariótipos de alta resolução. Nestes cromossomas, é possível subdividir as bandas em sub-bandas (v.g., Xq21.1, Xq21.2, Xq21.3) e estas em sub-sub-bandas (v.g., Xq21.31, Xq21.32, Xq21.33).

O bandeamento cromossómico, apesar de permitir uma localização mais precisa das alterações estruturais é um método grosseiro quando as alterações são a nível génico. Considerando a resolução de 800 bandas, por cariotipagem de alta resolução, e a existência de 30.000 a 40.000 genes na espécie humana, verifica-se que, em termos médios, cada banda corresponde a 50 genes. Sendo o tamanho médio dos genes humanos de aproximadamente 10^4 bp, a deleção ou inserção de algumas dezenas de genes pode não ser detectada por estudo citogenético.

5.1. PADRÕES DE BANDAS

O padrão de bandas de um cromossoma depende da técnica usada e do corante (Ex.: GTG - refere-se a bandas G, obtidas por tratamento com tripsina (T), seguido de coloração com Giemsa (G). Foram definidos diferentes tipos de bandas consoante os procedimentos de coloração utilizados.

As bandas G constituem o bandeamento “standard”. São produzidas por digestão com tripsina e posterior coloração com Giemsa. As bandas escuras alternam com bandas claras (Fig. XII.2). As bandas escuras parecem incluir poucos genes comparativamente com as bandas claras, ser ricas em nucleótidos A-T e replicar tardiamente na segunda metade da fase S do ciclo celular. As bandas claras contêm a maioria dos genes.

As bandas Q foram as primeiras bandas a serem observadas. São bandas detectadas por microscopia de fluorescência, após coloração com quinacrina. Correspondem às bandas G descritas previamente pelo que a intensidade de fluorescência corresponde à riqueza em AT.

As bandas C são produzidas pela coloração da heterocromatina constitutiva com Giemsa, após desnaturação com hidróxido de bário. Correspondem a DNA altamente repetitivo que replica mais tardiamente durante a fase S do ciclo. A heterocromatina constitutiva engloba as regiões de cromatina condensada pericentroméricas e as regiões de heterocromatina C dos cromossomas 1, 9, 16 e do braço longo do cromossoma Y, com heterocromatina constitutiva. Este tipo de heterocromatina encontra-se em regiões idênticas nos cromossomas homólogos, de uma forma permanente e em todas as células.

As bandas N ou NOR englobam regiões relacionadas com os organizadores nucleolares, ou sejam, as “hastes” dos cromossomas acrocêntricos (13, 14, 15, 21 e 22). Coram com nitrato de prata devido à natureza argenta-fim das proteínas presentes.

As bandas R são obtidas por desnaturação com o calor antes da coloração com Giemsa e são o inverso das bandas G ou Q: as bandas G (escuras) são claras e as bandas G (claras) são escuras. As bandas escuras ou fluorescentes são ricas em nucleótidos C-G.

As bandas T estão localizadas nos telómeros e representam um subgrupo das bandas R.

6. CITOGENÉTICA MOLECULAR

Actualmente, a citogenética inclui métodos derivados dos conhecimentos da biologia molecular. Por hibridação *in situ* com sondas específicas para determinadas sequências do genoma, é possível a localização de regiões dos

cromossomas ao nível do gene ou de moléculas de RNA até ao limite de 20 cópias de mRNA por célula. Assim, os métodos moleculares têm vindo a possibilitar ir além do estudo de cromossomas metafásicos e detectar anomalias cromossómicas em células interfásicas, particularmente quando está em causa a detecção de alterações numéricas dos cromossomas. Têm permitido ainda recorrer a cortes histológicos de tecidos fixados e incluídos em parafina, para detectar a presença de genes alterados, como os oncogenes.

6.1. FISH

Na hibridação *in situ*, recorre-se a sondas de DNA específicas para localizar determinada sequência do genoma. Para que ocorra hibridação é necessário que, previamente, se proceda à desnaturação do DNA celular, após preparação dos esfregaços nas lâminas. Quando a sonda é marcada com biotina, a presença ou ausência da sequência estudada é detectada recorrendo à afinidade desta molécula pela avidina previamente marcada com um fluorocromo. No caso da marcação ter sido feita com digoxigenina, recorre-se a um anticorpo específico, também marcado com uma molécula fluorescente.

A hibridação *in situ* pode ainda ser feita com sondas de DNA directamente marcadas com um fluorocromo (Fig. XII.4). Pode ser usada uma única sonda, ou serem usadas diversas sondas, cada uma marcada com um fluorocromo diferente, tomando esta última técnica a designação de FISH "multiplex".

O poder de resolução da FISH é limitado a cerca de 2 a 3 Mb, em cromossomas metafásicos. Contudo, em cromossomas interfásicos, a resolução é possível para valores acima de 50 kb. Se os cromossomas interfásicos forem tratados de forma a libertar as fibras cromossómicas das moléculas proteicas associadas, o limiar de resolução pode melhorar até valores da ordem de 5 kb. Este último procedimento é designado como "fiber FISH".

Com base na FISH, surgiu a coloração fluorescente de todos os cromossomas de uma placa metafásica, dando a cada cromossoma um espectro de cores diferente. Esta técnica, designada cariotipagem espectral, recorre a uma combinação de sondas de DNA específicas para os diversos cromossomas, marcadas com diferentes fluorocromos.

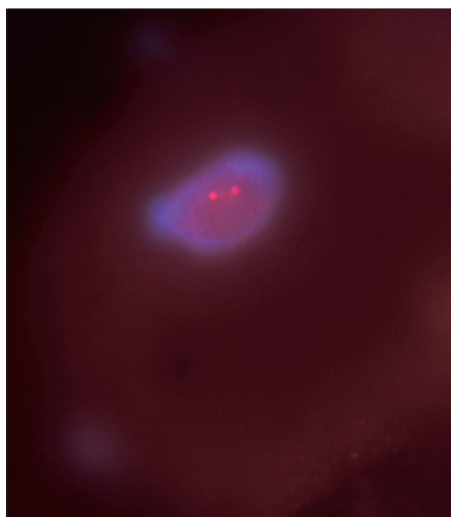


Fig. XII.4 – Imagem de FISH obtida com sondas centroméricas. Cada ponto luminoso corresponde a um dos cromossomas do par de homólogos identificados pela sonda específica.

As técnicas de FISH podem ser usadas para detectar, por exemplo, a deleção de um *locus* autossómico específico, em células interfásicas. Neste caso, em vez de dois pontos fluorescentes correspondentes aos dois alelos de um genótipo, haverá apenas um ponto. É também muito útil, para detecção rápida de alterações numéricas dos cromossomas em células interfásicas, recorrendo a sondas centroméricas (Tabela XII.1). Com “FISH multiplex” e cariotipagem espectral é possível detectar rearranjos cromossómicos complexos.

Tabela XII.1. Comparação entre os estudos por citogenética e por FISH

CITOGÉNÉTICA	FISH
Assenta em cultura celular	Pode recorrer a células interfásicas ou mesmo a núcleos de tecidos incluídos em parafina
Células em metafase	Sondas de DNA marcadas com um fluorocromo
Resultados ao fim de 12 a 15 dias, em média	Resultados ao fim de 2 a 3 dias, o que permite reduzir a ansiedade
Análise cromossómica completa, numérica e estrutural	Cromossomopatias numéricas, microdeleções, translocações específicas. Implica estudo citogenético quando há alterações

6.2. HIBRIDAÇÃO GENÓMICA COMPARATIVA

Na hibridação genómica comparativa, não é necessário que as células do doente estejam em divisão. A técnica assenta na hibridação competitiva de uma mistura equimolecular de dois tipos de DNA marcados com fluorocromos diferentes: o DNA do doente marcado, por exemplo, com um fluorocromo verde e um DNA sem anomalias marcado com outra molécula fluorescente (v.g., vermelho). A mistura é aplicada sobre uma lâmina com um esfregaço de cromossomas metafásicos normais, em condições de hibridação *in situ*. Os dois DNA marcados competem, durante a hibridação, em toda a extensão dos cromossomas metafásicos. Na ausência de anomalias no DNA do doente, as quantidades são iguais e a cor obtida é uma mistura de verde e vermelho, ou seja, os cromossomas coram todos de amarelo. Se o doente for portador de trissomia ou de trissomia parcial, a quantidade de DNA correspondente será maior do que no DNA controlo. Neste caso, o cromossoma ou a região cromossómica em causa apresentará uma coloração verde. Se no doente houver monossomia para todo um cromossoma ou uma parte de um cromossoma, haverá défice de DNA com cor verde para a hibridação competitiva e o cromossoma ou a região cromossómica em causa aparecerá com coloração vermelha.

A hibridação genómica comparativa permite detectar deleções ou duplicações de regiões cromossómicas específicas. Não detecta anomalias estruturais equilibradas como as translocações recíprocas, inversões ou inserções.

6.3. PCR *IN SITU*

254

Na PCR *in situ*, o procedimento é semelhante ao que ocorre para amplificar uma sequência de DNA em solução, com a diferença de que é realizado na superfície da lâmina. Para além dos "primers" específicos para a sequência de DNA ou RNA a localizar e dos reagentes próprios para PCR, um dos nucleótidos adicionados é marcado com biotina para posterior detecção do local onde se irão acumular os fragmentos de DNA, se houver amplificação.

Com a PCR *in situ* tem sido possível detectar, por exemplo, DNA viral ou proviral, rearranjos do DNA e translocações.

7. CARIÓTIPO DE TECIDOS TUMORAIS

A citogenética dos tumores sólidos apenas muito recentemente conheceu desenvolvimentos significativos e uma expansão e importância assinaláveis sobretudo a nível diagnóstico, uma vez ultrapassadas as dificuldades verificadas na cultura das células. Também recentemente, a introdução de metodologias moleculares, como a hibridação *in situ* e mesmo a PCR *in situ*, em combinação com a citogenética, vieram possibilitar novas oportunidades para aprofundar o conhecimento das alterações genéticas a nível da célula neoplásica.

Devido à fácil exequibilidade das técnicas citogenéticas conducentes à observação de alterações cromossómicas em neoplasias hematológicas, foi possível assinalar em diversos tipos destas neoplasias, correlações com interesse clínico entre as alterações citogenéticas e o diagnóstico ou o prognóstico. A translocação $t(9;22)(q34;q11)$ que origina o cromossoma Filadélfia (Ph+), presente em mais de 90% dos doentes com leucemia mielóide crónica, constituiu, em 1960, a primeira descrição de uma aberração cromossómica especificamente associada a uma neoplasia humana. É também exemplo das importantes alterações citogenéticas em neoplasias humanas do foro hematológico, a translocação equilibrada $t(15;17)(q22;q11-12)$ presente em mais de 90% dos doentes com leucemia mieloblástica aguda (M3).

As alterações citogenéticas associadas ao desenvolvimento de cancro distribuem-se de um modo preferencial por diferentes cromossomas, regiões e bandas, provavelmente em relação com a presença, nessas regiões, de genes envolvidos na regulação da proliferação celular. Estas alterações cromossómicas podem ser primárias ou secundárias. Podem ainda apresentar-se como “ruído” citogenético.

As alterações cromossómicas primárias ocorrem nas fases precoces do desenvolvimento do tumor, estão geralmente ligadas à sua génese, são habitualmente únicas e associam-se de uma forma específica a um determinado tipo de tumor como etapa essencial do seu desenvolvimento. Refira-se, no entanto, que a identificação citogenética de uma aberração primária não implica que tenha sido obrigatoriamente a primeira mutação envolvida na génese de uma neoplasia, uma vez que poderão ter ocorrido previamente alterações tumorigénicas a nível submicroscópico.

As alterações cromossômicas secundárias são observadas numa fase mais tardia do desenvolvimento do tumor, são frequentemente múltiplas e coexistem com as alterações primárias já presentes. Ainda que sem especificidade de tumor, as alterações secundárias não ocorrem ao acaso, podendo mesmo estar relacionadas com o comportamento biológico do tumor, em termos de capacidade invasiva, de metastização e de resposta à terapêutica. A sua ocorrência parece estar dependente das alterações primárias presentes e do tipo de tumor. Nas fases avançadas da evolução tumoral, podem dominar inteiramente o aspecto do cariótipo.

O “ruído” citogenético encontra-se sobretudo em tumores sólidos e caracteriza-se por uma extrema variabilidade dos aspectos citogenéticos, sem predominância de qualquer tipo de alteração.

8. ACRÓNIMOS E SÍMBOLOS USADOS EM CITOGENÉTICA

ace	– Fragmento acêntrico (sem centrómero)
add	– Material cromossômico adicional de origem desconhecida
b	– Quebra
cen	– Centrómero
chi	– Quimera
cs	– Cromossoma
ct	– Cromátide
ctb	– Quebra em cromátide
ctg	– Hiato (“gap”) em cromátide
del	– Deleção
der	– Cromossoma derivado
dic	– Cromossoma dicêntrico (com dois centrómeros)
dir	– Directo; sem alteração de orientação das bandas relativamente ao centrómero
dmin	– “Double minutes”, microcromossomas
dup	– Duplicação cromossômica
end	– Endoreduplicação
f	– Fragmento
fra	– Sítio cromossômico frágil

- g – Hiato (“gap”); regiões cromossômicas não coradas ou muito pouco coradas
- h – Regiões heteromórficas (1q, 9q e 16q)
- hsr – Região de coloração homogénea
- i – Isocromossoma
- ins – Inserção
- inv – Inversão da posição das bandas relativamente ao centrómero
- ish – hibridação *in situ*
- mar – Cromossoma marcador (de origem indeterminada)
- mat – Origem materna
- mos – Mosaico
- p – Braço curto de um cromossoma
- pat – Origem paterna
- Ph – Cromossoma Filadélfia
- pcc – Condensação cromossômica prematura
- pvz – Pulverização cromossômica
- q – Braço longo de um cromossoma
- qr – Quadrirradial
- r – Cromossoma em anel (“ring”)
- rea – Rearranjo
- rec – Cromossoma recombinante
- rob – Translocação robertsoniana
- s – Satélite
- sce – Troca entre cromátides-irmãs (“sister chromatid exchange”)
- t – Translocação
- tan – Translocação em “tandem”
- ter – Parte terminal de um cromossoma (telómero)
- pter – topo do braço curto
- qter – topo do braço longo
- tr – Trirradial
- upd – Dissomia uniparental
- v(var) – Cromossoma variante ou heteromórfico
- – Indica “de... até...”
- : – Indica um ponto de quebra na descrição pelo sistema detalhado
- :: – Indica um ponto de quebra e reunião pelo sistema detalhado
- ; – Separa cromossomas ou partes de cromossomas diferentes envolvidos em rearranjos estruturais

- / – Separa os diferentes cariótipos identificados em mosaicos ou em quimeras
- ? – Incerteza sobre a identidade do cromossoma ou da banda indicada a seguir
- [] – Nº de células em cada linha celular
- + – Quando colocado antes do número de um cromossoma ou da letra correspondente a um grupo de cromossomas autossómicos (1...22; ABCDEFG), indica que o cariótipo apresenta mais uma cópia completa desse cromossoma (Ex.: +21, significa que o cariótipo apresenta três cópias do cromossoma 21). Quando colocado após o número (ou letra) correspondente a um cromossoma, indica que esse cromossoma apresenta aumento de uma parte do seu material (v.g., 46,XX,16q+, indica que o braço longo do cromossoma 16 tem mais material genético que a cópia normal).
- – Quando colocado antes do número de um cromossoma ou da letra correspondente a um grupo de cromossomas, indica a ausência de um cromossoma (Ex.: 45,XX,-11, indica um cariótipo 45,XX, com um cromossoma 11 a menos). Quando colocado após o número ou letra correspondente ao cromossoma, indica perda de parte desse cromossoma (v.g., 46,XY,5p-, indica perda de parte do braço curto do cromossoma 5).
- * – Asterisco. É usado como um sinal de multiplicação na descrição de cromossomas variantes ou heteromórficos.
- , – Vírgula. Separa o número de cromossomas de um cariótipo da representação dos heterocromossomas (46,XX ou 46,XY). Separa também os heterocromossomas da representação de anomalias do cariótipo, devido a alterações do número ou da estrutura (v.g., 47,XY,+21 ou 47,XX,+mar)

9. EXEMPLOS DE CARIÓTIPOS

46,XX – 46 cromossomas, cariótipo normal do sexo feminino.

46,XY – 46 cromossomas, cariótipo normal do sexo masculino.

46,XY,9qh+ – indivíduo normal do sexo masculino, com material cromossômico adicional na região heterocromática do braço longo do cromossoma 9. Quando há deleção de material cromossômico numa região heterocromática, esta será indicada como h- (v.g., 46,XY,Yqh-).

47,XXX – 47 cromossomas, trissomia para o cromossoma X.

47,XXY – 47 cromossomas, trissomia provocada pela existência de um cromossoma X supranumerário (síndrome de Klinefelter).

45,X – 45 cromossomas, monossomia provocada pela ausência de um cromossoma X (síndrome de Turner).

45,X/46,XX – Mosaico constituído por células monossômicas para o cromossoma X e células normais com dois cromossomas X.

45,XY,-21 – 45 cromossomas, devido a ausência de um cromossoma 21.

47,XY,+21 – 47 cromossomas, trissomia autossômica provocada por um cromossoma 21 supranumerário (síndrome de Down, devido a trissomia livre).

46,XY,+mar – cariótipo com 46 cromossomas, apresentando um cromossoma extra não identificado.

69,XXY – Triploidia

92,XXXX – Tetraploidia

Cromossoma em anel:

46,XY,r(13)(p11q34) ou 46,XY,r(13)(:p11→q34:) – Cariótipo com 46 cromossomas, sendo o cromossoma 13 em anel, resultante da união dos pontos de quebra do braço curto (região 1, banda 1) e do braço longo (região 3, banda 4); os fragmentos distais, relativamente aos pontos de quebra, são perdidos.

Deleção intersticial:

46,XX,del(3)(p12p14) ou 46,XX,del(3)(pter→p14::p12→qter) – Deleção intersticial, com pontos de quebra no braço curto do cromossoma 3, a nível da região 1, banda 2 e da região 1, banda 4, com perda do material cromossômico localizado entre os dois pontos de quebra e reunião dos topos. É encontrada frequentemente como a única alteração presente em carcinomas da mama.

Deleção terminal:

46,XY,del(9)(p13) ou 46,XY,del(9)(qter→p13:) – Cariótipo com 46 cromossomas, em que um cromossoma 9 sofreu uma quebra a nível da região 1, banda 3, do braço curto, com perda do material cromossómico entre p13→pter. É uma das alterações estruturais observadas nos melanomas malignos.

Dicêntrico:

45,XY,dic(9;12)(p11;p11) ou 45,XY,dic(9;12)(9qter→9p11::12p11→12qter) – Cariótipo com 45 cromossomas, resultante da fusão do cromossoma 9 com o 12, após quebra a nível dos braços curtos de cada cromossoma, perda dos fragmentos oriundos dos braços curtos e fusão pelos pontos de quebra, com manutenção dos dois centrómeros (dicêntrico). Presente em casos de leucemia linfoblástica aguda com melhor prognóstico quando comparados com outras alterações citogenéticas.

Duplicação:

46,XY,dup(2)(p12p22) ou dup(2)(pter→p12::p22→qter) – Cariótipo, em que o segmento compreendido entre 2p12 e 2p22 foi duplicado. Se o fragmento duplicado mantém a mesma orientação das bandas, relativamente ao centrómero, pode-se escrever: 46,XY,dir dup(2)(p12p22). Se o fragmento inverte a posição das bandas relativamente ao centrómero, escreve-se: 46,XY,inv dup(2)(p22p12).

Inserção no mesmo cromossoma:

46,XX,ins(1)(q22p13p32) – Traduz a inserção de um fragmento do cromossoma 1, no mesmo cromossoma. Ocorreram três pontos de quebra: o fragmento localizado entre os pontos de quebra 1p13 e 1p32 foi inserido na banda 1q22, mantendo a orientação das bandas relativamente ao centrómero.

260

Inserção noutra cromossoma:

46,XY,ins(2;1)(p21;q21q31)⁽¹⁾ – Traduz a inserção directa do fragmento cromossómico delimitado pelas bandas 1q21 e 1q31, na banda p21 do

⁽¹⁾ Na inserção, indica-se em primeiro lugar o cromossoma que recebe e em último o que dá, independentemente do seu número, ao contrário da notação usada para outros rearranjos em que se indica em primeiro lugar o cromossoma com o número mais baixo. Os cromossomas sexuais são também indicados em primeiro lugar.

cromossoma 2. Se o fragmento 1q21→1q31 for inserido com inversão da posição das bandas em relação ao centrómero, a descrição do cariótipo será: 46,XY,inv ins(2;1)(p21;q31q21).

Inversão paracêntrica:

46,XY,inv(10)(q11q21) ou inv(10)(pter→q11::q21→q11::q21→qter)
– Inversão paracêntrica no cromossoma 10, com pontos de quebra em 10q11 e 10q21. É a alteração citogenética mais característica do carcinoma papilar da tireóide.

Inversão pericêntrica:

46,XY,inv(16)(p13q22) ou 46,XY,inv(16)(pter→p13::q22→p13::q22→qter)
– Inversão pericêntrica localizada no cromossoma 10. O fragmento localizado entre os pontos de quebra 16p13 e 16q22 (inclui o centrómero) rodou 180°. Esta inversão é específica da leucemia mieloblástica aguda M4, com eosinofilia.

Isocromossoma:

46,X,i(X)(q10) ou 46,X,i(X)(qter→q10::q10→qter) – Um dos cromossomas X é constituído por dois braços longos, estando ausentes os braços curtos.

46,XY,i(12)(p10) ou 46,XY,i(12)(pter→p10::p10→pter) – isocromossoma do braço curto do cromossoma 12 (presente em 80% dos tumores de células germinais do testículo).

Sítio frágil:

46,XY,fra(X)(q27) – indivíduo do sexo masculino com um sítio frágil na banda q27 (presente na síndrome do X-frágil).

Translocação recíproca:

46,XY,t(9;22)(q34;q11) ou 46,XY,t(9;22)(9pter→9q34::22q11→22qter; 22pter→22q11::9q34→9qter) – Cariótipo com 46 cromossomas, resultante de translocação recíproca de fragmentos entre o cromossoma 9 (quebra na região q3, banda 4; o fragmento translocado vai desde o ponto de quebra até qter) e o cromossoma 22 (quebra na região q1, banda 1; o fragmento translocado vai desde o ponto de quebra até qter). Alteração citogenética observada em cerca de 85% dos doentes na fase crónica da leucemia mielóide crónica.

Translocação robertsoniana:

45,XY,der(14;21)(q10;q10) ou 45,XY,der(14;21)(14qter→14q10::21q10→21qter) – Cariótipo com 45 cromossomas, resultante de translocação por fusão cêntrica ou robertsoniana; os braços curtos são perdidos e os braços longos dos cromossomas 14 e 21 fundem-se pelo centrómero. Cariótipo com translocação equilibrada. Em descendentes pode originar síndrome de Down.

CAPÍTULO XIII

ALTERAÇÕES CROMOSSÓMICAS NUMÉRICAS E ESTRUTURAIS

1. INTRODUÇÃO

As alterações cromossómicas podem ser de natureza numérica ou estrutural. Ao considerar estas alterações, deve ser tido em conta o efeito de dosagem génica. Nas alterações numéricas, as consequências são diversas em função do tamanho do cromossoma envolvido, do facto de ser um autossoma ou um heterocromossoma e de ser um aumento ou uma diminuição do número. Nas alterações estruturais, a extensão em causa e a região alterada influenciam também os efeitos fenotípicos.

No que respeita à dosagem génica, saliente-se a natureza quantitativa deste factor na etiologia das anomalias, já que não há alteração génica estrutural e produção de proteínas qualitativamente diferentes. Assim, numa trissomia, há aumento da concentração do produto codificado pelos genes, comparativamente com a concentração do produto na condição euplóide e, nestas condições, o excesso de alguns desses produtos proteicos tem consequências patológicas.

O efeito de dosagem génica pode-se manifestar de diversas formas, como sejam:

- anomalias do desenvolvimento embrionário, como foi demonstrado para a expressão aumentada ou ectópica do gene *hox* em ratinhos, levando a anomalias esqueléticas e de outros órgãos;
- anomalias a nível da adesão celular, com potenciais reflexos no desenvolvimento de anomalias da morfogénese (v.g., um aumento de

- 50% da concentração das moléculas de adesão das células neuronais (N-CAM) traduz-se num aumento de quatro vezes da adesão celular);
- perturbação da função de moléculas multiméricas, como acontece com as alterações quantitativas que desequilibram a igual proporção das subunidades α e β da hemoglobina e conduzem à ocorrência de talassémias (v.g., talassémia α minor por deleção de dois dos quatro genes da globina α);
 - desregulação da proliferação celular por aumento do número de receptores e/ou de ligandos (v.g., a presença de uma cópia supra-numerária do gene da eritropoietina em ratinhos transgênicos induz o desenvolvimento de policitémia);
 - desregulação da proliferação celular por aumento do número de cópias de moléculas que funcionam como factores de transcrição, como acontece no linfoma de Burkitt em associação com amplificação do gene *MYC*.

2. ALTERAÇÕES NUMÉRICAS

A presença de um complemento cromossómico normal designa-se euploidia e corresponde a 46 cromossomas na espécie humana, ou seja, um número diplóide de cromossomas ($2n$).

Podem ocorrer situações de diploidia em que o complemento de 46 cromossomas tem origem exclusivamente no progenitor do sexo masculino, uma condição designada por diandria, ou no progenitor do sexo feminino, sendo esta condição designada como diginia.

Os casos de diandria (com homozigotia para todos os *loci*) resultam de degenerescência do pró-núcleo feminino e diploidização do pró-núcleo masculino. Em 96% dos casos, têm um cariótipo 46,XX, já que um embrião 46,YY morre nas primeiras fases. A dispermia também pode justificar um complemento cromossómico exclusivamente paterno em ovócito com perda dos cromossomas maternos.

Quando duas ou mais linhas celulares provenientes de um único zigoto estão presentes num indivíduo, a condição designa-se mosaico. O genótipo pode ser o mesmo, embora epigeneticamente modificado, como acontece

no sexo feminino com os dois cromossomas X, após a lionização. Contudo, o genótipo ou o cariótipo pode ser diferente, como resultado de mutação ou não-disjunção cromossômica.

De ocorrência muito rara, as quimeras correspondem a casos em que num indivíduo se encontram células provenientes de dois zigotos diferentes. Pode mesmo acontecer que uma linha celular seja 46,XY e a outra 46,XX, o que conduz a uma diferenciação sexual anormal.

Na dissomia uniparental, um dos pares de cromossomas homólogos de um complemento diplóide tem origem num mesmo progenitor.

2.1. POLIPLOIDIA

A alteração numérica em que o número de cromossomas é múltiplo de n , mas diferente de $2n$, designa-se poliploidia (v.g., $3n$ – triploidia, $4n$ – tetraploidia). Os zigotos poliplóides dão origem a situações de anasarca com placentas volumosas e são letais precocemente, na fase embrionária ou fetal. Excepcionalmente, o feto pode desenvolver-se até ao período peri-natal, ocorrendo a morte após alguns dias de sobrevivência. Estes recém-nascidos apresentam anomalias na generalidade dos órgãos. A maioria das triploidias ocorre devido à fecundação de um ovócito por dois espermatozóides haplóides e são responsáveis por cerca de um sexto de todos os abortos espontâneos. Outras causas residem na fecundação de um ovócito diplóide por ausência de redução meiótica, na não eliminação de um globo polar, ou na fecundação por espermatozóide diplóide.

2.2. ANEUPLOIDIA

Se o número de cromossomas difere de $2n$ por um ou mais cromossomas, sem ser múltiplo de n , a condição designa-se aneuploidia: monossomia quando há falta de um cromossoma, trissomia ou tetrassomia quando há, respectivamente, um ou dois cromossomas adicionais. Quando a diminuição ou aumento de material cromossómico diz apenas respeito a uma parte de um cromossoma designa-se, respectivamente, monossomia ou trissomia parcial. Cerca de 50% dos abortos espontâneos são causados por aneuploidias.

A aneuploidia pode resultar de não-disjunção meiótica ou mitótica, ou de anomalias da mitose, como o atraso de migração de um cromossoma para o pólo do fuso (“lagging”). No sexo masculino (Fig. XIII.1), quando ocorre a não-disjunção na primeira divisão da meiose, num espermatócito tipo I, origina dois espermatozóides com duas cópias de um cromossoma e dois espermatozóides em que há um cromossoma a menos; quando ocorre na segunda divisão da meiose, num espermatócito tipo II, origina um espermatozóide com duas cópias de um cromossoma, um espermatozóide com um cromossoma a menos e dois espermatozóides com o número normal de cromossomas.

As monossomias completas originam alterações de tal gravidade nos embriões que param o seu desenvolvimento. Embora haja referência a casos excepcionais de sobrevivência de indivíduos com monossomia 21, a monossomia 45,X é a “única” compatível com a vida, sendo responsável pela síndrome de Turner. As observações comparativas entre as consequências de uma perda de material cromossómico e do ganho de material cromossómico indicam que as perdas têm consequências mais graves do que os ganhos (comparem-se as consequências fenotípicas de uma trissomia com uma monossomia).

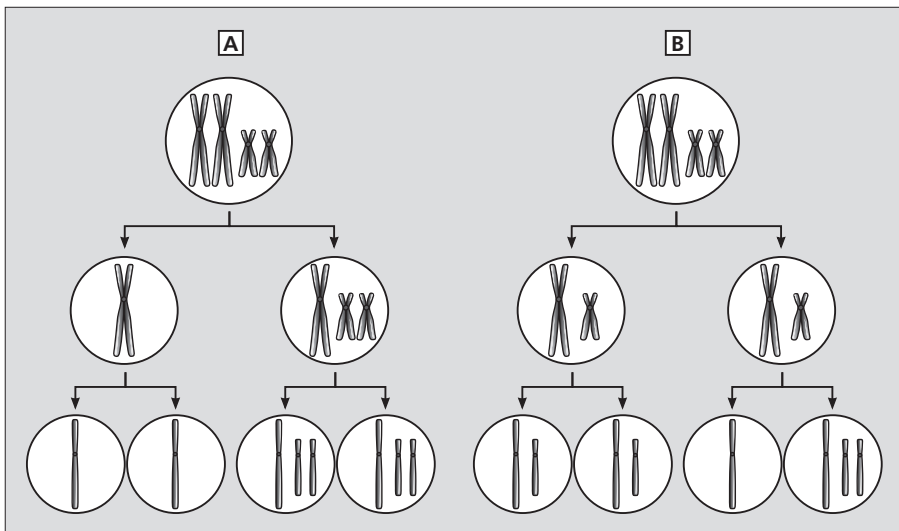


Fig. XIII.1 – Esquema ilustrativo da não-disjunção durante a meiose no sexo masculino. A – não-disjunção durante a primeira divisão; B – não-disjunção durante a segunda divisão.

A trissomia autossómica mais frequente nos recém-nascidos é a trissomia 21 ($47,XX,+21$, ou $47,XY,+21$), responsável pela síndrome de Down (Fig. XIII.2), seguida da trissomia 18 (síndrome de Edwards) e da trissomia 13 (síndrome de Patau). A gravidade das trissomias autossómicas está em relação directa com o tamanho dos cromossomas envolvidos.

As aneuploidias dos heterocromossomas são menos severas do que as aneuploidias autossómicas. Podem, teoricamente, ocorrer como $45,Y$, $45,X$, $47,XXX$, $47,XXY$, $47,XYY$. A trissomia $47,XXY$ pode ter origem em não-disjunção ocorrida na primeira ou na segunda divisão da ovogénese ou na primeira divisão da espermatogénese. A trissomia $47,XYY$ resulta de não-disjunção ocorrida na segunda divisão da meiose paterna. A monossomia $45,Y$ não é compatível com a vida, devido à ausência dos genes presentes no cromossoma X. A monossomia $45,X$ é compatível com a vida, uma vez que, funcionalmente, faltam apenas os genes correspondentes aos que não são inactivados num dos cromossomas X de um cariótipo normal $46,XX$. A menor severidade das trissomias heterocromossómicas, seja na trissomia $47,XXY$ (síndrome de Klinefelter), seja na trissomia $47,XXX$, deve-se à lionização, ao reduzir as consequências que resultariam do efeito de dosagem génica provocado pelo excesso de informação devido ao aumento do número de cromossomas X. Podem ainda encontrar-se polissomias do cromossoma X ($48,XXX$; $48,XXXX$; $49,XXXXY$), condições em que ocorre igualmente lionização dos cromossomas X supranumerários. Na síndrome $47,XYY$, a reduzida dimensão do cromossoma Y e o reduzido número de genes que comporta limitam os efeitos de dosagem génica.

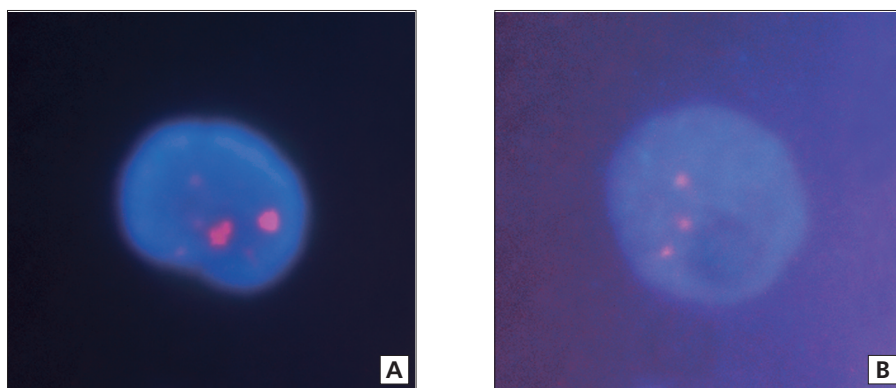


Fig. XIII.2 – Detecção de trissomia 21 por FISH. Em A, numa célula euplóide, a sonda centromérica apenas detecta dois cromossomas 21, enquanto que em B, se encontram três pontos fluorescentes correspondentes a trissomia para o cromossoma 21.

A não-disjunção mitótica origina um mosaico. Os efeitos de um mosaico são diversos, consoante a não-disjunção ocorra numa fase precoce do desenvolvimento embrionário, numa fase mais tardia ou mesmo num organismo adulto. Se a não-disjunção ocorre na primeira divisão do ovo, uma das células-filhas do embrião de duas células terá $2n+1$ cromossomas e a outra terá $2n-1$ cromossomas, o que poderá originar um embrião com todas as células aneuplóides se a aneuploidia for compatível com a proliferação celular, facto que depende dos cromossomas envolvidos. Se a não-disjunção ocorre numa das células de um embrião de duas células, enquanto a célula que se divide normalmente origina duas células filhas euplóides, a outra célula originará uma célula-filha trissómica e uma célula-filha monossómica. O embrião resultante será um mosaico constituído por células euplóides e células aneuplóides. Se a não-disjunção ocorrer numa fase mais avançada do desenvolvimento embrionário, a percentagem de células trissómicas no embrião e no indivíduo adulto pode ser de tal modo reduzida que não afecte negativamente o fenótipo.

Um mosaico com células euplóides e células aneuplóides ($2n/2n-1$) pode também constituir-se quando ocorre atraso na migração de um cromossoma após separação das cromátides filhas e não é envolvido no núcleo quando é reconstruída a membrana nuclear. A perda de um cromossoma supra-numerário no embrião resultante de um ovo trissómico, dando uma linha celular euplóide a par de células triplóides, constitui outra das formas de se originar mosaicismo. Na maioria das vezes, o mosaicismo associado a síndrome de Down, obedece a este último mecanismo.

3. ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS

268

As alterações estruturais (deleções, cromossoma em anel, duplicações, isocromossoma, inversões, translocações, inserções) resultam de uma quebra ou quebras num cromossoma e subsequente rearranjo diferente. A identificação das alterações estruturais beneficiou com o recurso a estudos citogenéticos com bandeamento, em particular com o bandeamento de alta resolução.

Os rearranjos cromossómicos podem ser equilibrados e não-equilibrados. No primeiro caso, não há perda ou ganho de material cromossómico em

quantidade ou qualidade que se reflecta em consequências patológicas, enquanto que nos casos não-equilibrados há uma quantidade de material cromossómico anormal a que se associa, habitualmente, um fenótipo anormal. Os portadores de rearranjos equilibrados presentes nas células germinais podem ter descendentes com manifestações patológicas devido a dosagem génica anormal, por defeito ou por excesso, originada por formação de gâmetas com complemento cromossómico desequilibrado.

Para que ocorra uma alteração estrutural de um cromossoma é necessário que haja pelo menos uma quebra cromossómica. As quebras dos cromossomas podem ocorrer espontaneamente ou serem provocadas por agentes químicos ou físicos como a radiação ionizante. Quando a quebra antecede a fase S do ciclo e não ocorre reparação da alteração decorrente da quebra, a alteração é replicada passando a estar presente nas duas cromátides. Se a quebra se verifica após a fase S, apenas uma cromátide apresenta as consequências da quebra.

Normalmente, as quebras cromossómicas são reparadas por enzimas que restabelecem a continuidade do DNA. Contudo, quando a quantidade de quebras é muito grande por exposição anómala a agressores do genoma como as radiações ou as substâncias radiomiméticas, ou quando o indivíduo tem deficiente capacidade de reparação do DNA, pode não ocorrer o “*restitutio ad integrum*” da sequência cromossómica. Nestas condições, podem perder-se fragmentos cromossómicos (deleção) ou haver lugar a um rearranjo intra- ou intercromossómico.

As quebras cromossómicas podem ocorrer a nível do centrómero ou dos braços do cromossoma. A quebra transversal do centrómero separa os dois braços curtos e os dois braços longos das cromátides, originando um isocromossoma dos braços curtos e um isocromossoma dos braços longos. As quebras não centroméricas, a nível dos braços, podem ser únicas ou múltiplas. No caso de uma quebra única, a partir de um cromossoma vai-se originar um fragmento acêntrico e um fragmento com centrómero. Na mitose, o fragmento acêntrico não se liga ao fuso e durante a anafase não migra para os pólos da célula acabando por se perder. O fragmento com centrómero migra inserido no fuso. Se há duas quebras num cromossoma, estas podem ocorrer no mesmo braço ou uma em cada braço englobando o centrómero entre elas. As deleções intersticiais, as inversões pericentroméricas e as inserções intercalares são exemplos de alterações estruturais que resultam de quebras duplas.

Os retrotransposões são elementos móveis com capacidade para produzir DNA a partir de sequências de RNA por meio da transcriptase inversa e para inserir as sequências ao acaso num cromossoma. Desta forma, podem causar “crossing-over” assimétrico e, conseqüentemente, deleções e duplicações passíveis de afectar a função dos genes. Estas alterações podem também ocorrer por inserção de sequências repetitivas num gene, o que pode originar emparelhamento meiótico assimétrico e “crossing-over” assimétrico.

De uma forma sistematizada, as alterações estruturais dos cromossomas podem ser intracromossómicas e intercromossómicas. As alterações intracromossómicas incluem as deleções terminais e as deleções intersticiais, o cromossoma em anel, o isocromossoma, as inversões paracêntricas e pericêntricas. Nas alterações intercromossómicas incluem-se as inserções, as translocações recíprocas e as translocações robertsonianas.

Numa população, a frequência de anomalias clínicas devidas a alterações estruturais dos cromossomas é menor do que a frequência de anomalias devidas a alterações numéricas. No entanto, em termos de recorrência numa família, a presença de uma alteração estrutural num indivíduo normal heterozigótico (v.g., para uma translocação ou inversão) é muito mais grave devido à elevada frequência com que ocorre segregação aberrante de cromossomas, o que se traduz em risco de recorrência de anomalias fenotípicas clinicamente relevantes em vários indivíduos da família, por duplicação ou perda de material cromossómico.

3.1. DELEÇÕES

Uma deleção consiste na perda de um fragmento acêntrico de um cromossoma dando origem a uma condição de monossomia parcial. O estudo das deleções foi muito útil para a localização de genes.

Se a extensão da deleção for menor do que 4×10^6 bp, não será detectada por microscopia de luz. As pequenas deleções cromossómicas visíveis por microscopia de luz associada a métodos de bandeamento, ou por estudos moleculares como o FISH, são designadas como microdeleções.

As deleções podem ser terminais, como consequência de uma quebra do cromossoma, ou intersticiais, quando ocorrem duas quebras num cromossoma e se perde o fragmento cromossómico localizado entre as quebras (Fig. XIII.3). Se houver “crossing-over” assimétrico, pode ocorrer deleção num cromossoma e duplicação no outro.

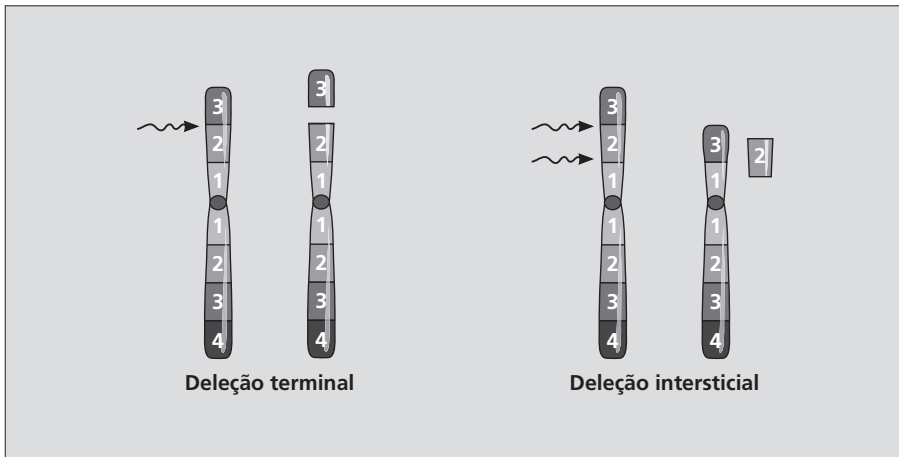


Fig. XIII.3 – Esquema ilustrativo das deleções terminal e intersticial.

A deleção terminal de parte do braço curto do cromossoma 5 (46,XY, del(5p)) associada à síndrome do “grito do gato” foi a primeira anomalia estrutural não equilibrada a ser descrita. Nesta síndrome, com uma frequência de 1/50.000 recém-nascidos, para além do som característico que lembra o miar de um gato, produzido sobretudo nos dois primeiros anos de vida, encontra-se atraso mental severo e do desenvolvimento, microcefalia, alterações faciais (face redonda) e doenças cardíacas congénitas nas crianças afectadas. A sobrevivência até à idade adulta é rara.

Outros exemplos de síndromas provocadas por deleções intersticiais consistem nas síndromas de Angelman e de Prader-Willi (microdeleção 15q11-q13 detectada em cerca de 50% dos doentes por citogenética e em mais cerca de 20% por estudos moleculares).

A síndrome de Prader-Willi caracteriza-se, no período neonatal, por hipotonia muscular severa, dificuldade de mamar e hipogonadismo. A partir do segundo ano de vida observa-se hiperfagia e obesidade. Os doentes têm ainda atraso mental suave a moderado, perturbações do comportamento, olhos em amêndoa, frontal proeminente, estreitamento do diâmetro bitemporal e mãos e pés pequenos.

Na síndrome de Angelman observa-se atraso mental e motor severos, hipotonia, movimentos aos “arrancões” (“jerky movements”), riso paroxístico desadequado, microcefalia, mandíbula larga e boca aberta.

Na síndrome de Prader-Willi, a deleção ocorre no cromossoma herdado do pai, enquanto que na síndrome de Angelman a deleção é exclusivamente encontrada no cromossoma de origem materna. Quando na síndrome de Prader-Willi não está presente a deleção, verifica-se dissomia uniparental materna. A associação entre dissomia e a existência da síndrome indica a presença de "imprinting" em genes localizadas na região 15q11-q13. A inativação destes genes (por deleção ou "imprinting") será a responsável pelas alterações observadas nesta síndrome.

Quando ocorre uma quebra cromossômica em cada um dos braços de um cromossoma que envolve a perda dos telómeros, pode ocorrer a fusão dos topos "adesivos" e originar-se um cromossoma em anel (v.g., 46,X,r(X)) (Fig. XIII.4). A perda de um cromossoma em anel é frequente, originando monossomia de algumas células e conseqüente mosaïcismo. Na síndrome do "olho de gato" encontra-se um cromossoma 22 em anel excedentário (47,XY,r(22)), o que causa apêndices e/ou depressões pré-auriculares como alteração mais frequente, pupilas verticais, atraso mental ligeiro a moderado, anomalias cardíacas e do tracto urinário e ânus imperfurado.

O risco de recorrência de uma deleção é negligenciável, a não ser que esteja presente um rearranjo cromossômico num dos progenitores. Por esta razão, na presença de um descendente com esta alteração estrutural, deve ser realizado um cariótipo aos pais para se realizar o aconselhamento genético.

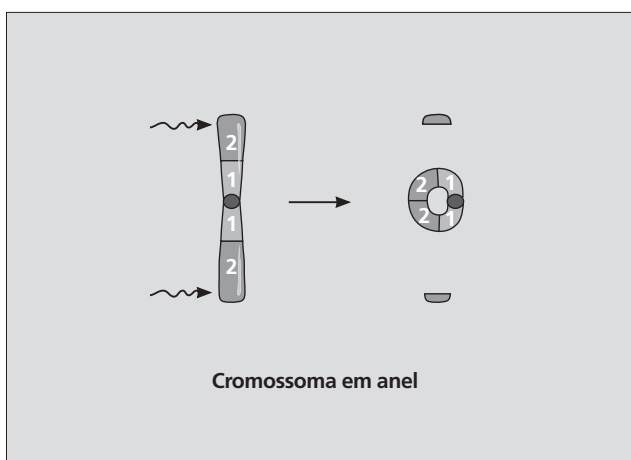


Fig. XIII.4 – Esquema ilustrativo da formação do cromossoma em anel.

3.2. DUPLICAÇÕES

Uma duplicação consiste na existência de duas cópias de um segmento de um cromossoma (Fig. XIII.5). Se a estas duas cópias se adicionar a cópia do outro cromossoma homólogo verifica-se que uma duplicação origina uma trissomia parcial.

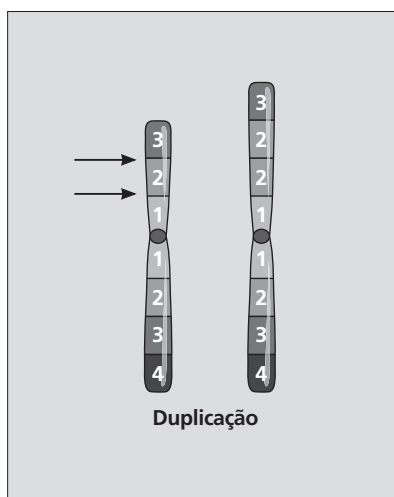


Fig. XIII.5 – Esquema ilustrativo da duplicação de uma região cromossômica.

O efeito fenotípico de uma duplicação depende da extensão de material cromossômico envolvido, no que se refere ao número de genes e ao número de cópias. As duplicações parciais têm consequências menos graves do que as deleções parciais.

As duplicações cromossômicas podem ocorrer na descendência de um indivíduo com uma translocação recíproca. Pela segregação meiótica, um gameta pode herdar duas regiões cromossômicas homólogas, uma no cromossoma adequado e na posição original e a região homóloga supranumerária sujeita a translocação e veiculada pelo cromossoma "hospedeiro". O "crossing-over" assimétrico durante a meiose também pode originar duplicação.

O risco de recorrência é baixo a não ser que esteja presente um rearranjo (inversão ou translocação) num dos progenitores.

3.3. ISOCROMOSSOMA

No isocromossoma, o material dos dois braços tem uma constituição igual, como uma imagem em espelho a partir do centrômero (Fig. XIII.6). O outro braço perde-se.

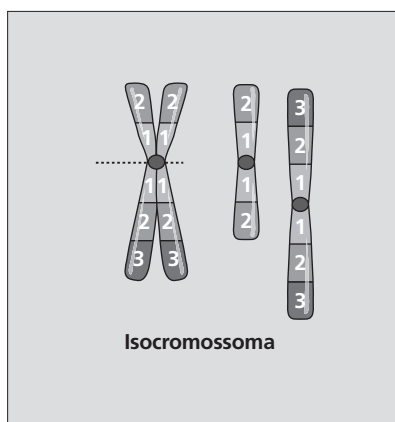


Fig. XIII.6 – Esquema ilustrativo da formação de isocromossomas.

Um dos mecanismos que está na origem dos isocromossomas consiste na divisão transversal do centrômero na mitose ou na meiose, separando as duas cópias dos braços curtos para um lado e as duas cópias dos braços longos para outro. A translocação robertsoniana entre os braços longos de cromossomas acrocêntricos homólogos (v.g., translocação entre os dois cromossomas 21) também origina imagens de isocromossoma.

O isocromossoma dos autossomas não acrocêntricos é letal devido à extensa deleção de material que origina (todo o material de um dos braços). No entanto, o isocromossoma dos braços longos dos cromossomas acrocêntricos não provoca alterações fenotípicas visíveis, na condição equilibrada (v.g., 45,XY,i(21q)). O isocromossoma X é compatível com a vida. O mais frequente é o isocromossoma do braço longo do cromossoma X associado a síndrome de Turner (45,X,i(Xq)).

O risco de trissomia para os descendentes de um progenitor com isocromossoma dos braços longos de um autossoma acrocêntrico é de 100%. Todos os gametas produzidos serão nulissômicos (o que conduz a monomia autossômica que é letal) ou dissômicos (o que conduz a trissomia).

3.4. INVERSÕES

As inversões cromossômicas são relativamente frequentes, calculando-se a sua frequência em cerca de uma por cada 1.000 indivíduos. Podem ser encontradas como neo-mutações ou serem herdadas ao longo de diversas gerações de uma família.

Nas inversões, não há perda nem ganho de material cromossômico. Ocorrem, quando se produzem duas quebras num cromossoma seguidas de rotação de 180° do fragmento cromossômico delimitado pelas quebras. Consequentemente, altera-se a ordem dos genes no cromossoma (ou das bandas, quando citogeneticamente detectáveis).

As inversões podem ser paracêntricas ou pericêntricas, sendo as pericêntricas as mais frequentes. Nas inversões paracêntricas (Fig. XIII.7), as duas quebras ocorrem num mesmo braço do cromossoma. Desta forma, o rearranjo cromossômico não implica alteração da posição do centrômero, nem da morfologia do cromossoma, embora se altere a sequência de bandas no segmento invertido. Nas inversões pericêntricas (Fig. XIII.7), há uma quebra em cada braço de um cromossoma, ficando o centrômero incluído no fragmento sujeito a inversão. Assim, é habitual observar-se uma alteração morfológica bem aparente, inclusive da posição do centrômero.

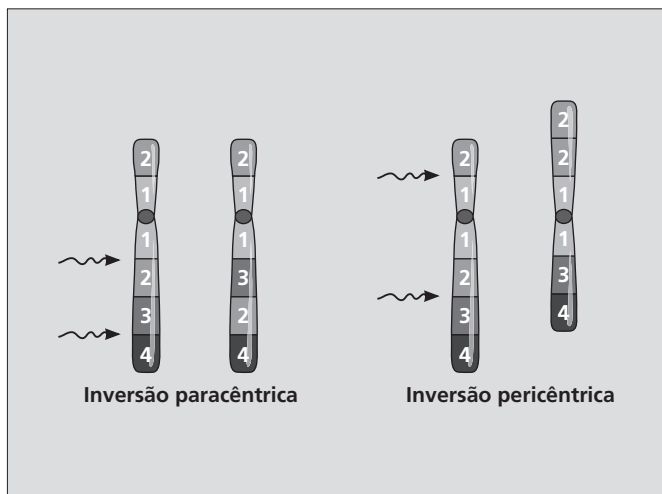


Fig. XIII.7 – Esquema ilustrativo das inversões paracêntrica e pericêntrica.

Embora as inversões não estejam associadas a alterações patológicas significativas para os seus portadores, o risco de alterações cromossômicas na descendência é elevado, por produção de gâmetas com desequilíbrio cromossômico. Uma vez que o emparelhamento de homólogos durante a profase I da meiose implica alinhamento perfeito entre segmentos homólogos, é necessário que ocorra “looping” da região cromossômica com a inversão. Assim, nas inversões paracêntricas, se ocorrer “crossing-over” podem ser produzidos cromossomas com recombinações instáveis sob a forma de dicêntricos com duplicações e deleções ou acêntricos curtos que se perdem em divisões celulares subsequentes. Na descendência, habitualmente só se encontram os cromossomas normais ou com inversão equilibrada, dando origem a crianças normais, dada a instabilidade das formas cromossômicas anormais.

Nos casos de inversões pericêntricas, forma-se igualmente “looping”, mas o “crossing-over” leva à produção de cromossomas com duplicações e deleções nas regiões cromossômicas distais em relação aos dois pontos de quebra. Os efeitos fenotípicos na descendência dependem do tamanho das duplicações e das deleções e do cromossoma envolvido. Naturalmente que, quanto mais próximos dos telómeros forem os pontos de quebra, maior a probabilidade de sobrevivência do feto, dada a menor extensão das alterações cromossômicas.

Nos casais em que um dos membros tem uma inversão pericêntrica podem ocorrer abortos espontâneos devido a duplicações e deleções extensas ou ainda o nascimento de crianças com alterações fenotípicas associadas a pequenas deleções e duplicações. A inversão pericêntrica do cromossoma 1 tem sido encontrada em casos de perturbação severa da espermatogênese. Como excepção, refira-se que a inversão pericêntrica do cromossoma 9, inv 9(p11q12), não origina alterações fenotípicas na descendência.

3.5. TRANSLOCAÇÕES

As translocações fazem parte das alterações cromossômicas mais frequentes na espécie humana. Consistem na troca ou recombinação de partes de cromossomas não homólogos. Habitualmente, não há perda de material cromossômico ou a perda é de modo que não afecta o fenótipo do

indivíduo portador de uma forma equilibrada de translocação. Podem-se identificar três tipos de translocação: recíproca, robertsoniana e insercional.

Nas translocações recíprocas verifica-se o intercâmbio de dois fragmentos cromossômicos localizados em posição distal em relação a quebra ocorrida nos braços de dois cromossomas não homólogos (Fig. XIII.8). Qualquer cromossoma pode estar envolvido bem como qualquer dos braços. No indivíduo em que ocorre, estabelece-se um rearranjo equilibrado. Embora a morfologia dos cromossomas derivados seja diferente da dos cromossomas iniciais, geralmente não há efeitos fenotípicos desde que a quebra não afecte a estrutura de nenhum gene. No entanto, a segregação meiótica pode originar gâmetas com conteúdo cromossômico não-equilibrado responsável por alterações fenotípicas em descendentes. Durante o emparelhamento meiótico formam-se geralmente quadrivalentes com segregação cromossômica anormal durante a meiose. Por isso, registam-se infertilidade e abortos repetidos nos indivíduos portadores de translocação e os descendentes podem ser afectados por trissomia parcial ou monossomia parcial a que se associa habitualmente um fenótipo com malformações congénitas múltiplas.

Para as translocações recíprocas compatíveis com nascituros viáveis, o risco de recorrência de portadores raramente é superior a 20% a 30%, sendo habitualmente menor. Quando as alterações são extensas, o risco de recorrência é mais baixo devido à morte do embrião ou do feto e ao aborto subsequente.

A translocação robertsoniana tem uma frequência de cerca de um em cada 500 indivíduos. Ocorre entre cromossomas acrocêntricos (13, 14 e 15, 21 e 22), seja entre os diversos cromossomas ou entre homólogos.

Na translocação robertsoniana, a quebra ocorre no centrómero ou próxima deste nas sequências repetitivas do braço curto (Fig. XIII.8). Os fragmentos acêntricos correspondentes aos braços curtos perdem-se em subsequentes divisões celulares e os braços longos dos dois cromossomas fundem-se pelos topos originados pela quebra e originam uma nova forma de cromossoma. Numa condição equilibrada, o cariótipo será 45,XX ou XY com a translocação respectiva (v.g., a translocação mais frequente 45,XY,t(13q14q) ou a translocação 45,XX,t(14q21q).

O portador de uma translocação equilibrada tem um fenótipo normal,

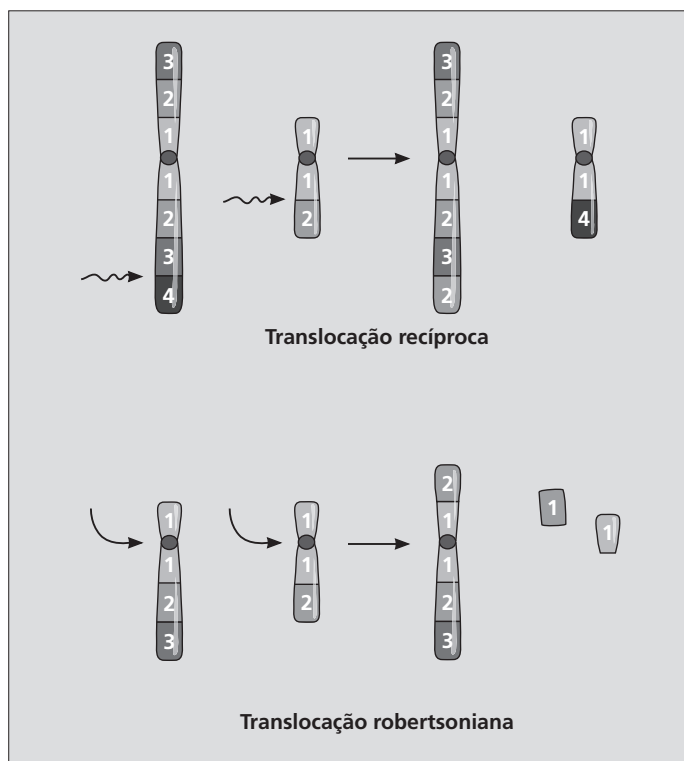


Fig. XIII.8 – Esquema ilustrativo das translocações recíproca e robertsoniana.

dado que nos braços curtos apenas se localizam heterocromatina constitutiva e genes ribossomais cuja falta não se faz sentir porque os outros acrocêntricos também possuem este tipo de genes.

Nos indivíduos com translocação robertsoniana equilibrada entre cromossomas acrocêntricos homólogos (v.g., 21;21 ou 13;13), todos os gametas produzidos são cromossomicamente anormais.

Na translocação insercional um fragmento cromossômico muda de local dentro de um mesmo cromossoma ou entre cromossomas diferentes (Figs. XIII.9 e XIII.10). Para que se verifique entre dois cromossomas é necessário que ocorram três pontos de quebra: dois num cromossoma para libertarem um fragmento e uma terceira quebra noutra cromossoma que, ao abrir a sequência, permite a inserção do fragmento translocado. Nestas condições, há um risco elevado, da ordem dos 50%, de a descendência ter anomalias.

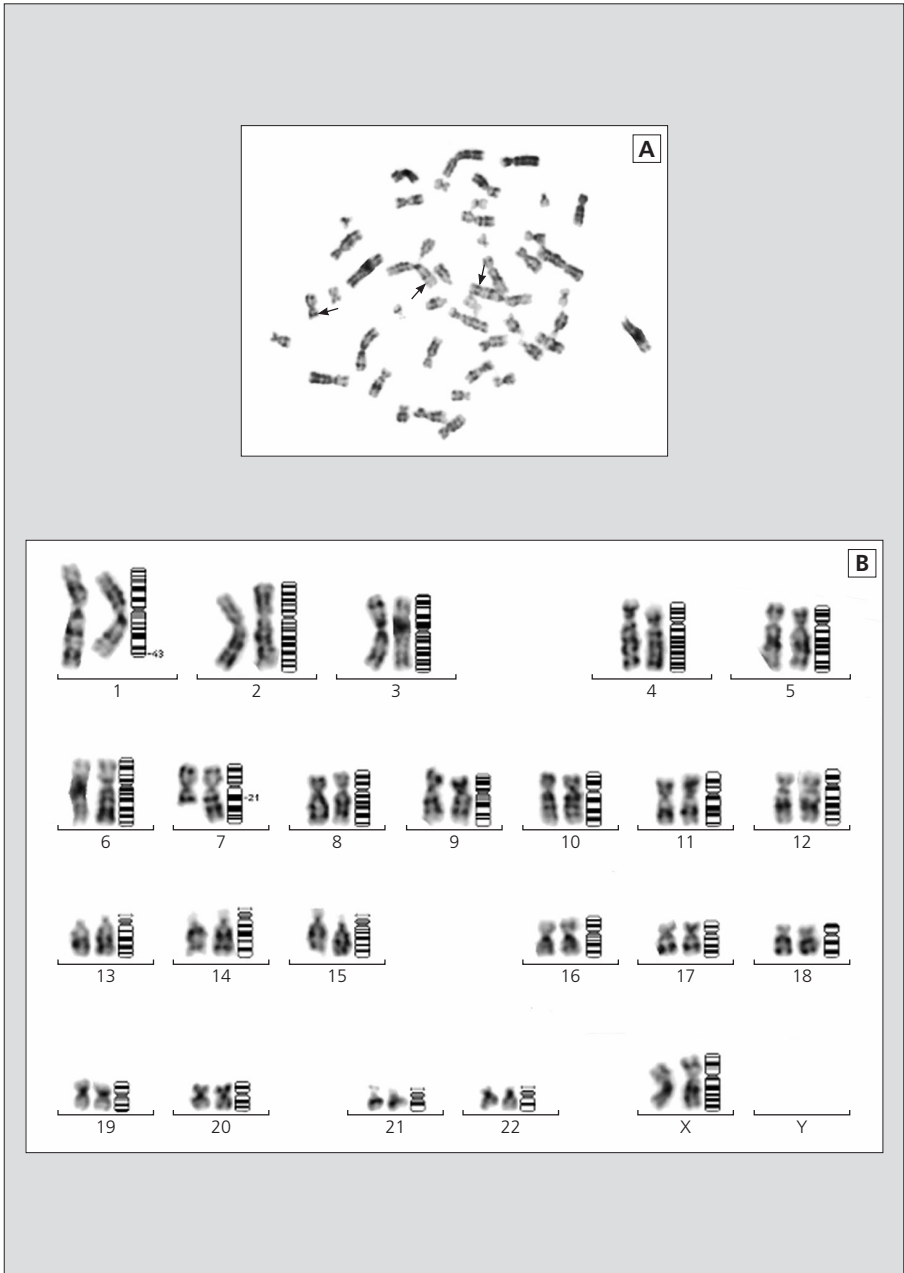


Fig. XIII.9 – Translocação. Cariótipo 46,XX,t(1q;7q). A – Placa metafásica após bandeamento. B – Cariótipo correspondente à placa metafásica. Para melhor identificação dos cromossomas e das anomalias presentes, os cromossomas foram emparelhados com a respectiva representação esquemática com bandeamento. Entre um dos cromossomas 7 e um dos cromossomas 1, observa-se a translocação de um fragmento distal do braço longo.

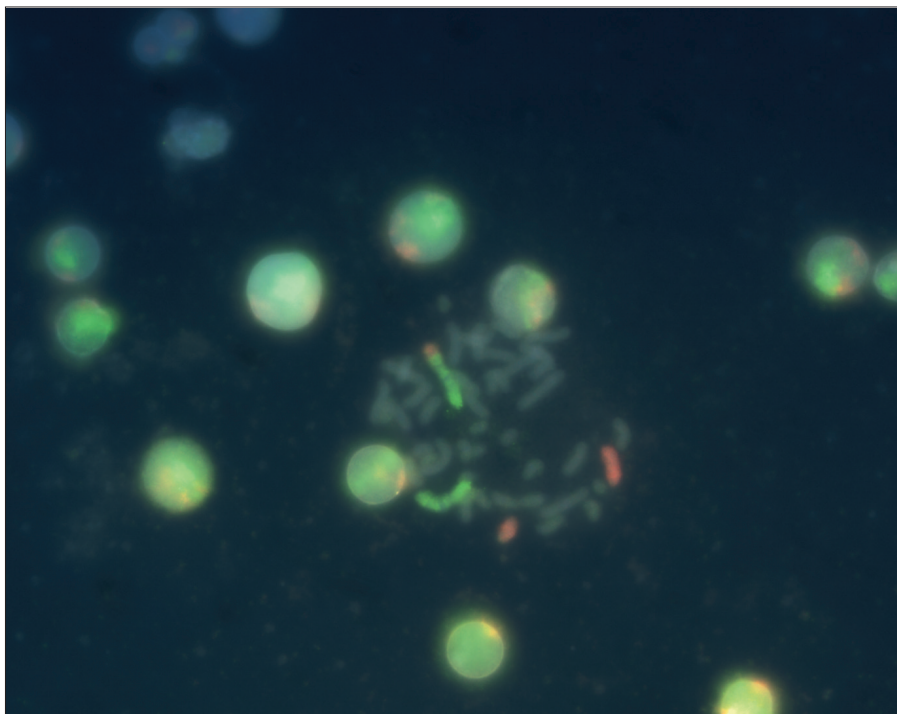


Fig. XIII.10 – Translocação detectada por FISH. Observa-se a translocação de um fragmento de um cromossoma corado pela rodamina (vermelho) para um cromossoma de outro par que foi corado com fluorescência (verde).

CAPÍTULO XIV

CROMOSSOMOPATIAS

1. INTRODUÇÃO

As cromossomopatias dizem respeito a fenótipos patológicos determinados por alterações cromossômicas numéricas ou estruturais. Estão geralmente associadas a malformações congênitas múltiplas e a atraso mental. Em conjunto, as cromossomopatias são a causa de aproximadamente metade dos abortos espontâneos, sendo que estes ocorrem em cerca de 20% das gravidezes conhecidas. Entre as alterações cromossômicas mais frequentemente encontradas nos abortos espontâneos contam-se as trissomias, em cerca de 50% dos casos, e as monossomias X, em 20%. Nos recém-nascidos, a prevalência das cromossomopatias ronda os 0,6%.

As cromossomopatias dividem-se em autossômicas quando ocorrem em algum dos cromossomas dos pares 1 a 22 e heterocromossômicas quando dizem respeito a alterações do cromossoma X ou Y (Tabela XIV.1).

Tabela XIV.1. Cromossomopatias mais frequentes

AUTOSSOMOPATIAS	FREQUÊNCIA	HETEROCROMOSSOMOPATIAS	FREQUÊNCIA
Trissomia 21 (síndrome de Down)	1/660 RN	Monossomia X (síndrome de Turner)	1/2.500 RN sexo feminino
Trissomia 18 (síndrome de Edwards)	1/8.000 RN	Trissomia XXY (síndrome de Klinefelter)	1/600 RN sexo masculino
Trissomia 13 (síndrome de Patau)	1/10.000 RN	Trissomia XXX	1/1.000 RN sexo feminino
		Trissomia XYY	1/1.000 RN sexo masculino

RN – Recém-nascidos.

As cromossomopatias autossômicas mais comuns em recém-nascidos são a trissomia 21 (síndrome de Down), a trissomia 18 (síndrome de Edwards) e a trissomia 13 (síndrome de Patau). No que respeita às cromossomopatias dos heterocromossomas, as mais comuns são a monossomia X (síndrome de Turner), a trissomia XXY (síndrome de Klinefelter), a trissomia XXX (síndrome da “super-fêmea”) e a trissomia XYY (síndrome do “super-macho”). Resultam de não-disjunção meiótica, na primeira ou na segunda divisão.

Tabela XIV.2. Ovos resultantes de não-disjunção meiótica dos heterocromossomas no sexo feminino (1ª ou 2ª divisão)

		Sexo masculino (normal)	
		Gâmetas X	Gâmetas Y
Sexo feminino (não-disjunção)	Gâmetas –	45, X	45, Y
	Gâmetas XX	47, XXX	47, XXY

No sexo feminino (Tabela XIV.2), o número de cromossomas X supranumerários ou em falta nos gâmetas é independente do facto de a não-disjunção ter lugar na primeira ou na segunda divisão da meiose. No entanto, quando a não-disjunção ocorre na primeira divisão, os dois cromossomas X presentes em cada gâmeta feminino são portadores das diferenças que se encontram em cromossomas homólogos, em comparação com a identidade completa dos cromossomas X quando a não-disjunção ocorre na segunda divisão. Neste último caso, os dois cromossomas do gâmeta feminino resultam de um par de cromátides.

No sexo masculino, as consequências são diferentes, consoante a não-disjunção tenha lugar na primeira ou na segunda divisão da meiose, no que respeita aos cromossomas X ou Y supranumerários ou em falta. Quando ocorre na primeira divisão da meiose (Tabela XIV.3), originam-se gâmetas masculinos XY e gâmetas nulissômicos. Por fecundação de um ovócito haplóide normal podem-se originar embriões com trissomia XXY ou com monossomia X. Quando a não-disjunção ocorre na segunda divisão da meiose (Tabela XIV.4), originam-se gâmetas XX e YY que, após fecundarem ovócitos normais, originam embriões com trissomia XXX ou com trissomia XYY.

Tabela XIV.3. Ovos resultantes de não-disjunção meiótica dos heterocromossomas no sexo masculino (1ª divisão)

		Sexo masculino (não-disjunção)	
		Gâmetas XY	Gâmetas –
Sexo feminino (normal)	Gâmetas X	47, XXY	45, X
	Gâmetas X	47, XXY	45, X

Tabela XIV.4. Ovos resultantes de não-disjunção meiótica dos heterocromossomas no sexo masculino (2ª divisão)

		Sexo masculino (não-disjunção)	
		Gâmetas XX	Gâmetas YY
Sexo feminino (normal)	Gâmetas X	47, XXX	47, XYY
	Gâmetas X	47, XXX	47, XYY

2. TRISSOMIA 21 (SÍNDROMA DE DOWN)

A descrição clínica da trissomia 21 foi feita, pela primeira vez em 1866, por John Langdon Down, razão pela qual é também conhecida como síndrome de Down. Em 1909, Shuttleworth estabeleceu a relação entre o avanço da idade materna e um aumento de risco para síndrome de Down. Em 1959, Lejeune e colaboradores verificaram a associação entre a presença de um cromossoma 21 supranumerário e a ocorrência desta síndrome.

A trissomia 21 é a aneuploidia mais frequente numa população, com uma prevalência de cerca de 1/660 recém-nascidos. Esta prevalência é atingida em mulheres com gravidezes a termo a partir dos 31 anos, aumentando de uma forma progressiva e muito significativa com o avanço da idade materna (Tabela XIV.6). Comparando diferentes raças humanas, regiões geográficas e grupos sociais, não se verificam diferenças significativas da incidência.

Cerca de 0,5% dos embriões têm trissomia 21. No entanto, a sua incidência é maior no momento da fecundação do que ao nascer, calculando-se que cerca de 70% dos embriões com trissomia 21 abortem espontaneamente.

2.1. ASPECTOS CLÍNICOS

Sendo a trissomia 21, uma condição sindrômica com possibilidade de se expressar por uma multiplicidade de anomalias, dever-se-á salientar que nenhuma das anomalias físicas está presente em 100% dos doentes, que as mesmas características se podem observar em diversas patologias com organização sindrômica diversa (Tabela XIV.5) e que, algumas das características podem mesmo encontrar-se em indivíduos normais.

Os recém-nascidos apresentam hipotonia muscular como manifestação mais frequente, laxidão articular e excesso de pele na parte posterior do pescoço em 80% dos casos. Os reflexos estão diminuídos em 85% das situações. A pele tem um aspecto característico designado por *cutis marmorata*, podendo ainda observar-se cianose dos dedos e dos lábios em relação com a existência de cardiopatia.

Tabela XIV.5. Autosomopatias: prevalência e manifestações clínicas

SÍNDROMAS	PREVALÊNCIA	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS
Síndrome de Down Trissomia 21	1/660 recém-nascidos	Recém-nascido com hipotonia, excesso de pele na nuca, reflexos de Moro diminuídos, hiperflexibilidade das articulações, face redonda com perfil achatado, braquicefalia, orelhas malformadas, fendas palpebrais oblíquas para cima e para fora, epicanthus, nariz pequeno e achatado, boca aberta e protusão da língua, palato alto, estreito e arqueado, prega palmar única, mãos curtas e grossas, clinodactilia do 5º dedo da mão, baixa estatura, atraso mental, cardiopatia congénita, atresia duodenal, susceptibilidade aumentada para infecções respiratórias e leucemia.
Síndrome de Edwards Trissomia 18	1/8.000 recém-nascidos	Recém-nascido com hipotonia, seguida de hipertonia. Occipital proeminente, dolicocefalia, orelhas malformadas e de implantação baixa, boca pequena, micrognatia, esterno curto, dedos da mão em flexão com cavalgamento do 2º dedo sobre o 3º e do 5º sobre o 4º, unhas hipoplásicas, pé boto, calcanhar proeminente, onfalocelo, cardiopatia congénita. Atraso mental grave, atraso de crescimento. Sobrevivência rara para além dos 6 meses.
Síndrome de Patau Trissomia 13	1/10.000 recém-nascidos	Holoprosencefalia, microcefalia, microftalmia, coloboma da íris, defeitos do couro cabeludo, orelhas malformadas, fenda labial e/ou palatina bilateral, polidactilia pós-axial das mãos e dos pés, unhas hiperconvexas, malformações orgânicas múltiplas. Crescimento deficiente. Sobrevivência rara para além dos 6 meses.
Síndrome do miar do gato ("cri-du chat") 46, XY, 5p ⁻ ou 46, XX, 5p ⁻	1/50.000 recém-nascidos	O choro do recém-nascido lembra o miar de um gato, devido a hipoplasia da laringe, atenuando-se as semelhanças ao longo dos primeiros meses. Microcefalia, face em lua-cheia, hipertelorismo, epicanthus, fenda palpebral inclinada para fora e para baixo, micrognatia, malformações cardíacas congénitas, atraso mental severo, dificuldade em aumentar de peso. A sobrevivência até à idade adulta é rara.

A cabeça é tendencialmente pequena e oval, evidenciando braquicefalia (alongamento do diâmetro bi-parietal), e achatamento do occipital, as orelhas são pequenas, com lobos pequenos ou ausentes. A face é arredondada, com perfil achatado em 90% dos casos, e as fendas palpebrais são oblíquas para cima e para fora em 80% dos casos, sendo frequente a presença de prega no epicantus (Fig. XIV.1). Na íris, observam-se manchas de Brushfield, ou seja, um ponteadado de côr esbranquiçada por falta de pigmentação. O nariz é pequeno e achatado. A boca apresenta-se aberta e é frequente a protrusão da língua (Fig. XIV.1). Há ainda hipoplasia do maxilar inferior e o palato é alto, estreito e muito arqueado.

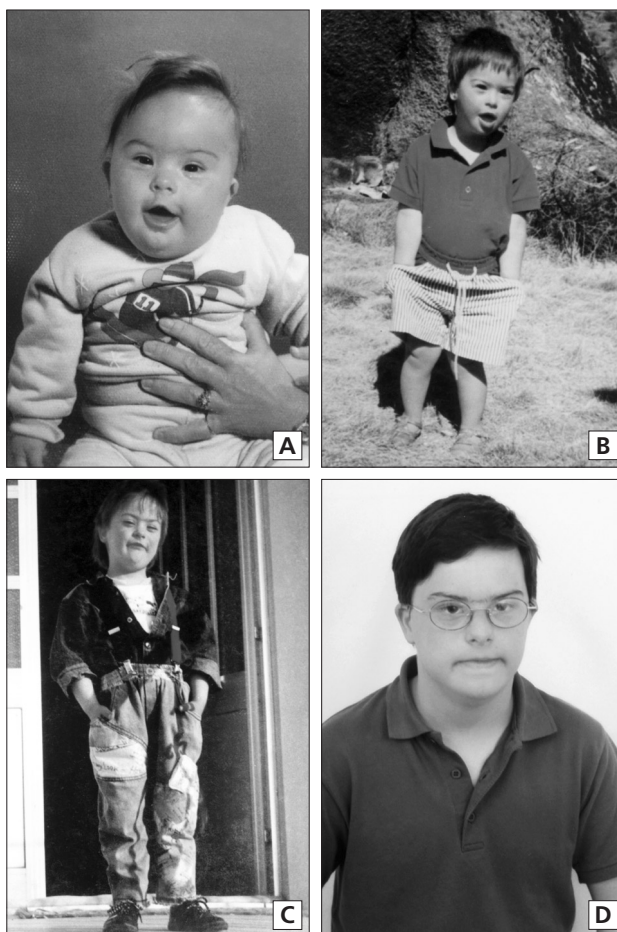


Fig. XIV.1 – Imagens de um indivíduo do sexo masculino com trissomia 21 por não-disjunção (47,XY,+21), em diversas etapas da vida. A – Aos 7 meses de idade; B – Aos dois anos de idade; C – Aos 3 anos de idade; D – Aos 12 anos de idade.

As mãos são grossas e curtas, observa-se prega palmar única unilateral ou bilateral em 45% dos casos (uma situação que ocorre em 2% a 5% dos indivíduos normais, como é o caso representado na Fig. XIV.2), os dedos são curtos e observa-se hipoplasia da falange média do 5º dedo em 60% dos doentes. É também frequente a presença de clinodactilia do 5º dedo da mão.

Os pés são curtos e há um aumento do espaço entre o 1º e o 2º dedos. A displasia da pelvis está presente em 70% dos casos.

A cardiopatia congénita está presente em 40% a 60% dos casos. A atresia duodenal é também uma anomalia frequente.

O atraso mental observa-se em todos os doentes, sendo uma das manifestações *major* na síndrome de Down. Nos doentes adultos, o QI médio é de 24. A voz é gutural e há dificuldade na articulação das palavras.

As crianças com trissomia 21 são amigáveis e gostam de música.

O crescimento das crianças com trissomia 21 é lento, originando baixa estatura, e a maturação óssea é retardada. A laxidão dos ligamentos e a hipotonia associam-se às malformações osteo-articulares, nomeadamente a luxação recidivante da rótula e da anca. O estrabismo é observado em cerca de 20% dos doentes, para além de outras anomalias oculares (v.g., cataratas, glaucoma). A susceptibilidade para infecções respiratórias está aumentada e o risco para desenvolver leucemia aguda é próximo de 1% (10 a 20 vezes superior à prevalência na população geral, sendo a leucemia megacariocítica aguda a mais frequente).

A quase totalidade dos doentes com síndrome de Down que vivem para além dos 40 anos desenvolve manifestações de doença de Alzheimer. Este facto poderá dever-se ao efeito de dosagem génica devida à trissomia para o gene *APP* que codifica a proteína precursora da amiloide e está localizado no cromossoma 21. A mutação deste gene está associada a casos familiares de doença de Alzheimer.

A esperança de vida dos doentes é menor do que na população geral. Para algumas das alterações, a sobrevivência depende da gravidade das lesões e da possibilidade de as reparar cirurgicamente, nomeadamente a nível cardíaco, bem como do sucesso que os recursos actuais já permitem atingir em termos de antibioterapia e de tratamento das leucemias.

Com o conhecimento do genoma, em particular do cromossoma 21 e das funções e modo de actuar das proteínas codificadas pelos genes localizados neste cromossoma, é possível antever formas de intervenção que possam contrariar as deficiências de desenvolvimento, como sejam o atraso mental.



Fig. XIV.2 – Mão de um indivíduo normal, em que é evidente uma prega palmar única, unilateral.

2.2. ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS

A confirmação do diagnóstico implica sempre um estudo citogenético. Cerca de 93% a 95% dos casos de síndrome de Down são devidos à presença de um cromossoma 21 supranumerário num dos gâmetas (trissomia livre), originado por não-disjunção meiótica (cariótipo 47,XX,+21 ou 47,XY,+21) (Fig. XIV.3).

O cromossoma supranumerário é de origem materna em cerca de 90% dos casos, ocorrendo a não-disjunção na 1ª divisão da meiose em 75% das vezes (em associação com uma diminuição da taxa de recombinação meiótica). Nos restantes 25%, ocorre na 2ª divisão da meiose, não parecendo haver relação com a taxa de recombinação meiótica. A idade materna influencia significativamente a ocorrência de não-disjunção (Tabela XIV.6). Em cerca de 5% a 7% dos casos, o cromossoma 21 supranumerário tem origem em não-disjunção durante a meiose paterna. As anomalias durante a mitose são responsáveis pela ocorrência do cromossoma supranumerário, em 3% a 5% das trissomias 21.

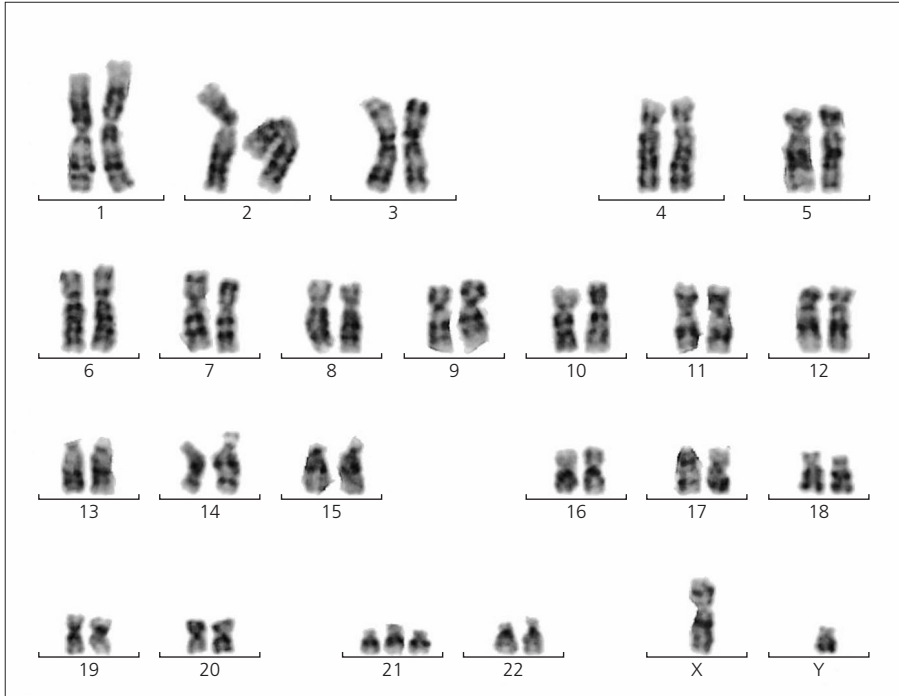


Fig. XIV.3 – Cariótipo com bandeamento obtido a partir de células do líquido amniótico de um feto do sexo masculino com trissomia 21 (47,XY,+21).

Tabela XIV.6. Idade materna e risco para síndrome de Down

IDADE (anos)	RISCO	IDADE (anos)	RISCO
15	1/1578	37	1/242
20	1/1528	38	1/189
25	1/1351	39	1/146
26	1/1286	40	1/112
27	1/1208	41	1/85
28	1/1119	42	1/65
29	1/1018	43	1/49
30	1/909	44	1/37
31	1/796	45	1/28
32	1/683	46	1/21
33	1/574	47	1/15
34	1/474	48	1/11
35	1/384	49	1/8
36	1/307	50	1/6

Adaptado de: Cuckle et al., (1987). Br J Obstet Gynaecol, 94:387-402.

As translocações robertsonianas estão presentes em cerca de 3% a 4% das situações de síndrome de Down, sendo translocações “de novo” em 2% a 3% (quase sempre de origem materna) e em 1% a 2% translocações herdadas de um dos progenitores em que se encontram de uma forma equilibrada. Ocorrem geralmente entre um cromossoma 21 e um dos cromossomas 13, 14 ou 15 (v.g., cariótipo 46,XY, t(14;21) ou 46,XX, t(14;21)), entre um cromossoma 21 e um cromossoma 22 (cariótipo 46,XY, t(21;22) ou 46,XX, t(21;22)), ou ainda entre os dois cromossomas 21 (cariótipo 46,XY, t(21;21) ou 46,XX, t(21;21)). Não há qualquer efeito da idade da mãe na ocorrência de translocação. A translocação “de novo” ocorre, provavelmente, antes do “crossing-over” da 1ª divisão da meiose.

O mosaïcismo é um acontecimento pós-zigótico (cariótipo 47,XY,+21/46,XY ou 47,XX,+21/46,XX). É responsável por cerca de 2,5% dos casos de síndrome de Down. A origem mais comum de mosaïcismo consiste na perda do cromossoma 21 supranumerário em algumas células de um embrião inicialmente trissômico. Pode também ser devido a não-disjunção mitótica de um embrião que, à partida, era cromossomicamente normal.

Na maioria dos casos de mosaïcismo, as manifestações da síndrome de Down são clinicamente mais frustes do que nos casos em que a etiologia é de outra natureza, dada a presença de células normais e de células trissômicas. A maior ou menor gravidade dos sintomas depende da percentagem de células trissômicas, o que se interliga com o momento do desenvolvimento embrionário em que ocorreu a não-disjunção mitótica. Se o desenvolvimento do mosaïcismo fôr tardio pode, inclusive, verificar-se apenas em algum tecidos.

A partir de alguns casos de trissomia parcial do cromossoma 21, foi definida uma região crítica localizada entre 21q22.2 e 21q22.3, para a qual a ocorrência de três cópias num indivíduo será responsável pelas alterações fenotípicas, devido ao efeito de dosagem génica.

2.3. RISCO DE RECORRÊNCIA E ACONSELHAMENTO

O risco de recorrência para síndrome de Down, ou seja a probabilidade de uma mulher voltar a ter um filho com a mesma condição em próxima gravidez gerada dentro do mesmo casal, deve ser objecto de análise específica para cada caso, tendo em consideração os factores etiológicos.

Durante o aconselhamento genético, o casal deverá ser esclarecido sobre os mecanismos subjacentes ao desenvolvimento da síndrome de Down, os aspectos fenotípicos, o risco de incidência para diversas idades maternas, os métodos de rastreio e de diagnóstico disponíveis e os riscos inerentes à sua prática, bem como o risco de recorrência quando tenha havido uma trissomia 21 na descendência do casal, ou haja uma condição de portador de translocação equilibrada num dos progenitores.

A amniocentese, para colheita de células destinadas à realização de cariótipo fetal e de líquido amniótico, é habitualmente realizada às 15 semanas de gestação, embora possa ter lugar entre a 12^a e a 14^a semanas. A biópsia das vilosidades permite obter células para estudo citogenético entre a 9^a e a 12^a semanas de gestação. Para a detecção de alterações numéricas dos cromossomas é suficiente o estudo das células fetais por processos como a FISH, mais rápidos do que a cariotipagem.

Em termos de risco para ocorrência de trissomia livre em função da idade da mulher no momento do parto, devem ser tidos em consideração os valores empíricos enunciados no Tabela XIV.6, em que se correlaciona a idade materna com o risco para ter um descendente com trissomia por não-disjunção. Até cerca dos 30 anos, o risco é reduzido, situando-se abaixo de 1/1.000 recém-nascidos.

Nos casos de trissomia livre, não está indicada a realização de cariótipo nos pais. Nestes casos, o risco de recorrência para uma nova gravidez é inferior a 1%, numa mulher até aos 35 anos, o que se poderá dever a uma hipotética predisposição para não-disjunção. A partir dos 35 anos o risco é muito semelhante ao indicado na Tabela XIV.6 para a população geral.

Os indivíduos do sexo masculino com trissomia 21 são estéreis devido a bloqueio da espermatogénese durante a meiose. Quanto às mulheres com trissomia 21, podem esporadicamente ter filhos.

Se houver uma translocação num descendente, é obrigatório o estudo citogenético dos progenitores. Na ausência de translocação em qualquer dos progenitores, o risco de recorrência dentro do casal é inferior a 1%, já que se trata de uma mutação “de novo”.

Nos casos em que se identifica uma translocação equilibrada num dos progenitores, após o nascimento de um filho com síndrome de Down, há risco acrescido em subsequentes gravidezes dentro do casal. Está também indicado fazer a pesquisa da alteração em familiares do membro do casal portador da translocação equilibrada.

Teoricamente, um indivíduo portador de uma translocação robertsoniana equilibrada entre o cromossoma 21 e um cromossoma do grupo D (13, 14 ou 15) ou entre o cromossoma 21 e o cromossoma 22, pode gerar um terço dos seus descendentes com síndrome de Down por trissomia 21 (v.g., 46,XX,t(14q;21q), um terço de indivíduos normais, embora portadores da translocação equilibrada, e outro terço com um complemento cromossômico normal (Fig. XIV.4). A possibilidade correspondente a monossomia para o cromossoma 21 provoca aborto precoce. Contudo, o risco é bem menor do que o valor teoricamente enunciado, devido a aborto precoce. O sexo do portador da translocação influencia o risco. Assim, será de 2,5% se o portador da translocação for o pai e de 10% a 15% se for a mãe. Quando a translocação é t(21;21), o risco é de 100%, ou seja, todos os descendentes terão síndrome de Down. Nos casos de translocação recíproca envolvendo os dois cromossomas 21, o risco de recorrência é de 10%.

Se há mosaïcismo no descendente de um casal, devido a não-disjunção meiótica ou mitótica, não há qualquer alteração cromossômica nos progenitores. O risco de recorrência para irmãos do doente é inferior a 1%.

A presença de mosaïcismo gonadal num dos progenitores também pode originar trissomia num descendente, com a agravante de ser responsável por um acréscimo do risco de recorrência em outros membros da fratria.

Quando num casal há recorrência da trissomia 21 livre, sendo os dois membros do casal normais, dever-se-á considerar a possibilidade de um deles ser portador de mosaïcismo gonadal (e eventualmente de outros tecidos). Aliás, o mosaïcismo pode ser responsável pela presença de algumas das manifestações fenotípicas da síndrome de Down, como a prega palmar única, em indivíduos com inteligência normal.

A indicação da amniocentese como método de rastreio da síndrome de Down em grávidas com 35 anos ou mais, apenas detecta cerca de 20% dos casos, uma vez que é este o valor aproximado da percentagem de casos desta síndrome que ocorrem nestas idades, em relação ao total de casos entre os recém-nascidos. Na verdade, a maioria regista-se em idades de gravidez mais precoces, por ser nas idades mais precoces que ocorre a grande maioria das gravidezes, ainda que o risco para síndrome de Down seja menor (Tabela XIV.6).

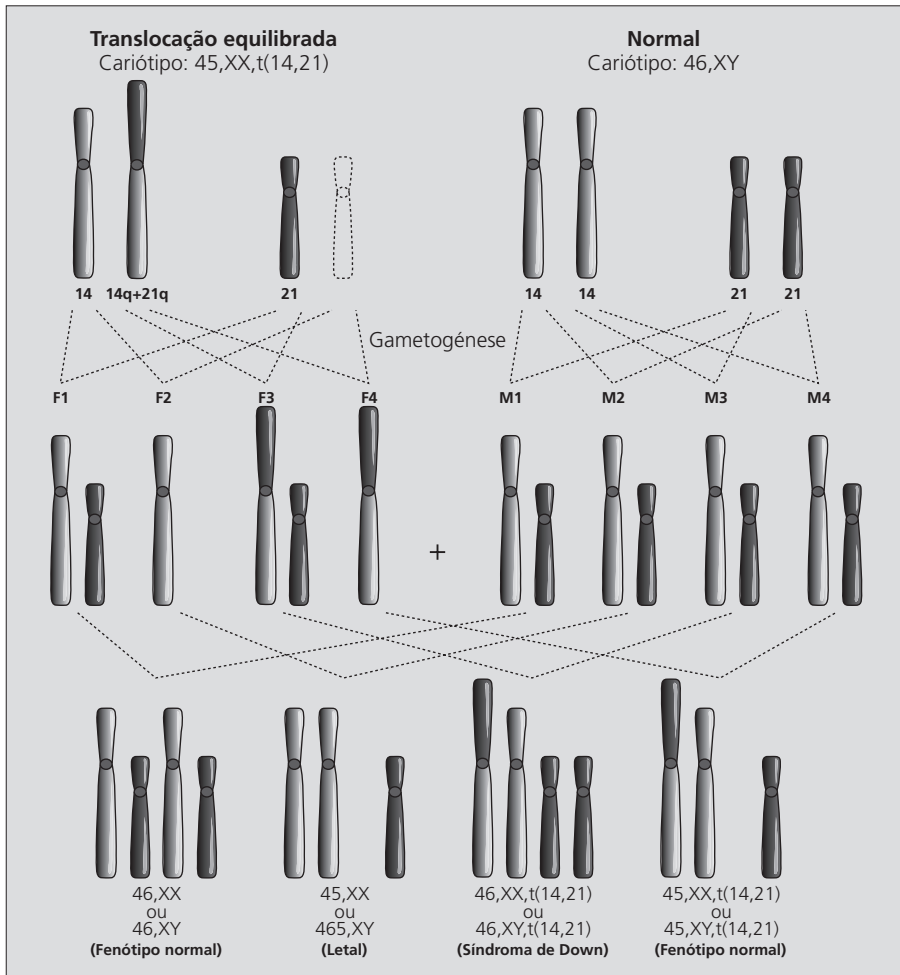


Fig. XIV.4 – Diagrama ilustrativo da formação de gâmetas femininos (F1-F4) e masculinos (M1-M4) e de possíveis cariótipos resultantes da sua conjugação, na presença de uma translocação equilibrada t(14,21) no progenitor feminino.

2.4. RASTREIO NO SORO MATERNO DURANTE O PERÍODO FETAL

A necessidade de realizar estudos de rastreio para a trissomia 21 em períodos da gravidez em que a amniocentese introduziria um risco de abortamento muito superior ao risco para esta trissomia, conduziu ao

aperfeiçoamento de protocolos de rastreio baseados em doseamentos no soro materno e na ecografia. Assim, o rastreio pode ser realizado durante o primeiro trimestre de uma gravidez, entre a 10^a e a 13^a semana, embora preferencialmente durante a 12^a semana, pelo doseamento no soro materno da PAPP-A (“pregnancy associated plasma protein A”), cuja concentração se encontra diminuída na trissomia 21, e pelo doseamento da fracção livre de β -hCG, cuja concentração se encontra aumentada, em conjugação com os resultados da medição ecográfica da translucência da nuca, que se encontra aumentada nos casos de trissomia 21, por acumulação de líquido. A computação dos dados obtidos permite calcular um valor de risco para trissomia 21. Em função do risco determinado poderá estar indicada a realização de amniocentese e do subsequente estudo citogenético. Desta forma, chega a ser possível detectar cerca de 80% dos casos de trissomia 21.

No 2^o trimestre de uma gravidez, também é possível realizar o rastreio da trissomia 21 por métodos não invasivos, recorrendo ao doseamento no soro materno, preferencialmente colhido entre a 15^a e a 16^a semana, da α -fetoproteína, do estriol livre, da fracção livre da subunidade β da gonadotrofina coriónica (β -hCG livre) e da inibina A. A realização conjunta destes estudos (Tabela XIV.7) e a computação dos valores encontrados em conjunto com outros parâmetros como a idade permitem determinar o risco para trissomia 21. Em função do risco, poderá estar indicada a realização da amniocentese, sendo possível, quando o limiar de risco considerado é de 1/380, detectar até 85% dos casos de trissomia 21, com uma percentagem de falsos positivos de cerca de 1%.

Tabela XIV.7. Métodos de rastreio de cromossomopatias

SÍNDROMA	MOLÉCULA ANALISADA			
	INIBINA A	α -FETOPROTEÍNA	β -hCG LIVRE	ESTRIOL
Trissomia 21 (2 ^o trimestre)	Aumento (soro materno)	Diminuição (soro materno e líquido amniótico)	Aumento (soro materno e líquido amniótico)	Diminuição (soro materno)
Trissomia 18	—	Diminuição (soro materno) Sem alteração (líquido amniótico)	Diminuição (soro materno e líquido amniótico)	Diminuição
Trissomia 13	—	Diminuição (soro materno)	Sem alteração	Sem alteração

3. TRISSOMIA 18 (SÍNDROMA DE EDWARDS)

A trissomia 18, ou síndrome de Edwards foi descrita pela primeira vez em 1960. Ocupa o segundo lugar em termos de frequência das malformações múltiplas mais comuns. A prevalência da síndrome de Edwards é de 1/8.000 recém-nascidos. No entanto, este valor representa apenas 5% dos fetos com trissomia 18, já que cerca de 95% dos fetos abortam espontaneamente. A frequência desta síndrome é três vezes maior em recém-nascidos do sexo feminino, comparativamente com os do sexo masculino (3:1). Metade dos recém-nascidos morre durante a primeira semana de vida, sendo a sobrevivência rara para além do ano de idade, devido à gravidade e à multiplicidade das malformações e à incapacidade para se desenvolverem. Os que sobrevivem para além do ano de idade, numa percentagem entre 5% e 10%, correspondem a crianças com atraso mental grave e com incapacidade para andar sem apoios.

3.1. ASPECTOS CLÍNICOS

Durante a gravidez, é frequente detectar-se poliidrâmnios, placenta pequena e, por vezes, uma artéria umbilical única. Há geralmente atraso de crescimento intra-uterino, movimentos fetais hipocinéticos e podem ser identificadas malformações.

Os recém-nascidos evidenciam atraso de crescimento e hipotonia muscular seguida de hipertonia após o período neonatal. A resposta aos estímulos sonoros é fraca e o choro é igualmente fraco. Podem apresentar episódios de apneia. A capacidade de sucção é fraca o que pode obrigar ao recurso a uma sonda nasogástrica para proceder à alimentação.

A pele é redundante. O occipital é proeminente, a sutura metópica está aberta e há dolicocefalia (redução do diâmetro biparietal). As orelhas são malformadas e de implantação baixa, as fendas palpebrais curtas, há micrognatia, boca pequena com lábio superior curto e palato muito arqueado. Podem ocorrer quistos bilaterais do plexo coróideu.

Os dedos das mãos encontram-se em flexão com cavalgamento do 2º sobre o 3º e do 5º sobre o 4º, as unhas são hipoplásicas e pode haver sindactilia. No pé, destaca-se o calcanhar proeminente.

O pescoço é fino e o esterno é curto e com um reduzido número de pontos de ossificação, as costelas e as clavículas são hipoplásicas, por vezes com fragmentação. Na parede abdominal podem-se observar eventrações ou hérnias inguinais ou umbilicais e *diastasi recti* devido a defeitos da musculatura.

A nível dos órgãos genitais observa-se criptorquidia no sexo masculino e hipertrofia do clitóris e dos grandes lábios no sexo feminino. Os ovários são hipoplásicos.

As malformações orgânicas são múltiplas, salientando-se as cardiopatias congénitas (sobretudo septais) e as malformações gastrintestinais (v.g., má rotação do cólon, pâncreas ectópico) mas também a segmentação anormal dos pulmões, o rim ectópico e o rim em ferradura.

3.2. ASPECTOS CITOGENÉTICOS E ACONSELHAMENTO

A trissomia 18 é causada, na grande maioria dos casos, pela presença de um cromossoma 18 supranumerário originado maioritariamente por não-disjunção meiótica (Fig. XIV.5). A idade materna avançada está associada a maior incidência desta trissomia na descendência.

A trissomia parcial do braço curto do cromossoma 18 e a trissomia parcial do braço longo do cromossoma 18 podem também ocorrer. Nos casos de trissomia do braço curto, as consequências fenotípicas não são específicas e o atraso mental pode ser moderado ou inexistente. Comparativamente, as trissomias parciais que envolvam todo o braço longo acarretam consequências idênticas às descritas para a trissomia livre. As trissomias para uma parte do braço longo são, em parte, idênticas às que foram descritas para a trissomia livre ou são incharacterísticas.

A translocação e o mosaicismo são também possíveis como causa etiológica, embora rara. Nos casos de mosaicismo, a gravidade das implicações fenotípicas depende da percentagem de células trissómicas.

Nos casos de trissomia livre, o risco de recorrência para futuras gravidezes é de cerca de 1% e não é necessário realizar estudo citogenético nos progenitores. Nos casos em que é encontrada uma translocação no recém-nascido, é necessário realizar o estudo citogenético nos pais, para despistar a eventual presença de uma translocação equilibrada num dos progenitores. A presença de translocação equilibrada implica um elevado risco de recorrência para futuros descendentes do portador da translocação.

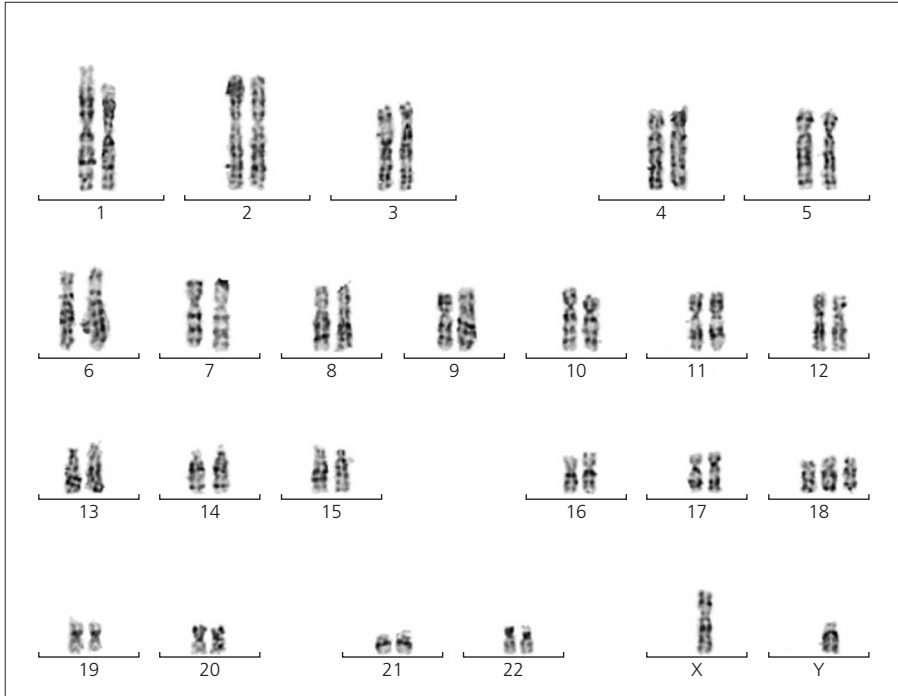


Fig. XIV.5 – Cariótipo com bandeamento, obtido a partir de sangue do cordão umbilical de um recém-nascido do sexo masculino com trissomia 18 (47,XY,+18).

4. TRISSOMIA 13 (SÍNDROMA DE PATAU)

296

A trissomia 13, ou síndrome de Patau, foi descrita em 1960. Tem uma prevalência próxima de 1/10.000 recém-nascidos. No período intra-uterino, a mortalidade é muito elevada. A ecografia fetal cuidadosa pode evidenciar anomalias do cérebro, da face (malformações do nariz, fendas, anoftalmia ou sinoftalmia), dos membros (polidactilia), cardiopatias congênitas, malformações renais (hidronefrose, hipoplasia) e onfalocelo. Para além dos 6 meses de vida, apenas sobrevivem cerca de 3%, sendo muito raro o desenvolvimento até à idade adulta. O atraso mental é muito profundo.

4.1. ASPECTOS CLÍNICOS

Os aspectos fenotípicos mais característicos dos recém-nascidos consistem em polidactilia pós-axial (dos dedos das mãos ou dos pés) em combinação com microcefalia, anomalias oculares, lábio leporino em 2/3 dos casos, geralmente acompanhado de fenda esfenopalatina, e anomalias cardíacas e/ou renais. Os defeitos do couro cabeludo estão presentes em cerca de 50% dos casos.

A holoprosencefalia é a malformação mais grave da trissomia 13, estando presente em 66% dos casos. Consiste numa falha da segmentação do cérebro embrionário anterior na linha média (sagital) que afecta a formação dos hemisférios cerebrais, da segmentação transversal afectando a formação do telencéfalo e do diencéfalo e da segmentação horizontal com perturbação da formação dos bolbos ópticos e olfactivos. A holoprosencefalia pode dar origem a um cérebro alobar (sem separação dos hemisférios cerebrais e com um único ventrículo), hemilobar ou lobar. Uma das manifestações mais graves é a ciclopia. Uma das manifestações menos graves da holoprosencefalia consiste na presença de um único dente incisivo superior e um discreto hipertelorismo.

Entre as malformações severas do SNC pode-se encontrar ainda hipoplasia do cerebelo, agenesia do corpo caloso, arrinencefalia (ausência dos tractos e dos bolbos olfactivos) e hidrocefalia. A surdez e a cegueira são frequentes. Observam-se ainda convulsões epiléticas e dificuldades na alimentação.

Para além destas alterações, há outras malformações múltiplas e graves, de que se salientam o alargamento da sutura sagital e das fontanelas, as orelhas malformadas de implantação baixa e com apêndices auriculares e a displasia retiniana. São também frequentes, a criptorquidia no sexo masculino, as malformações cardíacas em 80% dos casos, as malformações gastrintestinais e renais. Na pele são frequentes os hemangiomas sobretudo na fronte e os já referidos defeitos do couro cabeludo na região parieto-occipital. Os dedos estão em flexão permanente e, em 60% dos casos, há prega palmar única.

4.2. Aspectos citogenéticos e aconselhamento

Em aproximadamente 3/4 dos casos há trissomia livre, tendo o cromossoma supranumerário origem em não-disjunção meiótica, maioritariamente na mãe (cerca de 90% dos casos). Em 20% dos casos está presente uma translocação robertsoniana entre os cromossomas do grupo D, na maioria das vezes t(13q;14q). Metade dos casos de translocação resulta de mutação “de novo” e a outra metade é herdada, na maioria das vezes da mãe.

Quando não for possível realizar o estudo citogenético em nados-mortos com aparência de trissomia 13, e se observe pelo menos polidactilia e fenda esfenopalatina, deve ser feito o cariótipo aos pais para verificar se algum dos progenitores é portador de uma translocação equilibrada que envolva o cromossoma 13.

Para uma mulher jovem com um filho com trissomia 13 livre, o risco de recorrência é de cerca de 1%, sendo que para as mulheres com idade mais avançada deverá ser adicionado ao risco de 1%, o risco decorrente da idade materna. Está indicada a realização de estudo citogenético pré-natal. No caso de um dos progenitores ser portador de uma translocação t(13q;14q), o risco de recorrência a indicar é também de 1%.

5. SÍNDROMA DE TURNER

A síndrome de Turner foi descrita por este autor em 1938, em indivíduos do sexo feminino tendo como alterações características a baixa estatura, infantilismo sexual e amenorreia primária. A prevalência da síndrome de Turner é de cerca de 1/2.500 recém-nascidos do sexo feminino.

Uma das causas mais frequentes é a monossomia X, correspondente a um cariótipo 45,X. Os embriões e os fetos com este cariótipo têm uma viabilidade muito reduzida devido a aborto espontâneo, calculando-se que menos de 1% sobrevivam até ao parto. Nos casos em que o aborto ocorre mais precocemente, é mais provável a presença de uma monossomia em que o cromossoma X presente é de origem paterna, enquanto que nos abortos tardios (do segundo trimestre da gravidez), é mais provável encontrar um único cromossoma X de origem materna.

5.1. ASPECTOS CLÍNICOS

Durante o desenvolvimento fetal, é frequente a ocorrência de hidrósia e de higromas quísticos na região cervical, por excesso de acumulação de líquido. O “pterigium coli” presente ao nascer (pele redundante a sugerir “asas”, no ângulo do pescoço com os ombros) está relacionado com a existência de higroma.

Ao nascer, observa-se um pescoço curto, implantação baixa do cabelo (em 2/3 dos casos), orelhas também de implantação baixa, “pterigium coli” e linfedema das mãos, dos pés e dos dedos dos pés, o que acarreta hipoplasia das unhas. O linfedema das extremidades desaparece durante os primeiros anos de vida.

No desenvolvimento pós-natal regista-se atraso de crescimento e ausência de “pulo de crescimento” na adolescência, o que conduz a uma acentuada baixa da estatura, com uma altura média de 130 a 140 centímetros, sobretudo devida a membros inferiores curtos. A baixa estatura é originada, muito possivelmente, por haploinsuficiência devida à presença de uma única cópia do gene *SHOX* localizado na região pseudoautosómica do cromossoma X.

Outras características presentes em cerca de 50% dos casos são o *cubitus valgus* (antebraço mais inclinado para fora do que o braço), o encurtamento do 4º e do 5º metacarpos, o “tórax em escudo” e um afastamento dos mamilos maior do que o esperado (Fig. XIV.6). É comum observar nevos pigmentados.

Na síndrome de Turner, podem ainda ocorrer algumas anomalias viscerais graves como a coarctação da aorta em cerca de 10% dos casos, o rim em ferradura e a duplicação ureteral. A hipertensão arterial está presente em 27% dos casos, havendo também maior incidência de otite média, tiroidite autoimune, diabetes mellitus na idade adulta, doença de Crohn e hemorragias gastrintestinais.

O grau de inteligência está dentro dos limites normais, apesar de haver um défice quando se procede à comparação com irmãos. Pode ocorrer algum atraso da fala e dificuldades de aprendizagem. Observa-se uma perturbação da percepção espacial e o comportamento social é frequentemente afectado, de modo significativo, quando o cromossoma X presente é de origem materna. Quando o cromossoma X presente é de origem paterna, o comportamento social é muito semelhante ao de uma mulher normal. Este facto poderá dever-se a “imprinting” ligado ao cromossoma X, para os genes em causa.

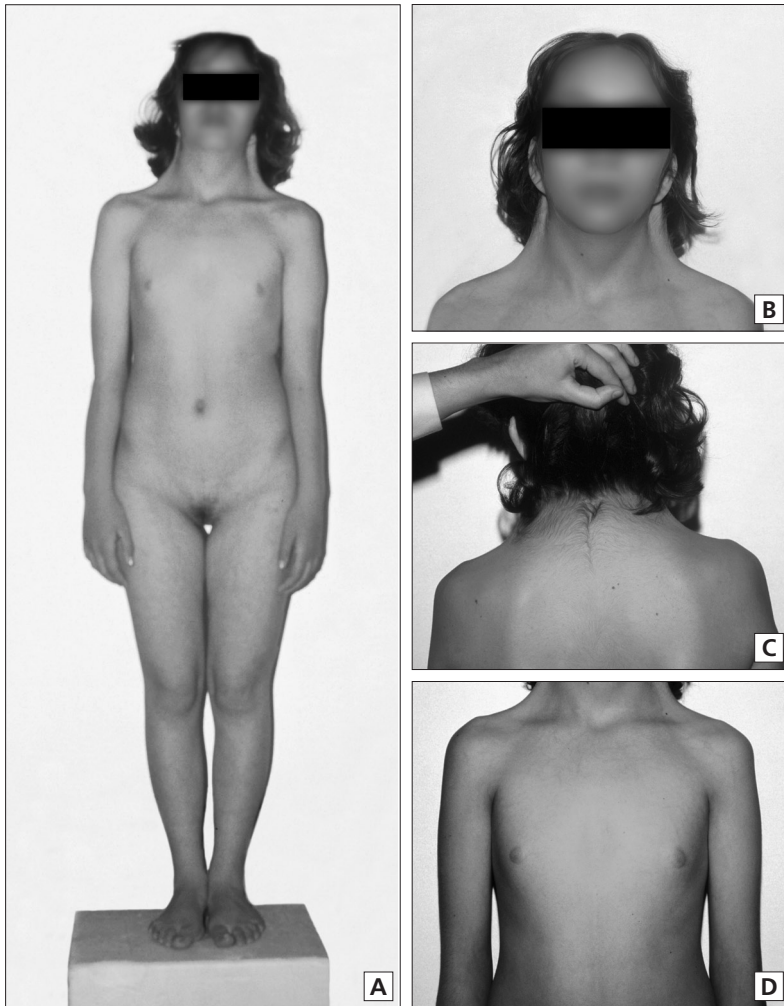


Fig. XIV.6 – Imagens de uma mulher com síndrome de Turner (45,X): A – É visível o *pterigium coli*, o “tórax em escudo”, o afastamento dos mamilos maior do que o habitual, o fraco desenvolvimento mamário, a reduzida quantidade de pêlos púbicos, os membros inferiores curtos (a altura é inferior a 150 cm); B – *Pterigium coli*; C – Implantação baixa dos cabelos na nuca; D – “Tórax em escudo”, afastamento dos mamilos, fraco desenvolvimento mamário.

Há ainda amenorreia primária (ausência de menarca), esterilidade e falta de desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários (Fig. XIV.6). A disgenesia gonadal é uma constante, o que se traduz na presença de “gónadas em fita” reduzidas a tecido conjuntivo sem folículos ováricos,

devido a degenerescência dos folículos primordiais durante o período pré-natal e perinatal. A ausência de folículos ovários devido a degenerescência dos ovócitos, com início pela 15ª semana de gestação, e a consequente ausência de produção de estrogêneos e progesterona na idade em que normalmente ocorre a puberdade, explicam algumas das manifestações fenotípicas, como a amenorreia primária, a esterilidade e a ausência de desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários (infantilismo sexual) presentes num fenótipo feminino. Os níveis séricos de gonadotrofinas são elevados.

Em algumas mulheres com síndrome de Turner, sobretudo quando está presente mosaïcismo 45,X/46,XX, podem-se observar menarca e menstruações durante alguns meses ou anos, sendo a menopausa de ocorrência precoce. Ocasionalmente, foram registadas gravidezes.

5.2. ASPECTOS CITOGENÉTICOS E RISCO DE RECORRÊNCIA

Na síndrome de Turner, em cerca de 55% dos casos está presente uma monossomia do cromossoma X, correspondente a um cariótipo 45,X. A não-disjunção envolvida nesta síndrome não apresenta relação com a idade materna. Em 80% dos casos, o cromossoma presente é de origem materna, pelo que a causa será a não-disjunção meiótica paterna.

Para além da monossomia 45,X, a síndrome de Turner pode também dever-se a mosaïcismo 45,X/46,XX, a mosaïcismo 45,X/46,XY em 5% dos casos, a isocromossoma do braço longo do cromossoma X, 46,X,i(Xq), a isocromossoma do braço curto do cromossoma X, 46,X,i(Xp), a cromossoma X em anel, 46,X,r(X), e ainda a outras alterações estruturais como deleções de um dos braços do cromossoma X, 46,X,del(Xq) ou 46,X,del(Xp). Nos casos de isocromossoma para o braço longo do cromossoma X, as manifestações fenotípicas são idênticas às que se observam em mulheres 45,X.

A probabilidade de recorrência da síndrome de Turner é muito reduzida.

5.3. TRATAMENTO

Os pais de crianças portadoras de síndrome de Turner e as próprias doentes devem ser esclarecidos sobre a sua condição e sobre a necessidade

de um tratamento hormonal adequado. O diagnóstico clínico precoce e a sua caracterização citogenética são importantes para desencadear o tratamento de forma atempada.

Entre as acções terapêuticas inclui-se a administração de hormona do crescimento para que a criança cresça mais do que o esperado. Noutra sentença, a administração de ciclos de tratamentos com estrogéneos e progesterona, com início na idade da puberdade, permite o desenvolvimento normal de caracteres sexuais secundários.

Nos casos em que haja "pterigium coli" (Fig. XIV.6), pregas epicânticas ou outras anomalias físicas proeminentes, deverá ser considerada a realização de cirurgia plástica antes da idade escolar (ter em consideração o aumento de susceptibilidade para a formação de quelóide durante a cicatrização).

Dado o risco de desenvolvimento de coarctação da aorta, deve ser realizado um ecocardiograma de três em três anos.

Quando o mosaicismo envolve a presença do cromossoma Y (45,X/46,XY), ou um fragmento do cromossoma Y, existe um risco elevado de desenvolvimento de gonadoblastoma, pelo que está aconselhada a laparoscopia exploradora e a remoção cirúrgica das gónadas durante a infância. A existência de sinais de masculinização dos genitais deve alertar para este tipo de mosaico e para a necessidade da sua caracterização.

6. SÍNDROMA DE KLINEFELTER

A trissomia 47,XXY foi inicialmente descrita por Klinefelter, em 1942. É uma aneuploidia com uma prevalência aproximada de 1/600 recém-nascidos do sexo masculino. Resulta da presença de um cromossoma X supranumerário num indivíduo com fenótipo masculino, devido a não-disjunção num dos progenitores (Tabelas XIV.2, XIV.3 e XIV.4). A não-disjunção causadora desta síndrome tem lugar na mãe ou no pai, em proporções aproximadamente iguais. Há alguma relação com a idade materna, embora não seja tão aparente como para as demais trissomias.

Caberá referir que em polissomias X mais extensas do que a que ocorre na síndrome de Klinefelter (v.g., 48,XXX; 49,XXXXY), à medida que o número de cromossomas X aumenta, se vai acentuando a redução da

capacidade intelectual e surgem também malformações cardiovasculares, ósseas e da face.

6.1. ASPECTOS CLÍNICOS

Como aspectos clínicos que alertam para o diagnóstico de síndrome de Klinefelter salientam-se o hipogonadismo, a microorquidia, a esterilidade por azoospermia, a ginecomastia (30% dos casos), a aparência eunucóide e a elevação dos valores séricos das gonadotrofinas FSH e LH e marcada redução dos níveis de testosterona. No entanto, vários dos parâmetros anteriores podem não estar presentes. Aliás, muitos dos indivíduos com esta síndrome não são diagnosticados. Por isso, a afirmação de uma condição como síndrome de Klinefelter deverá assentar em hipogonadismo masculino associado a um cariótipo 47,XXY.

Na síndrome de Klinefelter, a diferenciação dos canais de Wolf é normal, bem como da genitália externa. Ao nascer, os testículos aparentam um tamanho e uma consistência normais e, pelo menos até à puberdade, podem-se encontrar células da linha espermatogénica. No adulto, a regra é a presença de microorquidia traduzida num comprimento dos testículos entre 1 a 2 centímetros, comparativamente com 3,5 a 4,5 centímetros nos indivíduos normais. A degenerescência dos túbulos seminíferos ocorre durante a infância e é bem manifesta na puberdade. Frequentemente, a severidade das alterações observadas nos túbulos seminíferos é diversa, em diferentes cortes histológicos e mesmo num mesmo corte. Alguns túbulos podem apresentar apenas uma ligeira diminuição do diâmetro e um número elevado de células de Sertoli e outros podem-se apresentar completamente hialinizados. Em alguns túbulos, embora raros, podem-se encontrar algumas células da linha espermatogénica, pelo que, excepcionalmente, os doentes podem produzir espermatozóides maduros, estando descritos casos de indivíduos férteis, nomeadamente jovens, quando está presente mosaicismo 46,XY/47,XXY. As células intersticiais de Leydig apresentam hiperplasia.

Para além dos aspectos já enunciados, refira-se ainda a elevada estatura sobretudo devida ao comprimento dos membros inferiores. A clinodactilia está presente em 25% dos casos. Não há atraso mental, embora a inteligência tenda a ser mais reduzida do que em irmãos. As dificuldades de

aprendizagem, sobretudo para a leitura, são frequentes e há uma maior susceptibilidade para problemas comportamentais em condições de "stress" e para a depressão. A auto-imagem dos doentes com síndrome de Klinefelter é deficiente, sentem-se frustrados com facilidade e a capacidade para a relação interpessoal é fraca. Apesar do fenótipo masculino, há, frequentemente, um fraco crescimento da barba. O pénis é habitualmente de tamanho normal. A líbido está diminuída, embora possa haver ereções, coito e ejaculações nos portadores desta síndrome. Na generalidade dos casos, há esterilidade. Entre os homens saudáveis, com esterilidade inexplicada nas consultas de Genética, cerca de 10% tem hipogonadismo por síndrome de Klinefelter.

Há um risco acrescido para cancro da mama nos indivíduos adultos e para tumores de células germinais, bem como para osteoporose e doenças autoimunes.

6.2. ASPECTOS CITOGENÉTICOS

A trissomia 47,XXY está presente em cerca de 85% dos casos de síndrome de Klinefelter. O mosaicismo 46,XY/47,XXY ocupa quase por inteiro os restantes 15% de casos, embora tenham sido encontrados outros mosaicos mais raros, como o 46,XX/47,XXY ou o 46,XX/46,XY/47,XXY.

6.3. TRATAMENTO

O atraso na fala e os problemas de linguagem e de aprendizagem podem exigir cuidados médicos e educativos suplementares.

Na altura da puberdade, os portadores de síndrome de Klinefelter devem ser esclarecidos sobre a sua condição e sobre as consequências que daí advêm. A administração de um suplemento de testosterona, com início na puberdade, melhora significativamente as questões comportamentais, de auto-imagem e de líbido, fazendo com que os doentes se sintam bem. Dada a eventual hipertrofia da próstata como efeito secundário da administração de testosterona, está indicado fazer a vigilância clínica deste órgão a partir dos 30 anos de idade.

Quando a ginecomastia é significativa pode estar indicada a cirurgia plástica.

7. TRISSOMIA XYY

A trissomia XYY tem uma prevalência aproximada de 1/1.000 recém-nascidos do sexo masculino. A origem do cromossoma Y supranumerário resulta de não-disjunção meiótica paterna (Tabela XIV.4).

Na trissomia XYY, em geral não há manifestações significativas a nível do fenótipo, sendo a estatura maior do que a média para a população, como o dado mais saliente. A confirmação diagnóstica é feita pelo cariótipo.

Os portadores desta trissomia tendem a apresentar fraco desenvolvimento da musculatura peitoral e da cintura escapular e uma deficiente coordenação motora dos movimentos finos. O tamanho dos dentes, pode estar aumentado. Na adolescência, há acne nodulocística severo.

A capacidade intelectual está dentro dos parâmetros normais, embora possa estar ligeiramente diminuída em relação a irmãos, observando-se algumas dificuldades de aprendizagem, sobretudo a nível da linguagem. O comportamento agressivo não é um problema habitual.

Os portadores de trissomia XYY são maioritariamente férteis, não havendo risco significativo de ter filhos com esta trissomia. Ocasionalmente, pode-se observar criptorquidia, redução do tamanho do pênis ou hipospadias.

8. TRISSOMIA XXX

A trissomia XXX tem uma prevalência de cerca de 1/1.000 recém-nascidos do sexo feminino. A maioria dos casos tem origem em não-disjunção materna (Tabela XIV.2), verificando-se aumento da incidência com o avanço da idade materna.

As manifestações fenotípicas são pouco aparentes, podendo observar-se hipertelorismo e anomalias esqueléticas. A inteligência está dentro das variações normais, embora possa haver um ligeiro défice comparativamente com irmãos. Frequentemente, há problemas com a linguagem verbal, havendo também, com frequência, necessidade de apoios educativos acrescidos. A fertilidade não é afectada e a transmissão de um cromossoma supranumerário a um descendente é improvável.

(Página deixada propositadamente em branco)

CAPÍTULO XV

GENÉTICA DO DESENVOLVIMENTO

1. INTRODUÇÃO

As semelhanças moleculares encontradas entre indivíduos de espécies diferentes são hoje um dado adquirido. Tais resultados levantam questões relacionadas com a filogénese. Segundo Haeckel, a ontogénese recapitula a filogénese, o que pode ser provado pela expressão fenotípica, durante a ontogénese, de características pertencentes a formas ancestrais. Como é que isto é possível? Monod afirma que o genoma do zigoto é o repositório de todo o passado filogenético dos antepassados que o produziram. De facto, no genoma de espécies filogeneticamente muito distantes, foram encontradas sequências de DNA altamente conservadas.

O desenvolvimento dos seres eucariotas superiores baseia-se na utilização de diferentes genes, cujos produtos condicionam o aparecimento de diferentes fenótipos. Pode, contudo, afirmar-se que um novo ser pluricelular superior como o homem existe quando, na célula resultante da junção dos gametas masculino e feminino, entram em funcionamento os mecanismos de replicação do seu DNA, com a consequente divisão celular. Não sendo claro o que põe em acção os primeiros genes, pensa-se, contudo, que a transcrição sucessiva de diferentes genes é determinada por uma rede reguladora, provavelmente mediada por RNA e/ou por proteínas, que actuam em cascata, e na qual os produtos dos genes inicialmente transcritos determinam quais os genes a serem expressos na fase seguinte do desenvolvimento e assim sucessivamente até ao fenótipo adulto.

O conjunto de acontecimentos que medeiam entre uma vida humana unicelular sob a forma de ovo ou zigoto e um ser humano adulto designa-se, globalmente, como desenvolvimento ontogénico. Este processo inicia-se com a fecundação de um ovócito por um espermatozóide e a reactivação do processo meiótico ovocitário (suspenso na metafase da segunda divisão da meiose), que conduz à libertação do segundo glóbulo polar. Subsequentemente, os dois pró-núcleos masculino e feminino fundem-se, restaurando o complemento cromossómico diplóide da espécie humana e forma-se o ovo ou zigoto.

No processo que origina uma nova vida, há um contributo assimétrico entre o pai e a mãe. Assim, a mãe é a única responsável pela transmissão da informação genética mediada pelas mitocôndrias, dado que estas têm origem exclusivamente feminina. O RNA e as proteínas presentes no citoplasma do ovo são também de origem materna. Após a fecundação, a mãe é a responsável pela alimentação do embrião e, mais tarde, do feto, mas também pela exposição a factores ambientais eventualmente teratogénicos ou mutagénicos.

A identidade génica em relação ao DNA nuclear do ovo diplóide vai-se manter ao longo do desenvolvimento e durante a vida, para as cerca de 10^{14} células nucleadas de um ser humano adulto. São excepções, os linfócitos B maduros em que há recombinação somática das sequências de DNA que codificam as cadeias das imunoglobulinas, os gâmetas devido à redução haplóide do seu complemento cromossómico e as células do organismo em que ocorram mutações.

Havendo identidade génica para as células do embrião, a aquisição das capacidades funcionais e morfológicas diversificadas dos cerca de 200 tipos de células diferentes de um ser humano ocorre por expressão diferenciada dos genes em termos temporais e espaciais. Assim, desde muito cedo, observa-se diferenciação em tecidos e órgãos. Durante o período que medeia entre a fecundação e as oito semanas de desenvolvimento, o ser humano em desenvolvimento designa-se por embrião. Após as oito semanas e até ao nascimento, designa-se por feto.

Como factores determinantes do desenvolvimento embrionário salientam-se o momento em que determinados genes são expressos, o lugar do embrião em que são expressos, a sequência pela qual são expressos (“cascata de acontecimentos”), a quantidade e a qualidade das proteínas expressas.

Por razões éticas e metodológicas, o estudo do desenvolvimento humano não pode ser objecto de procedimentos experimentais em embriões e fetos humanos. Assim, o conhecimento adquirido tem sido gerado de forma indirecta, em grande parte pelo estudo de anomalias congénitas em correlação com anomalias genéticas espontâneas ou resultantes da exposição eventual a agentes ambientais ou hormonais, do estudo do desenvolvimento de outros seres vivos filogeneticamente diversos e da experimentação animal em modelos concebidos para reproduzirem condições semelhantes às que estão implicadas em processos normais ou patogénicos observados na espécie humana.

Os estudos comparativos do desenvolvimento de diversas espécies animais permitem sustentar que há múltiplos mecanismos e factores comuns, mesmo entre espécies filogeneticamente muito distantes. Para alguns genes associados ao desenvolvimento do homem foi identificada uma elevada homologia estrutural e funcional em relação a espécies tão distantes como a mosca *Drosophila* (500 milhões de anos) ou o ratinho (60 milhões de anos). Um exemplo dramático vem de estudos realizados com o gene *Pax6* do ratinho que, quando implantado em lugar anómalo do embrião da mosca induz a formação de um olho ectópico. As alterações do gene humano *PAX6*, homólogo do gene *Pax6* do ratinho e do gene *eyeless* da *Drosophila*, também têm reflexos a nível ocular na espécie humana com ocorrência de aniridia (ausência da íris) e de cataratas.

Os genes envolvidos nos processos da embriogénese actuam de diversas formas, sendo a mais comum a expressão de factores de transcrição. Assim, a expressão de um gene vai influenciar a expressão de uma segunda ordem de genes e os produtos proteicos codificados por estes irão influenciar a expressão de uma terceira ordem de genes. Outro grupo de genes está envolvido na codificação de receptores de membrana para factores originados em células vizinhas (factores parácrinos). Os factores parácrinos (v.g., factores de crescimento como o FGF ou o TGF β) resultam da expressão de outro grupo de genes envolvidos na indução da determinação de células vizinhas. Têm sido também identificadas moléculas químicas que funcionam como factores morfogenéticos, de que é exemplo o ácido retinóico na formação dos dedos (o ácido retinóico é teratogénico, quando administrado durante a gravidez).

2. DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E FETAL

O ovo ou zigoto resulta da fecundação de um ovócito por um espermatozóide. A fecundação reconstitui o número diplóide de cromossomas da espécie humana.

O ovo ou zigoto humano é uma célula com capacidade para se dividir. No prazo de cerca de 24 horas após a fecundação, o ovo duplica a informação genética, por replicação do DNA, e divide-se em duas células idênticas designadas blastómeros. Seguidamente, cada blastómero origina dois blastómeros também idênticos, pelo que o embrião fica com quatro células idênticas. As divisões mitóticas vão continuar nestes quatro blastómeros e, sucessivamente, em cada nova célula (Fig. XV.1). As primeiras divisões do embrião são controladas por RNA e/ou proteínas presentes no citoplasma do ovócito. No entanto, cedo começa a expressão de genes embrionários.

As divisões dos blastómeros ocorrem à medida que o embrião se desloca ao longo da trompa de Falópio, em direcção ao útero. Na fase de 12 a 16 células, com os blastómeros compactados uns contra os outros, o embrião tem a forma de uma amora, pelo que se designa mórula. Passaram, até este momento, cerca de quatro dias após a fecundação. Nesta altura, a mórula chega à cavidade uterina, mantendo-se, em contínuo, a multiplicação celular.

Pelo quinto dia surgem espaços ocupados por líquido entre os blastómeros, constituindo-se o blastocisto. A curto prazo, as células do blastocisto vão organizar-se em dois grupos celulares, sendo assim visíveis, pela primeira vez, aspectos de diferenciação celular. Forma-se uma camada externa de células designada trofoblasto, destinada a diferenciar-se na parte fetal da placenta e uma parte interna designada massa celular interna ou embrioblasto. Das células do embrioblasto vão derivar as estruturas do ser humano na sua vida intrauterina e extrauterina.

O blastocisto mantém-se livre na cavidade uterina, em média até ao 6º-7º dias após a fecundação, nutrindo-se a partir das secreções uterinas. Findo este período, ocorre a nidação, ou seja a implantação do embrião no endométrio. Para o desenvolvimento da nidação concorrem as células do trofoblasto que se diferenciam em citotrofoblasto e sinciotrofoblasto.

Na altura da nidação, o sinciciotrofoblasto já produz uma hormona designada gonadotrofina coriónica humana que, através da circulação materna, vai influenciar a manutenção do endométrio e o desenvolvimento da gravidez. É possível dosear os níveis desta hormona no sangue materno, o que está na base da detecção precoce de gravidez. No entanto, desde a fase de embrião de oito células que há produção de gonadotrofina coriónica, em quantidades que não permitem a sua detecção no sangue periférico, ainda que detectável *in vitro*.

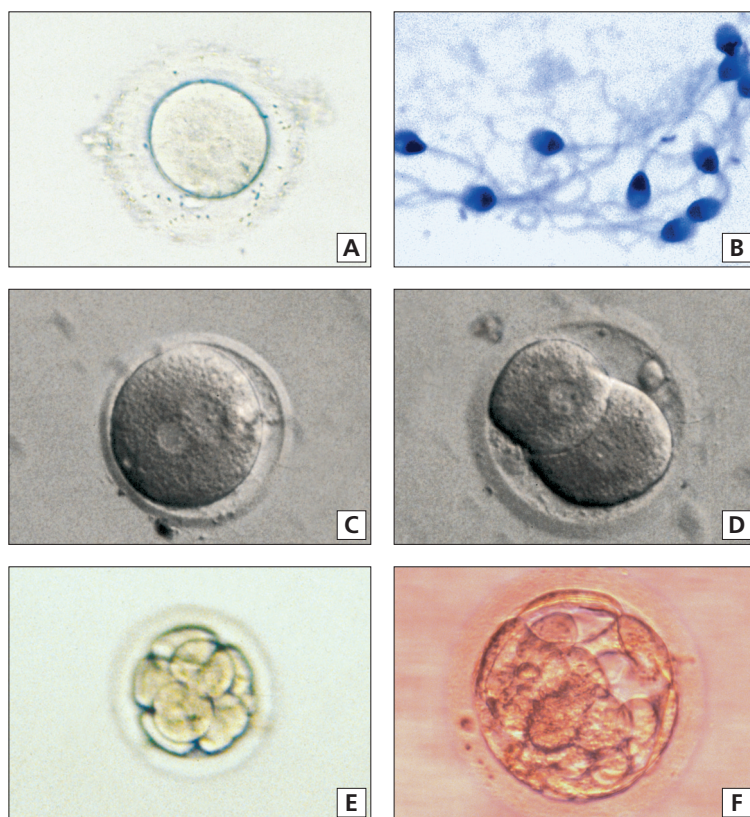


Fig. XV.1 – A - Ovócito em metafase II (é visível um globo polar); B - Espermatozóides humanos fixados e posteriormente corados com Giemsa; C - Zigoto, em que se observam dois pronúcleos em aposição e dois globos polares no espaço peri-vitelino; D - Embrião humano de duas células; E - Embrião humano de oito células; F - Embrião humano com cinco dias em que o blastocelo já está em formação.

A nidação completa-se pelo fim da 2ª semana após a fecundação. Durante a segunda semana, enquanto decorre a implantação do blastocisto, a massa celular interna ou embrioblasto diferencia-se em duas camadas designadas epiblasto e hipoblasto, constituído-se assim o disco embrionário bilaminar. Também durante a 2ª semana, entre o 8º e o 9º dia, forma-se a cavidade amniótica, um espaço entre a massa celular interna e as células do citotrofoblasto.

No início da 3ª semana tem lugar a gastrulação caracterizada pela diferenciação da mesoderme e a consequente formação do disco embrionário trilaminar constituído por ectoderme (adjacente à cavidade amniótica), mesoderme e endoderme. Os três folhetos têm origem nas células do epiblasto. A partir destes três folhetos, desenvolvem-se todas as estruturas do corpo humano.

Durante a 3ª semana começam a desenvolver-se os esboços primordiais do sistema nervoso central. Cerca do meio da 4ª semana, os bordos das pregas neurais, então existentes como primórdios do sistema nervoso, vão-se fundir e originar o tubo neural. A partir do tubo neural, vai formar-se o sistema nervoso central.

A 3ª semana do desenvolvimento embrionário caracteriza-se por ter início a morfogénese, ou seja o desenvolvimento das formas do corpo humano. Pelo fim da 3ª semana começa a formação dos sómitos que hão-de originar a maior parte do esqueleto axial, da musculatura do tronco e dos membros e a derme. Tem ainda lugar, o início da diferenciação do sistema cardiovascular, com diferenciação de um coração tubular. Os batimentos cardíacos registam-se ao fim de 21-22 dias de desenvolvimento embrionário. Posteriormente, entre a 4ª e a 7ª semanas vai ocorrer a formação das quatro cavidades cardíacas.

Durante a 4ª semana, as células germinais primordiais, localizadas na parede posterior do saco vitelino, migram para as cristas genitais que atingem pelo fim da 5ª semana. Nesta altura são cerca de 1.000 a 2.000 células germinais. Por vezes, durante a migração, há células germinais que se fixam de forma anormal em tecidos extra-gonadais. Posteriormente, embora raramente, podem originar teratomas.

No final da 4ª semana, aparecem os esboços dos membros, do ouvido interno e do cristalino. Durante a 4ª semana tem também início a formação do tubo digestivo.

O decurso da 4ª semana é um tempo muito crítico no que respeita ao efeito de agentes teratogénicos e ao desenvolvimento de anomalias congénitas graves, dada a fase crucial de evolução em que se encontram os diversos órgãos.

Pela 6ª semana são visíveis os esboços dos dedos. A separação dos dedos ocorre pelo fim da 8ª semana.

Tabela XV.1. Etapas mais significativas do desenvolvimento intra-uterino

TEMPO (após a fecundação)	TIPO DE OCORRÊNCIA EMBRIONÁRIA OU FETAL
24 horas	1ª divisão do ovo (embrião com dois blastómeros)
4 dias	Mórula (12-16 blastómeros), chegada à cavidade uterina
5 dias	Blastocisto (cavidade entre as células; diferenciação celular em trofoblasto e massa celular interna)
6-7 dias	Diferenciação do trofoblasto em citotrofoblasto e sinciotrofoblasto. Nidação. Sinciotrofoblasto produz gonadotrofina coriônica humana
2ª semana	A massa celular interna diferencia-se em epiblasto e hipoblasto. Células do epiblasto migram para o espaço do hipoblasto e substituem estas células
12 dias	Constitui-se o disco embrionário bilaminar (ectoderme e endoderme). Embrião com 0,2mm
Fim da 2ª semana	Termina a nidação
14 a 16 dias	Gastrulação (forma-se a linha primitiva; células da ectoderme migram para o espaço entre a ectoderme e a endoderme e constitui-se a mesoderme; constitui-se o disco embrionário trilaminar). Embrião com 1mm
16 dias	O embrião é constituído por cerca de 5.000 células
3ª semana	Início da morfogénese
3ª semana	Esboços primordiais do sistema nervoso central
Fim da 3ª semana	Formação dos sómitos. Início da diferenciação do sistema cardiovascular (coração tubular)
21-22 dias	Primeiros batimentos cardíacos
Meio da 4ª semana	Tubo neural
4ª a 8ª semanas	Organogénese. Tempo muito crítico em termos teratogénicos. Migração das células germinais para a crista genital (chegada pelo fim da 5ª semana). Esboços dos membros, do ouvido interno, do cristalino. Início de formação do tubo digestivo
4ª a 7ª semanas	Formação das quatro cavidades cardíacas
6ª semana	Esboços dos dedos
7ª semana	Diferenciação gonadal masculina ou feminina
8ª semana	Separação dos dedos. Movimentos dos membros com objectivos. Pálpebras
Final da 8ª semana	Forma humana. Embrião com 4cm
Além da 8ª semana	Feto
9ª a 12ª semanas	Formação de urina
10ª semana	Fusão do palato
12ª semana	Ossificação. Diferenciação genital externa
14ª semana	Movimentos oculares
17ª a 20ª semanas	Mãe começa a sentir os movimentos do feto
26ª semana	Maturidade respiratória que possibilita a sobrevivência pós-parto
38ª semana	Tempo de gestação completo. Feto com 50cm

Nota: Convencionalmente, o tempo de gravidez conta-se a partir do primeiro dia da última menstruação antes da concepção. Este facto implica que se atribua uma duração próxima de 40 semanas a uma gestação normal.

Durante a 8ª semana, os membros começam a ter movimentos com objectivos determinados. No final da 8ª semana, são visíveis as pálpebras. Nesta altura, o embrião apresenta uma forma humana muito clara e já estão em desenvolvimento os principais sistemas orgânicos, embora com uma actividade funcional reduzida.

A partir da 8ª semana o ser humano em desenvolvimento designa-se por feto.

A formação de urina começa entre a 9ª e a 12ª semana, sendo excretada para o líquido amniótico. O feto deglute e reabsorve parte do líquido amniótico.

A ossificação começa cerca das 12 semanas. Há movimentos oculares por volta das 14 semanas. Entre as 17 e as 20 semanas de gestação, a mãe começa a sentir os movimentos do feto.

Às 24 semanas, há células pulmonares (pneumócitos tipo II) com capacidade para sintetizar surfactante e começam a formar-se os sacos alveolares. Às 26 semanas, os pulmões têm maturidade suficiente para permitir a sobrevivência se ocorrer parto prematuro, uma vez que permitem a respiração. No entanto, o desenvolvimento pulmonar vai continuar até cerca dos 8 anos, sendo que cerca de 95% dos alvéolos pulmonares se desenvolvem após o nascimento. A nível do sistema nervoso central, a maturação é também suficiente para regular o ritmo respiratório e controlar a temperatura corporal.

Ao fim de 38 semanas, o tempo de gestação está terminado.

3. GENES HOMEÓTICOS

O desenvolvimento embrionário e fetal processa-se segundo os eixos dorso-ventral, antero-posterior e esquerdo-direito. O estabelecimento dos eixos é mediado pela expressão de genes.

No desenvolvimento do eixo antero-posterior está envolvido um “cluster” de genes que codifica factores de transcrição com uma região comum, altamente conservada ao longo da evolução filogenética, designada “homeobox” ou sequência “homeo”. Uma das constatações notáveis, verificada nas sequências “homeo”, foi a sua semelhança entre espécies tão distintas como a mosca, o ratinho e o homem. Esta semelhança parece indicar

que os genes com sequências “homeo” desempenham um papel idêntico nas diferentes espécies, o que, por sua vez, implica que espécies diferentes tenham um processo semelhante de controlo génico do desenvolvimento.

As sequências “homeo” presentes nos genes com “homeoboxes” têm uma extensão de cerca de 180 bp e codificam sequências polipeptídicas de 60 aminoácidos. As proteínas com estas sequências aparecem envolvidas no controlo da ontogénese nas suas componentes temporal e espacial. Os produtos dos genes com “homeoboxes” ocorrem precocemente no decurso do desenvolvimento embrionário, o que é sugestivo da sua relação com o controlo da embriogénese. Presumivelmente, controlam a hierarquia da expressão de determinados genes funcionando como factores de transcrição, de modo a permitirem que as partes de um organismo se desenvolvam no lugar adequado.

Os genes homeóticos humanos designam-se como genes *HOX*. Agrupam-se em quatro famílias: *HOX-A*, *HOX-B*, *HOX-C* e *HOX-D*, localizados respectivamente nos cromossomas 7p, 17q, 12q e 2q. Cada família é constituída por uma série de genes parálogos numerados por ordem crescente. A expressão dos genes *HOX* de uma família obedece a orientação temporal e espacial. Ocorre de forma sequencial, pela ordem que se encontram no cromossoma.

Assim, e como exemplo da actuação dos genes *HOX* registe-se a formação dos dedos, em que estão envolvidos os genes 9 a 13 da família *HOX-D* (Fig. XV.2). A expressão do gene *D9* na mesoderme terminal do membro determina a formação do 1º dedo. No território do 2º dedo, a expressão de *D9* é necessária para que haja expressão de *D10* e a consequente formação do 2º dedo. No território do 3º dedo, a expressão prévia de *D9* e *D10* induz a expressão de *D11* e a formação do 3º dedo. Pela mesma lógica, na formação do 4º dedo estão envolvidos os genes *D9* a *D12* e na formação do 5º dedo, os genes *D9* a *D13*.

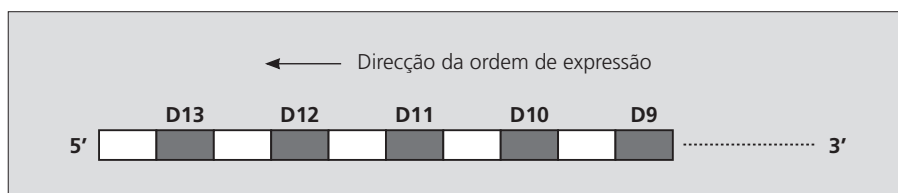


Fig. XV.2 – Genes D9 a D13, da família *HOX-D*, envolvidos na formação dos dedos. A sua expressão é temporal e espacialmente orientada.

No desenvolvimento dos membros está envolvido o gene *C6* da família *HOX-C*, na formação dos arcos faríngeos estão envolvidos genes da família *HOX-B*, e a especificação dos sómitos é controlada pela combinação de genes *HOX*.

No estabelecimento dos eixos dorso-ventral e esquerda-direita, o gene *SHH* surge como um dos intervenientes (gene humano equivalente ao gene *Sonic hedgehog*, abreviadamente designado *shh*). O gene *SHH* parece estar envolvido no desenvolvimento de sistema nervoso central. Assim, quando o gene *SHH* está mutado pode ocorrer holoprosencefalia ou haver apenas manifestações frustes da presença da mutação traduzidas na presença de um dente incisivo único, na linha média do maxilar superior.

As mutações a nível dos genes homeóticos podem afectar de um modo intenso o desenvolvimento do fenótipo, como se verificou na mosca *Drosophila melanogaster* com desenvolvimento de órgãos em lugares anómalos, como seja uma pata no lugar de uma antena, ou de uma antena a partir da boca. Na espécie humana, as manifestações da síndrome de DiGeorge resultam de uma mutação num gene com sequências "homeo", o que se traduz em ausência de timo, de glândulas paratiroideias e de anomalias de desenvolvimento da boca, da garganta, do nariz e das orelhas. A existência de alterações do gene *HOX-C6* é uma das causas de anomalias congénitas dos membros, que se traduz em ausência de um membro ou de todos os membros (amelia).

4. DETERMINAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO EMBRIONÁRIA E FETAL

A hierarquia da expressão génica e a inactivação de genes previamente expressos conduz à restrição das células do embrião e à sua determinação e diferenciação. Assim, num embrião de ratinho de oito células, todas as células são ainda totipotentes (podem originar qualquer célula diferenciada do embrião e os anexos embrionários, ou mesmo outro organismo). Na mórula de 16 células, algumas ainda continuam totipotentes. Contudo, com a formação do blastocisto, ocorre a restrição do primeiro grupo de células. As células da massa celular interna são pluripotentes, no sentido de poderem dar origem a qualquer célula do embrião, e as células externas do blastocisto passam a estar comprometidas no sentido de originarem o trofoblasto

extra-embriônico, sem possibilidade de originarem células do embrião. Em fases subsequentes, as células da massa celular interna sofrem determinações que vão fixando o seu destino e restringindo cada vez mais o seu potencial. Como exemplo, refira-se o que se passa com a ectoderme do embrião. A natureza multipotente das células da ectoderme traduz-se na sua capacidade para originar as estruturas centrais e periféricas do sistema nervoso, as células pigmentares, a córnea, o cristalino, a íris, a retina, o ouvido interno, a epiderme, o cabelo, os pêlos, as glândulas mamárias e as glândulas da pele. No entanto, a diferenciação da ectoderme nestes diferentes tipos de células passa por um primeiro nível de determinação, pelo qual as células originam subgrupos de células ainda multipotentes, como as células neuroepiteliais. Em relação às células neuroepiteliais, um nível subsequente de determinação restringe ainda mais o seu potencial, fazendo-as evoluir para células progenitoras dos neurónios e para células multipotentes progenitoras das células da glia. As células progenitoras da glia, após um nível final de determinação, originam os grupos de células progenitoras dos oligodendrócitos, dos astrócitos e das células radiais.

A seguir à determinação, ocorre a diferenciação celular, um processo que resulta da expressão de genes responsáveis pela aquisição da morfologia e da função características das células. Como consequência destes processos formam-se no organismo humano mais de duzentos tipos diferentes de células.

5. MOLA HIDATIFORME

Nos casos de mola hidatiforme há um desenvolvimento anómalo durante a gravidez. Há dois tipos de mola: a mola hidatiforme completa e a mola hidatiforme parcial.

A mola hidatiforme completa tem na sua origem uma condição de diandria, em que os cromossomas são todos de origem paterna e as mitocôndrias de origem materna. É uma condição rara, com uma frequência de 1/2.000 gravidezes. Caracteriza-se por hiperplasia extensa do trofoblasto, vilosidades coriônicas edemaciadas, ausência de desenvolvimento fetal, níveis muito elevados de gonadotrofina coriônica (hCG), sofrimento materno du-

rante a gravidez com vômitos, pré-eclampsia até às 20 semanas e aborto espontâneo. Está ainda associada a malignização do trofoblasto.

A ocorrência de mola hidatiforme devida a diandria contraria o conceito da genética clássica que sustenta que a expressão dos genes é independente do sexo do progenitor a partir do qual é herdado. Por outro lado, reforça a importância do "imprinting" nas perturbações do desenvolvimento embrionário quando o complemento cromossoma do ovo é uniparental.

As molas hidatiformes parciais são frequentemente devidas a triploidia, com dois complementos cromossómicos paternos (por dispermia ou endoreduplicação) e um materno. Este tipo de mola caracteriza-se por hiperplasia focal do trofoblasto, alterações de algumas vilosidades e o feto raramente sobrevive.

Nos casos de mola hidatiforme completa, há um risco de recorrência de 1%, para uma nova gravidez

6. DETERMINAÇÃO SEXUAL

A espécie humana é dimórfica, uma vez que os dois sexos são fenotipicamente distintos. O dimorfismo está também presente a nível dos cromossomas sexuais. O sexo cromossómico de um embrião é determinado no momento da fecundação do ovócito. Se um ovócito 23,X é fecundado por um espermatozóide 23,X origina-se um embrião em que o sexo cromossómico é feminino, ou seja 46,XX. Se um ovócito 23,X é fecundado por um espermatozóide 23,Y, origina-se um embrião em que o sexo cromossómico é masculino, ou seja 46,XY (Fig. XV.3).

Em embriões com um complemento cromossómico X anormal, o número de cromossomas não parece afectar a determinação sexual. Desde que esteja presente um cromossoma Y normal ou, melhor, desde que esteja presente o gene *SRY*, o embrião terá uma diferenciação sexual masculina.

Num embrião 46,XX, na ausência de cromossoma Y ou do gene *SRY*, haverá diferenciação sexual feminina. Contudo, a presença de apenas um cromossoma X afecta o normal desenvolvimento gonadal para ovário, ainda que não interfira com a migração das células germinais para as cristas genitais.

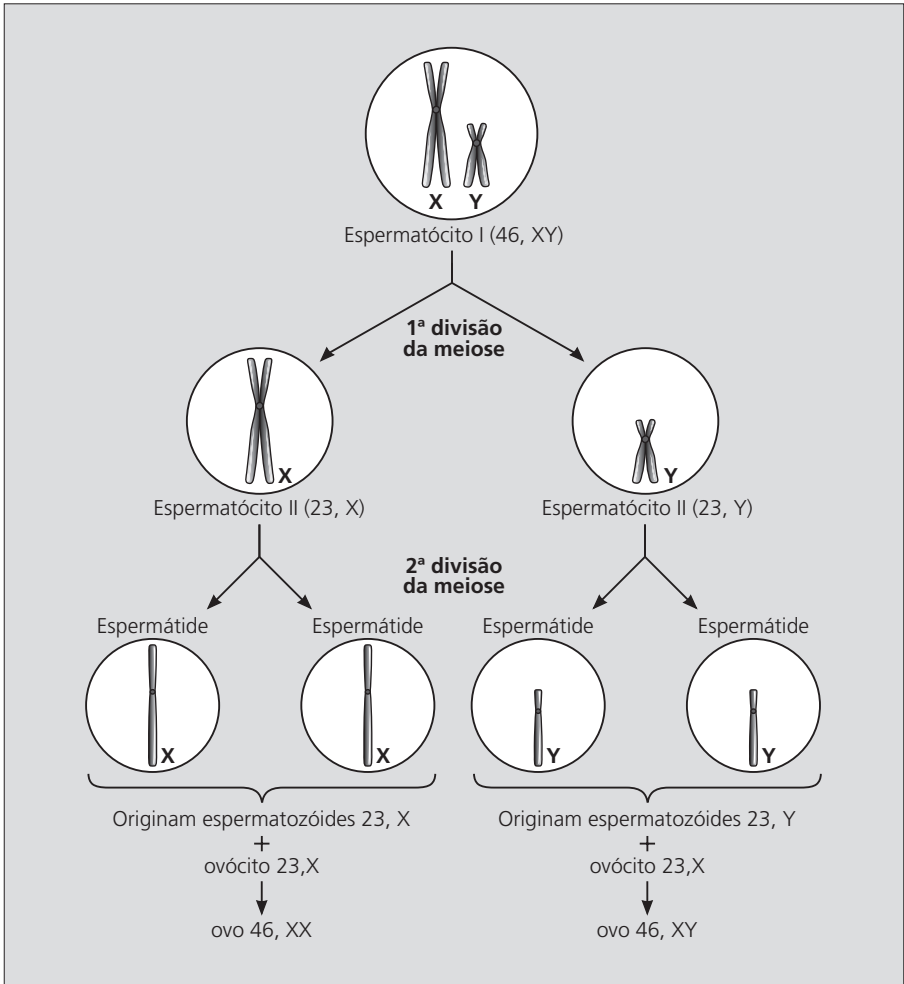


Fig. XV.3 – Fases da espermatogénese e determinação do sexo cromossómico.

7. LIONIZAÇÃO

Nas fases precoces do desenvolvimento embrionário, ao 16º dia de vida do embrião, um dos cromossomas X das mulheres 46,XX é inativado nas células somáticas, mediante um fenómeno descrito por Mary Lyon em 1961 e, por isso, designado lionização. Nas mulheres com mais do que dois

cromossomas X apenas um não é inativado. Nos indivíduos do sexo masculino com mais do que um cromossoma X, verifica-se igualmente lionização dos cromossomas X excedentários. Assim, a lionização funciona como um mecanismo de regulação da dosagem génica restringindo a um cromossoma X a disponibilidade funcional para codificação, com excepção das pequenas regiões pseudo-autossómicas, seja no homem ou na mulher. Doutro modo, haveria o dobro dos alelos disponíveis na mulher quando comparada com a hemizigotia masculina.

A lionização ocorre ao acaso em cada célula, para um dos dois cromossomas X. A partir daí, todas as células descendentes de uma determinada célula apresentam o mesmo cromossoma X inativado. Apenas na gametogénese, o padrão de inactivação é desfeito. Desta forma, uma mulher é um mosaico de células em que cerca de 50% têm inativado o cromossoma X com origem paterna e as restantes têm inativado o cromossoma X materno. Sendo a inactivação feita ao acaso, uma mulher heterozigótica para uma mutação recessiva ligada ao X terá metade das células em que o cromossoma inativado contém o alelo com a mutação e que exprimirão o alelo normal e outra metade que tendo inativado o alelo normal e sendo o outro alelo mutado correspondem funcionalmente a uma condição de homozigotia recessiva.

Por vezes, a inactivação não é feita ao acaso e a percentagem de células com um dos cromossomas X inativado é maior do que a percentagem de células com o cromossoma X homólogo. Nos casos de *incontinentia pigmenti*, observa-se, durante a primeira semana de vida dos recém-nascidos do sexo feminino portadores da mutação, uma reacção inflamatória cutânea que poderá representar a morte de células em que o cromossoma X mutado não sofreu inactivação e que seriam substituídas por células com o cromossoma normal não inativado. Este facto poderá traduzir a não inactivação do cromossoma X ao acaso em doentes com *incontinentia pigmenti* conforme já foi observado. A lionização assimétrica também parece ocorrer em mulheres portadoras de deleções num cromossoma X. Nestes casos, o cromossoma X com alterações estruturais é objecto de inactivação preferencial. Em contraposição, quando está presente uma translocação de material genético entre um cromossoma X e um autossoma, ocorre inactivação preferencial do cromossoma X normal. Esta preferência poderá ter, como finalidade, evitar que o autossoma que alberga o fragmento do cromossoma

X translocado seja inativado, o que originaria uma monossomia autossômica funcional e, como monossomia autossômica, incompatível com a viabilidade do embrião.

A quase totalidade dos genes do cromossoma X que sofre lionização está inativada, com exceção dos genes localizados nas regiões pseudo-autossômicas e raros genes ao longo do cromossoma. A inativação ocorre por acção do gene *XIST* que apenas é transcrito no cromossoma inativado. O gene *XIST* codifica uma molécula de RNA que se liga ao cromossoma e que desencadeia a inativação.

O mecanismo molecular subjacente à lionização é a metilação de bases citosina. A inativação de um dos cromossomas conduz a um estado de condensação da cromatina designado por heterocromatina funcional. Caracteriza-se por variar em diferentes tipos de células e durante a fase precoce do desenvolvimento embrionário. O cromossoma inativado é de replicação tardia na fase S do ciclo mitótico.

Por microscopia de luz, os cromossomas X inativados podem ser observados em núcleos de células interfásicas (v.g., em cerca de 30% das células de revestimento da mucosa bucal), como uma pequena massa de cromatina intensamente corada, designada cromatina de Barr. Nos neutrófilos de um esfregaço de sangue de uma mulher, o cromossoma X inativado apresenta a forma de baqueta de tambor, numa pequena percentagem de células.

8. GEMELARIDADE

Os gémeos podem ser verdadeiros (monozigóticos ou idênticos) ou falsos (dizigóticos ou não-idênticos). Os casos de gémeos verdadeiros têm uma incidência por gravidez próxima de 0,4%. Os falsos gémeos ocorrem em cerca de 0,6% das gravidezes. A frequência com que ocorrem gravidezes gemelares dizigóticas apresenta variações quando são comparados diferentes grupos populacionais. A gemelaridade é mais rara nas populações asiáticas, com uma incidência de 2 a 7 casos por mil nascimentos, e mais frequente nos povos negros de África, com uma incidência de 45 a 50 casos por mil nascimentos.

Os gémeos monozigóticos resultam de um único ovo ou zigoto inicial, pelo que têm, à partida, 100% de identidade génica. No período pós-zigótico podem ocorrer mutações ou anomalias da divisão mitótica que conduzam ao aparecimento de linhas celulares diferentes entre os irmãos gémeos.

Há diferentes tipos de gémeos monozigóticos consoante o momento em que ocorre a separação dos blastómeros. Assim, quando a separação é muito precoce, entre o estágio de embrião de duas células e o estágio de mórula (antes da diferenciação das células do trofoblasto), os dois embriões assim formados implantam-se de forma autónoma no endométrio, originando uma placentação bicorial biamniótica — cada gémeo tem a sua placenta e o seu saco amniótico.

Se a divisão do embrião é mais tardia, entre o 3º e o 7º dia do desenvolvimento, na fase de blastocisto (após a diferenciação das células do trofoblasto), verifica-se a divisão da massa celular interna em dois grupos de células. Formam-se, assim, gémeos monozigóticos com uma placenta comum, mas cada um com o seu saco amniótico, ou seja, uma gravidez monocorial biamniótica. Os gémeos oriundos da divisão das células da massa celular interna, na fase de blastocisto, são os mais frequentes.

Se a divisão ocorre após a primeira semana, os gémeos partilharão uma placenta e um saco amniótico comuns — gravidez monocorial e monoamniótica, o que é uma situação rara, com uma frequência inferior a 1% dos gémeos monozigóticos.

Quando a divisão do embrião ocorre para além das duas semanas de desenvolvimento, formam-se gémeos siameses⁽¹⁾. Partilham a mesma placenta e o mesmo saco amniótico. Quanto mais tardia for a divisão, maior a extensão das partes do corpo ligadas entre si, podendo chegar à partilha comum de órgãos.

Os falsos gémeos resultam da fecundação de dois ovócitos, cada um por um espermatozóide. Os dois ovos são diferentes e desenvolvem-se simultaneamente durante uma única gravidez, cada um com o seu saco coriônico e a sua placenta (por vezes, se a implantação dos embriões for muito próxima uma da outra, as placentas podem-se fundir numa só, o mesmo ocorrendo com os sacos coriônicos, ainda assim, ficando cada um

⁽¹⁾ A designação “gémeos siameses” resulta da descrição de um par de gémeos que, em 1811, nasceram em Siam (anterior nome da actual Tailândia), ligados por uma faixa de tecido.

com o seu saco amniótico). Por isso, e à semelhança do que se verifica entre dois irmãos com diferentes idades, há 50% de identidade génica. Podem ser, inclusive, de sexos diferentes.

Nos factores de risco para a ocorrência de gémeos dizigóticos incluem-se uma história familiar de gemelaridade, o uso de fármacos indutores da ovulação (v.g., clomifeno) e a idade materna avançada. Para os gémeos monozigóticos não é aparente uma predisposição hereditária, não se verificando aumento de risco para gemelaridade, por haver um caso na família.

9. CLONAGEM

A clonagem é o processo pelo qual se reproduzem moléculas, células ou organismos iguais entre si e a um exemplar único inicial. A clonagem humana compreende o conjunto de procedimentos destinados a obter seres humanos geneticamente idênticos uns aos outros, no que respeita, pelo menos, ao conteúdo de genes localizados no núcleo.

A clonagem pode passar pela divisão das células de um embrião enquanto se mantiverem totipotenciais ou pluripotenciais (clonagem embrionária), ou pela transplantação do núcleo diplóide de uma célula somática de um indivíduo para o citoplasma de um ovócito ou de um ovo previamente enucleado (clonagem somática).

A clonagem embrionária consiste na obtenção de embriões geneticamente idênticos, por separação das células totipotenciais de um embrião. Pode ocorrer de forma espontânea, como acontece com os gémeos verdadeiros (monozigóticos). Em algumas espécies animais, de alto valor comercial, estão estabelecidas metodologias para a clonagem embrionária, de modo a conseguir o desenvolvimento de vários embriões, a partir de um embrião original. Entre os animais assim desenvolvidos, a diversidade genética apenas poderá ocorrer se houver heteroplasmia mitocondrial no ovo, com partilha assimétrica das mitocôndrias pelas células resultantes da sua divisão, e/ou acumulação de mutações pós-embrionárias.

A clonagem somática tem também vindo a ser ensaiada. Trata-se da obtenção de embriões geneticamente idênticos no que respeita ao DNA

nuclear, por transplantação do núcleo diplóide de uma célula somática de um indivíduo para o citoplasma de um ovócito previamente enucleado (Fig. XIV.4). Em 1975 foi descrita a obtenção de girinos transplantando núcleos de queratinócitos de um animal adulto para o citoplasma de um ovo enucleado de uma rã da mesma espécie. Contudo, apenas a 27 de Fevereiro de 1997, foi relatado por Wilmut e Campbell a clonagem de um animal de maior porte — a ovelha “Dolly” —, a partir de células de um ancestral adulto. No início de 2003, a ovelha “Dolly” foi abatida, devido à severidade das doenças que a afectavam.

A parte mais significativa e original do procedimento que conduziu à clonagem da ovelha “Dolly” consistiu na criação de condições que terão possibilitado a regressão da expressão do DNA das células adultas a uma forma inactiva semelhante à que se observa nos espermatozóides ou nos ovócitos, por redução da concentração do soro de 10% para 0,5% no meio de cultura em que as células foram mantidas em proliferação. Desta forma, as células terão sido conduzidas à quiescência própria do estágio G_0 do ciclo celular. Aparentemente, as células terão “apagado” as marcas da sua passagem por uma forma diferenciada da mama do organismo adulto de que foram recolhidas, por inactivação dos genes responsáveis pelo fenótipo funcional adulto. As células ter-se-ão tornado assim totipotentes ou seja sem sinais moleculares de determinação ou diferenciação.

O núcleo de uma destas células somáticas, uma vez transplantado para o citoplasma de um ovócito previamente enucleado, permite que o ovo assim obtido tenha o número normal de cromossomas da espécie. Seguidamente, por acção das proteínas e do RNA acumulados no citoplasma ovocitário, iniciaram-se as mitoses, sem expressão génica durante as primeiras três divisões. Durante estas divisões, o DNA terá sido “reprogramado” pelas proteínas do citoplasma ovocitário. Assim, a abertura da “caixa de Pandora” correspondente à expressão génica sequencial no processo ontogénico de um ser vivo, desde os genes iniciais até aos genes da diferenciação celular, terá ocorrido de forma idêntica à que se observaria se naquela célula se encontrasse o núcleo do ovo e não de uma célula adulta. As “chaves” utilizadas foram as proteínas “informacionais” citoplasmáticas ovocitárias seleccionadas evolutivamente pelo sexo feminino e os acontecimentos embrionários e a sua sequência terão sido, por isso, respeitados.

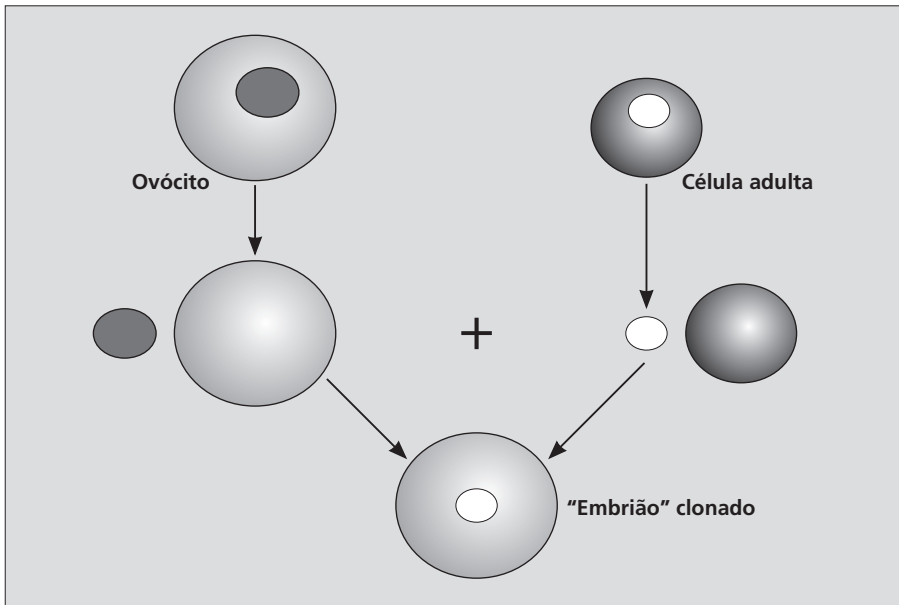


Fig. XV.4 – Esquema dos procedimentos utilizados para clonagem somática. Do ovócito é retirado o núcleo haplóide e, no seu lugar, é implantado um núcleo diplóide recolhido de uma célula somática adulta.

Na clonagem de células somáticas, a identidade genética nuclear do embrião clonado é igual à de todas as células do indivíduo de quem foi obtido o núcleo transplantado, ressalvadas eventuais mutações nucleares e/ou diferenças do DNA mitocondrial presentes no citoplasma do ovócito utilizado. Poder-se-á obter apenas um clone ou poder-se-ão produzir milhares de clones com a mesma informação nuclear do dador dos núcleos.

Os embriões obtidos por clonagem somática podem ser utilizados para fins reprodutivos (“clonagem reprodutiva”) ou para fins terapêuticos (“clonagem terapêutica”). A “clonagem reprodutiva” consiste na obtenção de embriões e na sua implantação intra-uterina para se virem a desenvolver como fetos e originarem novos indivíduos. Os embriões para “clonagem terapêutica” são obtidos da mesma forma e posteriormente desenvolvidos *in vitro* até à fase de blastocisto (sem implantação intra-uterina). Da massa celular interna dos blastocistos, são colhidas células pluripotentes para serem usadas para fins terapêuticos, eventualmente após a indução específica da diferenciação no tipo de células ou tecidos necessários para o tratamento.

10. DIFERENCIAÇÃO GONADAL

Se a evidência recolhida de estudos em ratinhos for compatível com o que acontece no homem, as células germinais primordiais podem resultar de uma diferenciação muito precoce. Na verdade, foi possível demonstrar naquela espécie animal que no epiblasto já é possível identificar células germinais primordiais. Este facto deve ser realçado quando se pensa em mosaicismo gonadal.

Durante a migração desde a parede posterior do saco vitelino para as cristas genitais, as células germinais são sensíveis à acção mitogénica do factor *Steel*, pelo que se verifica proliferação celular.

Embora a determinação sexual ocorra no momento da fecundação, a diferenciação gonádica masculina ou feminina é apenas visível cerca da 7ª semana de desenvolvimento embrionário. Enquanto as gónadas forem indiferenciadas, potencialmente, há a possibilidade de um embrião evoluir fenotipicamente para o sexo masculino ou para o sexo feminino. Se o embrião for 46,XY, originam-se testículos com tubos seminíferos, células intersticiais de Leydig e células de Sertoli, independentemente da presença de células germinais viáveis (Fig. XV.5). Se for 46,XX, constitui-se um ovário, para o que é essencial a presença de células germinais viáveis. Se as células germinais não migrarem até à crista genital ou se degenerarem, como na monossomia 45,X, constituem-se apenas formas vestigiais das gónadas (gónadas em fita).

No ratinho, foi demonstrada a expressão do gene *Sox9* nas cristas genitais, tanto em embriões do sexo masculino como do sexo feminino. No entanto, a antecipar a diferenciação gonadal masculina há um aumento da expressão do gene *Sox9* e a antecipar a diferenciação gonadal feminina observa-se uma diminuição da sua expressão.

11. DESENVOLVIMENTO SEXUAL MASCULINO

A presença de um cromossoma Y é determinante para que o esboço gonadal evolua para testículo e, conseqüentemente, se desenvolva um embrião fenotipicamente do sexo masculino. Contudo, mais do que a

presença do cromossoma Y, é essencial a presença do gene *SRY*. Ao factor de transcrição codificado pelo gene *SRY* é atribuída a função de iniciador de um processo que se continua através da expressão de outros genes envolvidos na diferenciação gonadal (Fig. XV.5).

Nos embriões 46,XY, as células intersticiais de Leydig, que entretanto se diferenciaram no testículo, produzem androgéneos (testosterona e androstenediona) entre a 9ª e a 14ª semanas de desenvolvimento embrionário. Seguidamente, ocorre uma involução destas células e apenas na puberdade volta a haver produção de androgéneos pelas células de Leydig. As moléculas de testosterona ligam-se a receptores citoplasmáticos, funcionando estes complexos como factores de transcrição que actuam sobre sequências intensificadoras activadoras da expressão de genes responsáveis pela diferenciação dos canais de Wolff em epidídimo, vesículas seminais e canal deferente.

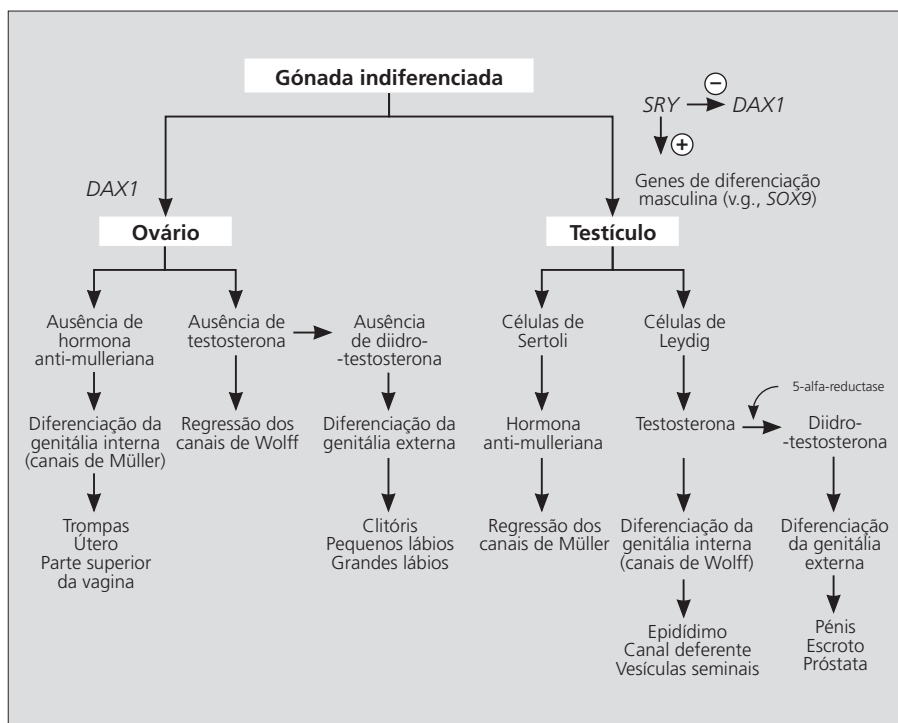


Fig. XV.5 – Diagrama dos passos e dos acontecimentos subjacentes à diferenciação ovárica e testicular e à diferenciação sexual masculina e feminina.

A partir da testosterona forma-se diidrotestosterona por acção da enzima 5-alfa-reductase. Esta enzima é produzida pelos primórdios da genitália externa. A partir da 12ª semana, é possível distinguir morfologicamente um feto como do sexo masculino ou do sexo feminino. Por acção da diidrotestosterona, há diferenciação do pénis a partir do tubérculo genital, do escroto por fusão média das protuberâncias genitais e da próstata a partir do epitélio uretral.

Com a diferenciação testicular ocorre também a diferenciação de células de Sertoli e, pela 8ª semana de gestação, a produção da hormona anti-mulleriana por estas células. A hormona anti-mulleriana β provoca a regressão dos canais de Müller.

Num embrião 46,XX, em que, anormalmente, se encontre o gene *SRY* haverá uma diferenciação masculina idêntica à que se observa na síndrome de Klinefelter. A presença do gene *SRY* num cromossoma X pode dever-se a emparelhamento meiótico assimétrico. De facto, o gene *SRY* localiza-se no braço curto do cromossoma Y, em posição muito próxima da região pseudo-autossómica. Quando ocorre emparelhamento assimétrico, a região pseudo-autossómica do cromossoma Y e uma parte adjacente do seu braço longo correspondente ao *locus* *SRY* emparelham com a região telomérica do cromossoma X envolvida na recombinação meiótica. Assim, durante o "crossing-over", o gene *SRY* pode passar para o cromossoma X, originando-se um gâmeta 23,X, portador do gene *SRY* e um gâmeta 23,Y sem gene *SRY*. O ovo resultante da fecundação de um ovócito 23,X por um espermatozóide 23,X portador do gene *SRY*, dará origem a um embrião 46,XX, contendo no seu genoma uma cópia do gene *SRY*. Este embrião terá um desenvolvimento sexual interno e externo masculino, embora seja citogeneticamente feminino.

12. DESENVOLVIMENTO SEXUAL FEMININO

328

No embrião do sexo feminino 46,XX, pela ausência do gene *SRY*, vai ocorrer a diferenciação das gónadas primitivas em ovário e formação de ovogónias a partir das células germinais primordiais (Fig. XV.5). No princípio do quarto mês de gestação, as ovogónias iniciam a primeira divisão da meiose que pára ainda na profase I, na fase de diplóteno (ovócitos tipo I). Após a puberdade, em cada ciclo menstrual, a meiose é reactivada em alguns

ovócitos. O processo meiótico evolui até à metafase da segunda divisão e é suspenso de novo. Após a ovulação, se ocorrer fecundação do ovócito, completa-se a segunda divisão da meiose.

No embrião do sexo feminino, na ausência de androgéneos (embora haja receptores citoplasmáticos para os androgéneos) e de hormona anti-mulleriana, ocorre a regressão dos canais de Wolff e desenvolvem-se os canais de Müller dando origem às trompas, ao útero e à parte superior da vagina (Fig. XV.5). Dos primórdios dos órgãos genitais externos, originam-se os grandes lábios a partir das protuberâncias genitais, os pequenos lábios a partir das pregas genitais e o clitóris a partir do tubérculo genital.

Em embriões 46,XY, em que o gene *SRY* tenha uma mutação que iniba a sua acção, a diferenciação é também feminina, embora haja fraco desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários e as gónadas se apresentem em fita, uma condição semelhante à que se observa na síndrome de Turner.

Ocasionalmente, um embrião 46,XY pode não exprimir receptores para os androgéneos, por mutação do gene *AR*. Nestes casos, há testículos e produção de testosterona, mas a impossibilidade de se formarem os complexos que funcionam como factores de transcrição associados à expressão dos genes responsáveis pela diferenciação genital masculina, permite que os órgãos genitais externos do embrião se desenvolvam como no sexo feminino. Esta condição, de natureza recessiva ligada ao X, caracterizada pela insensibilidade aos androgéneos, é classicamente conhecida como síndrome de feminização testicular, embora actualmente se designe como síndrome de insensibilidade aos androgéneos. O fenótipo é feminino e a orientação psicosexual também é feminina. Contudo, há ausência de trompas de Falópio e de útero. A vagina é curta e termina em fundo de saco. A genitália externa é feminina e normal. A esterilidade é uma constante. Habitualmente, o diagnóstico é feito devido a amenorreia primária ou por hérnia inguinal em que se encontra um testículo no canal inguinal. Os testículos também se podem encontrar nos grandes lábios. O desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários na puberdade é reduzido no que respeita à pilosidade axilo-púbica, embora haja desenvolvimento mamário. Como tratamento dever-se-á fazer estrogoterapia de substituição para desenvolver caracteres sexuais secundários e para prevenir a osteoporose. Os testículos devem ser removidos cirurgicamente, devido ao risco elevado de malignização.

13. GENES ENVOLVIDOS NA DIFERENCIAÇÃO GONADAL E SEXUAL

O gene *SRY* desempenha um papel central na determinação sexual masculina. Trata-se de um gene que codifica uma proteína que funciona como factor de transcrição, pertencente à classe de proteínas com alta mobilidade (grupo HMG, "high-mobility group") caracterizadas pela sua capacidade para "dobrarem" o DNA, através do seu lugar específico de ligação ao DNA. Ao dobrarem o DNA, as proteínas HMG poderão proporcionar a intervenção de sequências intensificadoras distantes do gene alvo. Poderão também pôr sequências silenciadoras em acção, de forma a inibirem a transcrição de genes. Assim, o produto do gene *SRY* é o iniciador de uma cascata de acontecimentos que passa pela expressão sucessiva de diferentes genes e que conduz à diferenciação sexual masculina do embrião. Há indicações de que a cascata de acontecimentos observada no sexo masculino se inicia devido à inibição da expressão do gene *DAX-1* pelo factor de transcrição codificado pelo gene *SRY*. Na ausência do gene *SRY*, observada em embriões 46,XX, a expressão de gene *DAX-1* conduz à inibição da expressão dos genes envolvidos na diferenciação masculina e o embrião tem uma diferenciação sexual feminina.

O gene *SRY* poderá ser o causador da activação da expressão do gene *SOX9*, que, por sua vez, iria influenciar a diferenciação das cristas genitais em testículo, no sexo masculino. Mutações observadas neste gene estão associadas a diferenciação sexual feminina em embriões 46,XY e, devido à acção pleiotrópica da proteína que codifica (regula também a condrogénese e a expressão do gene *COL2A1* do colagénio) a sua mutação provoca também o aparecimento de malformações ósseas sob a forma de displasia campomélica.

14. TIPOS DE SEXO

Para se compreenderem as ambiguidades sexuais caberá referir as diferentes formas de definir o sexo individual: cromossómico, gonádico, genital, somático, psicológico, social e legal.

O sexo cromossómico baseia-se na constituição cromossómica do indivíduo como resultado da determinação sexual que ocorre no momento da fecundação. Pode ser 46,XX ou 46,XY.

O sexo gonádico tem a ver com a presença de testículos nos embriões 46,XY, por diferenciação dos esboços gonadais primordiais mediada pela expressão do gene *SRY* (ou nos embriões 46,XX que sejam portadores do gene *SRY*), ou de ovários nos embriões 46,XX.

O sexo genital masculino resulta da diferenciação dos canais de Wolff em epidídimo, vesículas seminais e canal deferente. O sexo genital feminino resulta da diferenciação dos canais de Müller em trompas, útero e parte superior da vagina. A definição do sexo genital inclui também as estruturas anatómicas resultantes da diferenciação dos esboços embrionários da genitália externa em pénis, escroto e próstata no sexo masculino ou em clitóris, grandes lábios e pequenos lábios no sexo feminino. Para que ocorra a diferenciação genital masculina é essencial que tenha havido diferenciação testicular, que se verifique a produção de testosterona e que esta actue sobre as células alvo, bem como o metabolismo da testosterona em diidrotestosterona. As alterações do equilíbrio hormonal podem perturbar o normal desenvolvimento dos órgãos genitais, conduzindo a ambiguidades sexuais.

O sexo somático é definido em função dos caracteres sexuais secundários. O seu desenvolvimento inicia-se com a puberdade. No sexo masculino, a puberdade tem lugar cerca dos 12 a 13 anos, no ambiente hormonal determinado pelo aumento da produção de androgéneos. Comporta o crescimento dos testículos e do pénis, o início da actividade prostática e da produção de espermatozóides, o crescimento do sistema piloso axilo-púbico e da barba, a mudança de voz para tom mais grave, a acentuação do desenvolvimento da cintura escapular. No sexo feminino, a puberdade tem início mais precocemente do que no sexo masculino, em média cerca dos 11 anos. Manifesta-se através do crescimento mamário e da pigmentação das auréolas mamárias, o desenvolvimento do sistema piloso axilo-púbico (com morfologia púbica feminina), o desenvolvimento dos genitais internos e externos, a acentuação da cintura pélvica e a menarca (início dos ciclos menstruais).

O sexo psicológico tem a ver com a auto-imagem. A identidade de cada indivíduo forma-se nos primeiros anos de vida, conduzindo à auto-identificação de cada indivíduo como sendo do sexo masculino ou do sexo feminino.

O sexo social diz respeito ao sexo que a sociedade atribui a cada indivíduo.

O sexo legal baseia-se nos dados registados nos documentos legais de identificação de cada indivíduo, no que tem a ver com o sexo.

15. HERMAFRODITISMO VERDADEIRO

O hermafroditismo verdadeiro é uma situação bastante rara de ambiguidade sexual. É mais frequente na raça negra, na África Central.

A origem do hermafroditismo verdadeiro tem sido atribuída à existência de quimerismo 46,XX/46,XY, de mosaicos dos cromossomas sexuais, de translocações entre o cromossoma Y e o cromossoma X ou entre o cromossoma Y e um autossoma, e a mutações de genes autossómicos. Têm sido referidos casos familiares de hermafroditismo verdadeiro. Citogeneticamente, verifica-se que cerca de 60% dos casos têm um cariótipo 46,XX, podendo também ocorrer cariótipos 46,XX/46,XY, 46,XY/47,XXY ou 46,XX/47,XXY, entre outros.

Clinicamente, deve suspeitar-se de hermafroditismo verdadeiro face a ambiguidade dos genitais e à presença de uma gónada nas formações lábio-escrotais. A presença de tecido ovárico e testicular confirmada por estudo histológico é condição essencial para fazer o diagnóstico de hermafroditismo verdadeiro. No diagnóstico diferencial, deve ser excluída a possibilidade de pseudo-hermafroditismo.

No hermafroditismo verdadeiro o tecido ovárico e o tecido testicular podem-se encontrar numa mesma gónada (ovotestis) ou em gónadas opostas. A sua classificação baseia-se no tipo de gónada e na sua localização. Pode, por isso, ser unilateral, bilateral ou alterno. O tipo unilateral pode ser completo ou incompleto. O tecido gonadal pode-se localizar no ovário, na região inguinal ou nas estruturas lábio-escrotais.

Durante o exame físico, encontram-se genitais externos habitualmente ambíguos, em cerca de dois terços dos casos identificados como do sexo masculino e com hipospádias. A fusão média dos esboços lábio-escrotais é incompleta, há geralmente criptorquidia e hérnia inguinal em cerca de metade dos casos, podendo a hérnia conter uma gónada ou o útero.

Em termos de genitais internos, na maioria dos casos encontra-se um ovotestis associado a trompa em metade dos casos. A diferenciação dos canais de Wolff ou de Müller depende da gónada anexa. A existência de um ovário leva à diferenciação de uma trompa do mesmo lado, e a diferenciação de um testículo conduz à diferenciação de um canal deferente.

Na puberdade, é frequente o desenvolvimento mamário, com ocorrência de menstruações em metade dos casos. Pode ocorrer hematúria cíclica associada às menstruações. Os valores para as concentrações da FSH e LH podem ser próximos dos valores normais, levando ao funcionamento ovárico. Podem ocorrer ovulações e inclusive gravidezes a termo em hermafroditas verdadeiros 46,XX, após remoção dos testículos. A espermatogénese tem sido raramente referida, dada a natureza disgenética dos testículos.

O tipo de intervenção médica depende da idade do indivíduo e da sua orientação psicosexual, passando habitualmente por uma correcção cirúrgica com reconstrução adequada dos genitais externos correspondentes à orientação psico-sexual e pela exérese cirúrgica das estruturas do sexo oposto. A acentuação dos caracteres sexuais secundárias próprios do sexo somático reconstruído (masculino ou feminino) pode necessitar da administração da correspondente terapêutica hormonal substitutiva.

Face à possibilidade de ocorrer cancro da mama e das gónadas deve haver a necessária vigilância.

16. PSEUDO-HERMAFRODITISMO

O pseudo-hermafroditismo é uma ambiguidade sexual que pode resultar de perturbações da diferenciação sexual, de causa genética ou ambiental. O pseudo-hermafroditismo pode ser feminino ou masculino.

16.1. PSEUDO-HERMAFRODITISMO FEMININO

No pseudo-hermafroditismo feminino encontra-se um cariótipo 46,XX. Habitualmente, os ovários e as estruturas derivadas dos canais de Müller têm um desenvolvimento normal. A ambiguidade sexual fica assim a dever-se a

virilização dos órgãos genitais externos com hipertrofia do clitóris, fusão parcial dos grandes lábios e localização anormal do orifício uretral.

A etiologia pode ser genética, de modo a conduzir a perturbações da síntese dos esteróides pela suprarrenal, como na hiperplasia congénita da suprarrenal. De forma bastante rara, pode ser devido ao efeito teratogénico de concentrações elevadas de androgéneos, resultantes da sua produção por um tumor do ovário (v.g., arrenoblastoma) ou da administração de testosterona ou de progestativos de síntese durante a gravidez.

A hiperplasia congénita da suprarrenal é a causa mais frequente de pseudo-hermafroditismo feminino. É de natureza autossómica recessiva. Resulta de uma síntese deficiente do cortisol, com conseqüente hipersecreção de ACTH, por falta de retroregulação negativa pelo cortisol. A hipersecreção de ACTH provoca hiperplasia do cortex da glândula suprarrenal. Entre as enzimas para as quais se pode encontrar deficiência contam-se a 21-hidroxilase, a 3β -hidroxi-desidrogenase e a 11 β -hidroxilase.

A deficiência de 21-hidroxilase é a causa mais frequente de ambigüidade sexual em recém-nascidos. A hipersecreção de ACTH conduz a um aumento da actividade do cortex suprarrenal com produção anormalmente elevada de precursores de esteróides, a partir dos quais são sintetizados androgéneos. Esta secreção pode-se verificar a partir do 3º mês de gravidez dado que, por esta altura, as glândulas suprarrenais já têm diferenciação funcional. O aumento da concentração de androgéneos neste período do desenvolvimento fetal vai provocar a virilização dos genitais externos de fetos cromossomicamente 46,XX, com hipertrofia do clitóris, fusão dos esboços lábio-escrotais e deslocação do orifício uretral para uma localização próxima da que se observa no sexo masculino. Pode ainda observar-se hiperpigmentação do escroto e das auréolas mamárias, no momento do nascimento, por acção estimulante da ACTH sobre os melanócitos, sinal que deve ser valorizado em recém-nascidos com genitália externa masculina normal, no sentido de pensar em deficiência enzimática congénita que afecte a síntese do cortisol, de forma a fazer o diagnóstico da situação no período perinatal. Se o diagnóstico não é feito nesta altura, apenas cerca dos dois anos haverá manifestações fenotípicas sugestivas com crescimento de pelos púbicos e crescimento acelerado.

Devido à sua insensibilidade aos androgéneos, o desenvolvimento dos ovários, a partir dos esboços gonadais e dos órgãos genitais internos, a partir dos canais de Müller, não é afectado.

O tratamento baseia-se na administração de corticosteróides e na correção cirúrgica da virilização dos genitais externos em idade precoce (se possível até aos 18 meses), para que haja um adequado desenvolvimento psico-sexual feminino, em função do sexo cromossómico, gonádico e genital.

16.2. PSEUDO-HERMAFRODITISMO MASCULINO

Os casos de pseudo-hermafroditismo masculino caracterizam-se pela presença de um cariótipo 46,XY e por uma deficiente virilização dos órgãos genitais externos, embora os testículos estejam presentes. Podem resultar de insuficiente produção de androgéneos pelos testículos fetais devido a deficiência de enzimas envolvidas na sua síntese, ou de insensibilidade aos androgéneos a nível dos esboços sexuais embrionários. Quando há insuficiente produção de androgéneos por bloqueio da sua síntese, a criança tem um fenótipo aparentemente feminino. Contudo, e como é habitual na altura da puberdade, as glândulas suprarrenais começam a produzir alguma testosterona, pelo que se observa masculinização, com desenvolvimento de caracteres sexuais secundários masculinos. O clitóris tem um desenvolvimento significativo, podendo assemelhar-se a um pénis.

A insensibilidade periférica aos androgéneos é a causa mais comum de pseudo-hermafroditismo masculino. É responsável pela síndrome de feminização testicular completa (também designada como síndrome de Morris). Os indivíduos com esta síndrome têm um cariótipo 46,XY e testículos bilaterais de tamanho normal com localização intra-abdominal, no canal inguinal ou nos grandes lábios. A genitália externa é feminina na altura do nascimento, a vagina é curta e em fundo de saco e há ausência de desenvolvimento dos órgãos genitais internos com origem nos canais de Muller devido à produção de hormona anti-mulleriana pelos testículos. Em cerca de 50% dos casos, observa-se hérnia inguinal. Há hiperplasia das células intersticiais de Leydig e níveis séricos elevados de LH. Os valores de testosterona circulante apresentam valores compatíveis com a função testicular normal no sexo masculino. Na puberdade, há desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários femininos, com desenvolvimento mamário e crescimento dos grandes lábios, embora o sistema piloso axilo-púbico seja

escasso ou ausente. Contudo, não ocorre menarca, por ausência de genitais internos.

A síndrome de feminização testicular completa tem como etiologia, em 60 a 70% dos casos, a ausência de receptores para os androgéneos, nos órgãos alvo. Nos restantes casos, embora os receptores estejam presentes, as manifestações são idênticas às que se observam na sua ausência, pelo que deve haver uma deficiência a jusante, na via de acção dos androgéneos.

Por vezes, pode ocorrer uma insensibilidade parcial aos androgéneos, de modo a permitir aumento do clitóris e fusão lábio-escrotal, em indivíduos que partilham os demais aspectos fenotípicos presentes na insensibilidade completa. Estes casos designam-se como síndrome de feminização testicular incompleta. É provável que, nestes casos, haja uma redução da quantidade ou da qualidade dos receptores para os androgéneos.

A síndrome de feminização testicular completa e a síndrome de feminização testicular incompleta têm um tipo de hereditariedade recessiva ligada ao cromossoma X.

Para a síndrome de feminização testicular completa e também para a incompleta o gene respectivo foi localizado em Xq11. A forma incompleta deve-se a mutações geralmente do tipo "missense" que não inactivam completamente a função do receptor, enquanto que nas formas completas há mutações do tipo "nonsense" ou "frameshift" com consequências mais graves.

CAPÍTULO XVI

ANOMALIAS CONGÊNITAS

1. INTRODUÇÃO

As anomalias congênitas são alterações estruturais ou funcionais decorrentes de perturbações do desenvolvimento físico (anomalias da morfogênese) presentes ou já determinadas *in utero* ou no momento do nascimento, que não sejam originadas por traumatismos durante o parto. As anomalias congênitas podem não ser diagnosticadas ao nascer, em função da localização e/ou da tradução funcional.

O risco na população geral para o nascimento de uma criança com uma anomalia congênita relevante, diagnosticada nos primeiros dias de vida, é de cerca de 3%. Naturalmente que, em condições específicas de exposição a agentes ambientais teratogênicos, o risco é maior.

Face a uma anomalia congênita, devem ser feitos os estudos necessários para determinar a etiologia e, a partir do conhecimento desta, o prognóstico, a terapêutica, o risco de recorrência e os meios disponíveis para eventual DPN. Se as anomalias forem detectadas num nado-morto, devem ser feitos os estudos necessários para a determinação do diagnóstico etiológico das anomalias, de forma a servirem para aconselhamento genético, preferencialmente pré-concepcional, dentro do casal ou da família. Este estudo está sobretudo indicado em fetos abortados com menos de 20 semanas quando, dentro do casal, houve um aborto espontâneo em gravidez anterior, um nado-morto ou um recém-nascido com anomalias congênitas, bem como em nados-mortos e em crianças que morram durante o período neonatal de causa desconhecida ou que apresentem atraso de crescimento intra-uterino.

As anomalias congênitas dividem-se em anomalias congênitas *major* (presentes, em cerca de 3% dos recém-nascidos) e anomalias congênitas *minor* (presentes em cerca de 15% dos recém-nascidos). As anomalias congênitas *major* são defeitos estruturais com relevância médica ou estética, enquanto que as anomalias congênitas *minor* não têm relevância médica ou estética (Tabela XVI.1). Quanto maior for o número de anomalias congênitas *minor* presentes num recém-nascido, maior é a probabilidade de haver também uma anomalia congênita *major*. Em cerca de 20% dos casos com múltiplas anomalias congênitas *minor*, observam-se, concomitantemente, anomalias congênitas *major*.

Tabela XVI.1. Exemplos de anomalias congênitas minor

EXEMPLOS DE ANOMALIAS
Apêndices pré-auriculares
Clinodactilia do 5º dedo
Coloboma
Fossetas labiais
Fossetas pré-auriculares
Hérnia umbilical
Hidrocele
Mamilos supranumerários
Pregas epicânticas
Prega palmar única (siamesa)
Sindactilia por tecidos moles
Úvula bifida

Em função do mecanismo de origem, as anomalias congênitas classificam-se como malformações, disrupções, deformações, displasias, sequências ou associações.

Em função da quantidade de anomalias observadas, as anomalias congênitas podem ser únicas ou múltiplas.

2. MALFORMAÇÕES

Uma malformação é um defeito morfológico ou estrutural de um órgão, parte de um órgão ou de uma região do organismo, que resulta de um erro primário (intrínseco) e precoce do desenvolvimento embrionário. Quanto mais precocemente, durante a organogénese, ocorrer o erro causador da malformação, mais graves e complexas são as consequências (Tabela XVI.2).

Para erros que ocorram antes dos 23 dias de desenvolvimento embrionário, são raras as malformações que se podem observar, dada a sua gravidade. As malformações têm, frequentemente, um risco de recorrência significativo.

Tabela XVI.2. Correlação entre algumas anomalias congénitas e o momento da gestação antes do qual deve ocorrer o erro

ANOMALIA	IDADE GESTACIONAL
Holoprosencefalia	23º dia
Anencefalia	26º dia
Meningomielocele	28º dia
Lábio leporino	6 semanas
Defeitos do septo interventricular	6 semanas
Sindactilia	6 semanas
Atrésia duodenal	7-8 semanas
Onfalocelo	10 semanas
Fenda palatina	10 semanas
Hipospádias	12 semanas
Criptorquidia	7-9 meses

Adaptado de Cohen MM (1997).

Na maioria das vezes, as malformações congénitas *major* são de etiologia desconhecida (cerca de 60% dos casos), seguindo-se as causas multifactoriais (20%). Outras causas menos frequentes são as condições monogénicas (7,5%), as cromossomopatias (6%), as doenças maternas (3%) as infecções congénitas (2%) e a exposição a teratogéneos (1,5%).

Os órgãos mais frequentemente atingidos por malformações congénitas *major* são, em primeiro lugar, o cérebro com uma prevalência de 1% nos recém-nascidos (v.g., defeitos do tubo neural, holoprosencefalia, macrocefalia, microcefalia), seguido do coração com 0,8% (v.g., defeitos do septo interventricular, persistência do canal arterial, defeitos do septo interauricular, tetralogia de Fallot), dos rins e vias urinárias com 0,4% (v.g., agenesia renal bilateral, rim poliquístico infantil ou do adulto, hipospádias) e dos membros com 0,2% (v.g., aplasia do radial, amelia, focomelia, artrogripose, sindactilia, polidactilia).

As malformações congénitas podem ser únicas (na sua maioria de etiologia poligénica ou multifactorial) ou múltiplas (de origem cromossómica, teratogénica, monogénica ou desconhecida). As anomalias múltiplas observadas desenvolvem-se independentemente umas das outras, embora a causa seja comum (v.g., anomalias observadas numa cromossomopatia, na rubéola ou por acção dos retinóides). As anomalias únicas representam a grande maioria das malformações congénitas (cerca de 70% dos casos).

Quando um determinado grupo de anomalias primárias que ocorrem num indivíduo se constituem em padrão que se repete em diversos indivíduos e que se pensa estarem relacionadas patogenicamente, a condição designa-se como síndrome polimalformativa (v.g., síndrome de Down, síndrome de Klinefelter, síndrome de Marfan). A etiologia é frequentemente única e conhecida (cromossómica, génica ou teratogénica), embora haja muitas síndromas de causa desconhecida. As síndromas são uma manifestação de pleiotropia. Em número de vários milhares, as síndromas polimalformativas constituem o objecto de estudo da dismorfologia.

3. ASSOCIAÇÃO

Por vezes, verifica-se uma tendência para que um grupo de malformações ocorra, concomitantemente, num mesmo indivíduo, com uma frequência maior do que seria de esperar sómente pelo acaso, e que se repete em dois ou mais indivíduos. Trata-se de uma associação. No essencial difere da síndrome por não se encontrar uma explicação plausível, ou seja, uma relação causa/efeito. Habitualmente, não tem a ver com uma anomalia de natureza genética, tendo, por isso, um risco baixo de recorrência.

Uma associação designa-se, frequentemente, pelo acrónimo constituído pelas primeiras letras das palavras que traduzem as anomalias observadas (v.g., CHARGE: colobomas, *heart defects*, *atresia choanae*, *mental retardation*, *growth retardation*, *ear anomalies*; VATER: *vertebral defects*, *anal atresia*, *tracheo-esophageal fistula*, *renal defects*, *radial limb dysplasia*).

4. SEQUÊNCIAS

Designam-se como sequências, as condições em que duas ou mais anomalias congénitas, funcionais ou estruturais, se estabelecem uma após a outra, secundariamente a uma anomalia inicial única. A anomalia inicial pode ser uma malformação, uma disrupção ou uma deformação.

Na sequência de Potter, a agenesia renal bilateral ou a obstrução devida a valvas uretrais origina oligoâmnios por deficiência de produção de urina, o que provoca deformações fetais secundárias e hipoplasia pulmonar com dificuldade respiratória e morte. A causa é habitualmente esporádica, com um risco de recorrência de 1% a 3%.

5. DISRUPÇÕES

A disrupção é um defeito morfológico ou estrutural de um órgão, parte de um órgão ou de uma região importante do organismo, resultante de paragem ou de interferência num processo de desenvolvimento que era originalmente (intrinsecamente) normal.

As disrupções ocorrem em cerca de 1% a 2% dos recém-nascidos. Surgem numa fase intermédia do desenvolvimento, podendo atingir a fase embrionária ou a fase fetal, pelo que também podem ser designadas por malformações secundárias ou extrínsecas. Os factores extrínsecos envolvidos podem ser uma infecção, isquémia, radiação, agressões teratogénicas, ou traumatismo. O risco de mortalidade perinatal é elevado.

As disrupções são habitualmente esporádicas, embora factores hereditários possam predispor para o seu desenvolvimento, pelo que o risco de recorrência é reduzido.

São exemplos de disrupção, a anoftalmia por irradiação, as amputações dos membros devidas a bridas amnióticas, ou a ausência do pólo cefálico por falta de oxigenação.

6. DEFORMAÇÕES

As deformações são alterações da forma ou da posição de partes do organismo causadas por forças mecânicas anormais exercidas durante um período longo (v.g., luxação congénita da anca, pé boto, assimetria mandibular, plagiocefalia). Estas forças podem ser intrínsecas ao feto (v.g., defeitos do tecido conjuntivo, pé boto por miopatia) ou extrínsecas a ele (v.g., pé equino por oligoâmnios, gravidez múltipla, malformação uterina).

As deformações surgem, habitualmente, numa fase tardia do desenvolvimento fetal. Podem aparecer no período pré-natal ou na vida extra-uterina. A razão mais comum para a ocorrência de deformações é a falta de movimento do feto, seja devida a causas mecânicas (v.g., anomalias uterinas, gemelaridade, apresentação fetal anormal), a malformações (v.g., agenesia renal, espinha bífida) ou a deficiências funcionais (v.g., perturbações neurológicas ou musculares, defeitos do tecido conjuntivo).

Cerca de 2% dos recém-nascidos apresentam deformações, sendo múltiplas em cerca de 30% dos casos. Em mais de 90% dos casos, observa-se regressão, seja espontaneamente ou após intervenção médica de execução simples (v.g., luxação congénita da anca).

7. DISPLASIAS

As displasias consistem num defeito primário que envolve uma organização anormal das células nos tecidos, ou dos tecidos numa determinada estrutura (v.g., displasia óssea, displasia ectodérmica). São atingidas as diversas partes do corpo em que os tecidos envolvidos estão presentes. A maioria das displasias inclui-se entre as anomalias congénitas de causa monogénica, pelo que tem um elevado risco de recorrência numa família.

8. MALFORMAÇÕES CONGÉNITAS DE CAUSA MULTIFACTORIAL

342

A natureza multifactorial destas malformações implica factores genéticos e factores ambientais no seu desenvolvimento. A maioria das malformações congénitas únicas a nível cerebral, do coração e dos rins e vias urinárias tem etiologia multifactorial.

Para a maioria dos casos de malformações de causa multifactorial, o risco de recorrência é da ordem de 2% a 5%.

Nas malformações de etiologia multifactorial (Tabela XVI.3), é importante identificar os factores ambientais envolvidos, para intervir no sentido de afastar os factores de risco ou para implantar medidas preventivas. Um exemplo da utilidade deste conhecimento, é dado pelo contributo que a administração de um suplemento de ácido fólico durante a gravidez tem vindo a dar para a redução da incidência dos defeitos do tubo neural. A intervenção no que respeita aos factores genéticos é muito limitada, logo à partida, pela falta de metodologias laboratoriais para a sua identificação.

Tabela XVI.3. Exemplos de malformações congénitas únicas, de natureza multifactorial

EXEMPLOS DE MALFORMAÇÕES
Agenesia renal
Anencefalia
Defeitos do septo interauricular
Defeitos do septo interventricular
Disgenesia renal
Encefalocelo
Espinha bífida
Estenose hipertrófica do piloro
Fenda labial e/ou palatina
Hipospádias
Luxação congénita da anca
Pé boto
Persistência do canal arterial
Tetralogia de Fallot

9. MALFORMAÇÕES DE CAUSA MONOGÉNICA

As alterações monogénicas podem originar anomalias congénitas únicas ou múltiplas (Tabela XVI.4). A identificação do tipo de hereditariedade monogénica presente e a determinação do risco de recorrência que lhes é inerente e que é elevado, são relevantes para o aconselhamento genético. O risco de recorrência para as condições autossómicas recessivas ou recessivas ligadas ao X, é de 25%. Para as condições autossómicas dominantes, o risco de recorrência é de 50%.

Tabela XVI.4. Exemplos de malformações com etiologia monogénica

ANOMALIAS ÚNICAS	HEREDITARIEDADE
Rim poliúístico infantil	AR
Aniridia*	AD
Braquidactilia*	AD
Ectrodactilia*	AD
Megalencefalia*	AD
Microcefalia*	AD ou AR
Microftalmia*	AD ou AR
Polidactilia*	AD
Hidrocefalia*	XR
SÍNDROMAS POLIMALFORMATIVAS	HEREDITARIEDADE
Meckel (microcefalia, encefalocelo, fenda palatina, polidactilia pós-axial, rins poliúísticos)	AR
Apert (craniosinostose, sindactilia óssea dos dedos 2 a 5)	AD (mutação do gene <i>FGFR2</i>)
Crouzon (craniosinostose, hipoplasia da face média, proptose ocular, surdez de condução)	AD (mutações "de novo" em 25% dos casos)

AR – autossómica recessiva; AD – autossómica dominante; XR – ligada ao X.

(*) A hereditariedade monogénica referida é a causa destas anomalias numa percentagem variável de casos.

10. MALFORMAÇÕES DE CAUSA CROMOSSÓMICA

Nas anomalias congénitas em que estejam envolvidas aneuploidias completas ou parciais dos cromossomas autossómicos, encontram-se habitualmente atraso de desenvolvimento intra-uterino e pós-natal, malformações múltiplas e atraso mental. No seu conjunto e na maioria dos casos, as múltiplas anomalias presentes num indivíduo permitem fazer o diagnóstico.

A identificação das alterações cromossómicas pode ser feita por citogenética clássica (v.g., trissomias 21, 18 ou 13), ou exigir estudos citogenéticos de alta resolução quando são microdeleções. Por vezes, as microdeleções apenas são detectáveis por FISH (v.g., síndrome de Di George, por deleção em 22q11-2).

O risco de recorrência é de cerca de 1% para as trissomias livres, entre 5% e 15% para as translocações robertsonianas equilibradas entre diferentes cromossomas, e de 100% quando um progenitor tem uma translocação robertsoniana equilibrada do cromossoma envolvido na trissomia (v.g., t(21,21)).

11. MALFORMAÇÕES DEVIDAS A DOENÇAS MATERNAS

A diabetes mellitus é um exemplo de doença metabólica materna que provoca aumento de risco de doença na descendência, traduzido em malformações do sistema nervoso central (microcefalia, anencefalia, holoprosencefalia, espinha bífida), anomalias do ouvido, cardiopatias congénitas, artéria umbilical única, malformações das costelas e/ou da coluna vertebral, malformações gastro-intestinais e genito-urinárias, agenesia do sagrado, hipoplasia femoral e sirenoméia. O risco para a ocorrência de malformações é 2-3 vezes mais elevado, em comparação com a população geral. No entanto, se os valores da glicémia forem mantidos dentro da normalidade, o risco para anomalias congénitas é reduzido.

De igual modo, o controlo da fenilalaninémia antes de engravidar e durante a gravidez, em mulheres com FCU, evita o aumento de risco para o desenvolvimento de anomalias na descendência (aborto, microcefalia, atraso mental, atraso de desenvolvimento intra-uterino e cardiopatias congénitas). Na ausência deste controlo e de valores de fenilalaninémia ≥ 20 mg/dl, o risco para atraso mental é próximo de 100%.

As infecções maternas durante a gravidez também podem provocar malformações no embrião ou no feto, se os agentes infecciosos envolvidos forem teratogénicos (v.g., citomegalovírus, herpes, rubéola, sífilis, toxoplasmose, varicela).

12. SÍNDROMAS MALFORMATIVAS DE CAUSA TERATOGÉNICA

Um teratogéneo (a palavra incorpora a raiz grega *teras* que significa monstro) define-se como um agente capaz de provocar anomalias congénitas da forma ou da função, por perturbação do desenvolvimento normal do embrião e/ou do feto. A sua acção pode ocorrer por interferência com a proliferação celular conduzindo a hiperplasia, hipoplasia ou assimetrias do crescimento, por provocação directa de morte celular ou por perturbação da diferenciação celular durante a morfogénese. Trata-se de processos disruptivos que atingem habitualmente diversos tecidos no embrião ou no feto. As consequências podem-se traduzir em morte do embrião ou do feto, malformações ou anomalias estruturais, atraso de crescimento, ou deficiências funcionais.

Na ausência de exposição ao teratogéneo em causa, não há risco de recorrência em nova gravidez dentro do casal.

A teratogénese pode ser devida a agentes infecciosos transmitidos durante uma infecção materna, à existência de doenças metabólicas na mãe, à ingestão de determinadas substâncias tóxicas, ou ainda à tomada de substâncias com fins terapêuticos (Tabela XVI.5).

No que respeita ao efeito teratogénico de algumas substâncias, o estudo prévio em determinados animais pode não demonstrar efeitos teratogénicos: a talidomida não é teratogénica no rato nem no ratinho, embora o seja no homem, no macaco e em coelhos. Aliás, foram os estudos laboratoriais realizados em macacos nos EUA e a observação de anomalias atribuídas à sua administração que evitaram que, neste país, também ocorressem os efeitos teratogénicos provocados pela talidomida. Calcula-se que o número de crianças que nasceram entre 1958 e 1963, com anomalias devidas à ingestão da talidomida durante a gravidez, ascenda a mais de 10.000!

Tabela XVI.5. Exemplos de teratogéneos, do período crítico para actuação e das anomalias observadas

TERATOGÉNEOS	PERÍODO CRÍTICO	ANOMALIAS OBSERVADAS
Ácido retinóico	>15 dias após a concepção	Aborto espontâneo, ausência de membros, anomalias cardíacas, anomalias do sistema nervoso (v.g., hidrocefalia), microtia, anomalias oculares, micrognatia
Álcool (actualmente, a condição teratogénica mais importante)	<12 semanas (para dismorfias craniofaciais, anomalias do SNC e cardíacas) >24 semanas (para baixo peso ao nascer e atraso de desenvolvimento)	Síndrome fetal alcoólica: atraso de desenvolvimento intra-uterina e pós-natal, dificuldade de aprendizagem ou microcefalia, atraso mental, facies típico com fendas palpebrais pequenas, epicanthus, hipoplasia da face média, nariz curto, <i>philtrum</i> longo e liso, lábio superior fino, fenda palatina (15%), anomalias cardíacas.
Androgéneos	>10 semanas	Masculinização da genitália externa no sexo feminino
Citomegalovírus	1º trimestre. A infecção congénita mais frequente (1% a 2% dos recém-nascidos)	5% de risco. Atraso de crescimento, aumento da mortalidade neonatal, microcefalia, calcificação periventricular (SNC), atraso mental, coriorretinite, surdez, convulsões, hepatomegália
Cloroquina		Surdez, coriorretinite
Cocaína	2º e 3º trimestre	Aborto espontâneo, nados-mortos, parto prematuro, baixo peso ao nascer, cardiopatias, anomalias dos membros. Nos sobreviventes: maior distração e maior incapacidade de concentração
Dietilstilbestrol	<12 semanas	Malformações uterinas, do colo e do epitélio vaginal, anomalias testiculares, aumento de risco para adenocarcinoma da vagina e cancro do testículo
Estreptomicina	3º trimestre	Surdez
Fluconazol (em altas doses endovenosas)	1º trimestre	Defeitos craneofaciais e dos membros

TERATOGENEOS	PERÍODO CRÍTICO	ANOMALIAS OBSERVADAS
Fumo do tabaco	Ao longo da gravidez	Aumento de risco para abortamento, nados-mortos, prematuridade, aumento da mortalidade perinatal, baixo peso ao nascer
<i>Herpes simplex</i> (mais frequentemente o vírus tipo II do que o tipo I)	Antes das 20 semanas	Aborto quando ocorre durante o 1º trimestre da gravidez. Aumento da mortalidade fetal, coriorretinite, microcefalia, anencefalia, microftalmia, atraso mental, convulsões
<i>Herpes zoster</i>	Entre o 3º-4º mês de gravidez	Risco <10% para anomalias graves. Atraso de desenvolvimento, microcefalia, microftalmia, cataratas, atrofia cortical, coriorretinite, fraqueza ou paralisia muscular, hipoplasia dos membros inferiores, lesões cutâneas
Hidantoína	1º trimestre	Risco de 10% para anomalias. Síndrome fetal hidantoínica: atraso de crescimento intra-uterino e pós-natal, microcefalia, atraso mental, fenda labial e/ou palatina (1% a 2% de risco), nariz curto, ptose palpebral, estrabismo, boca grande, pescoço curto, anomalias cardíacas, hipoplasia das unhas e falanges distais
Hipertermia (febre materna, calor exterior)	Fases precoces da gravidez	Microcefalia, microftalmia, perturbações da migração neuronal, atraso mental
Lítio	<8 semanas	Cardiopatias
Radiações ionizantes (sobretudo em doses altas)	3ª-15ª semanas de gravidez	Morte do embrião, microcefalia, anomalias oculares, atraso de desenvolvimento, atraso mental, mutações, carcinogênese. Para doses ≤ 2 rads, o risco é muito baixo em qualquer fase da gravidez
Rubéola	1º mês: 50% de risco para malformações; 2º mês: 20%; 3º mês: 6%; 4º e 5º meses: 1% e 2%	Atraso de crescimento intra-uterino, atraso mental, microcefalia, hidrocefalia, cataratas, microftalmia, coriorretinite, glaucoma, surdez neurosensorial, cardiopatias, trombocitopenia, osteólise metafisária
Sífilis (<i>treponema pallidum</i>)	>4º mês	Aborto, nados-mortos, sífilis congênita. Hidrocefalia, surdez neurosensorial, cegueira, atraso mental, lesões cutâneas, nariz em sela de montar, rinite, osteíte. Metade dos recém-nascidos infectados apenas apresentam sintomas aos 3 meses
Talidomida	34º-50º dia da gravidez, a contar do início da última menstruação	Defeitos dos membros desde hipoplasia dos dedos a focomelia dos quatro membros, cardiopatias, anomalias do ouvido, microftalmia, hemangiomas faciais, cegueira, fenda labial e/ou palatina, anomalias orgânicas (causa de morte em cerca de 40% dos casos)
Tetraciclina	2º e 3º trimestres	Coloração dos dentes, hipoplasia do esmalte
Toxoplasmose	1º trimestre: 17% de abortos; 2º trimestre: 25% de abortos ou doença grave; 3º trimestre: 65% têm infecção subclínica	Aborto espontâneo, nados-mortos, prematuridade, hidrocefalia, calcificações intracranianas ao acaso, atraso mental, convulsões, surdez, atrofia do nervo óptico, cegueira, coriorretinite, cataratas, trombocitopenia, anemia, hidrôpsia fetal
Valproato de sódio	<30 dias após a concepção, para espinha bifida; 1º trimestre, para dismorfias	Anencefalia, espinha bifida, mielomeningocele, atraso de desenvolvimento, fácies típico (v.g., hipoplasia da face média, micrognatia)
Varfarina	Entre a 6ª e a 9ª semana após a concepção (30% de risco)	Atraso de desenvolvimento intra-uterino, atraso mental, microcefalia, atrofia do nervo óptico, hipoplasia nasal, anomalias do esqueleto
Varicela	1º trimestre	Cicatrizes cutâneas, atrofia muscular, microftalmia, microcefalia, atraso mental

Para um mesmo agente teratogénico, os efeitos em termos de gravidade podem variar em diferentes indivíduos, o que terá a ver com a susceptibilidade genética. Por sua vez, a concentração do agente teratogénico em contacto com o embrião ou feto também influencia o seu efeito, havendo um aumento de risco, para doses mais elevadas. Contudo, é muito pequena a diferença entre os limiares de concentração máxima e mínima do teratogéneo, para os quais se observa teratogénese, na ausência de efeito letal para o embrião.

O momento em que o embrião ou feto é exposto à acção do teratogéneo é um factor crucial a considerar na avaliação das consequências da exposição. Para os diferentes agentes teratogénicos, há períodos críticos durante os quais se faz sentir a sua acção malformativa, em relação com a fase de desenvolvimento das estruturas alvo, no momento da exposição (Tabela XVI.5). Como regra geral, deve-se ter presente que, nas fases embrionárias mais precoces (até à formação dos três folhetos embrionários), os teratogéneos têm uma letalidade elevada, mais do que um efeito teratogénico. O período mais crítico do desenvolvimento intrauterino para o estabelecimento de defeitos congénitos situa-se entre o 18º dia e o final da 8ª semana, com um pico crítico cerca do 30º dia, quando têm lugar as fases fundamentais da organogénese (Tabela XV.1). Nas fases mais tardias da gravidez, as consequências são habitualmente moderadas, sob o ponto de vista morfológico. Contudo, se a exposição aos teratogéneos afectar a formação dos tecidos, podem ocorrer anomalias graves como o atraso mental.

O cérebro é um dos órgãos com um período crítico mais longo, devido à extensão de tempo necessário para o seu desenvolvimento. Assim, a probabilidade de sofrer agressões durante o desenvolvimento é também maior, pelo que há um número elevado de síndromas em que o atraso mental está presente.

Relativamente ao efeito teratogénico dos agentes infecciosos durante a gravidez, refira-se a elevada vulnerabilidade do sistema nervoso central com a ocorrência frequente de microcefalia, atraso mental, convulsões, perturbações do tónus muscular e dos movimentos e deficiências da audição e da visão.

A prevenção é a base para evitar a teratogénese. Por isso, é essencial investir no esclarecimento e na educação da população sobre as condições e os agentes mais frequentemente envolvidos e sobre as formas de os evitar.

A associação entre a ingestão de determinadas substâncias e a ocorrência de anomalias de causa teratogénica remonta, pelo menos, a Aristóteles (384 a.C. a 322 a.C.) ao ter correlacionado a existência de problemas em filhos de mães alcoólicas.

Por ser uma condição bastante frequente, registre-se a forma de lidar com a administração de antiepilépticos durante a gravidez. Se as convulsões tiverem cessado há mais de dois anos, deve ser proposta a suspensão da medicação antes de a mulher engravidar. Se houver necessidade de manter a medicação durante a gravidez, deve ser feita monoterapia, para reduzir o risco de malformações.

(Página deixada propositadamente em branco)

CAPÍTULO XVII

GENES DE REGULAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR. APOPTOSE. SENESCÊNCIA

1. GENES DE REGULAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR

Há vários tipos de genes envolvidos na regulação da proliferação celular: de uma forma directa, os protooncogenes e os antioncogenes; de uma forma indirecta, entre outros, os genes de reparação do DNA e os genes de metabolismo de genotóxicos (Fig. XVII.1). Estes genes, quando alterados a nível estrutural ou da sua expressão, podem aparecer relacionados com o desenvolvimento de cancro.

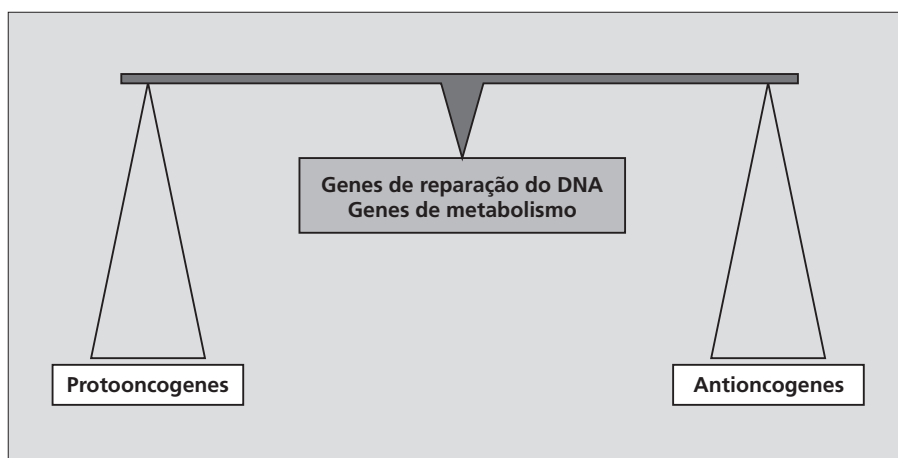


Fig. XVII.1 – Esquema ilustrativo do equilíbrio entre os protooncogenes e os antioncogenes.

1.1. PROTOONCOGENES E ONCOGENES

Os protooncogenes são genes celulares normais, que codificam proteínas constituintes de uma rede implicada na recepção e transdução de sinais e na regulação da expressão génica. Desse modo, participam na regulação da proliferação celular.

Os mecanismos bioquímicos pelos quais actuam os protooncogenes são a fosforilação de proteínas a nível dos aminoácidos tirosina, serina ou treonina, a regulação metabólica por meio de proteínas que ligam GTP (como as proteínas G) ou, para os factores de transcrição, a formação de complexos proteicos ou a interacção proteína-DNA.

Os produtos codificados pelos diferentes protooncogenes distribuem-se desde o espaço extracelular até ao núcleo numa rede em que se encontram factores de crescimento, receptores de membrana, transdutores intracelulares de sinais e factores de transcrição nucleares (Fig. XVII.2).

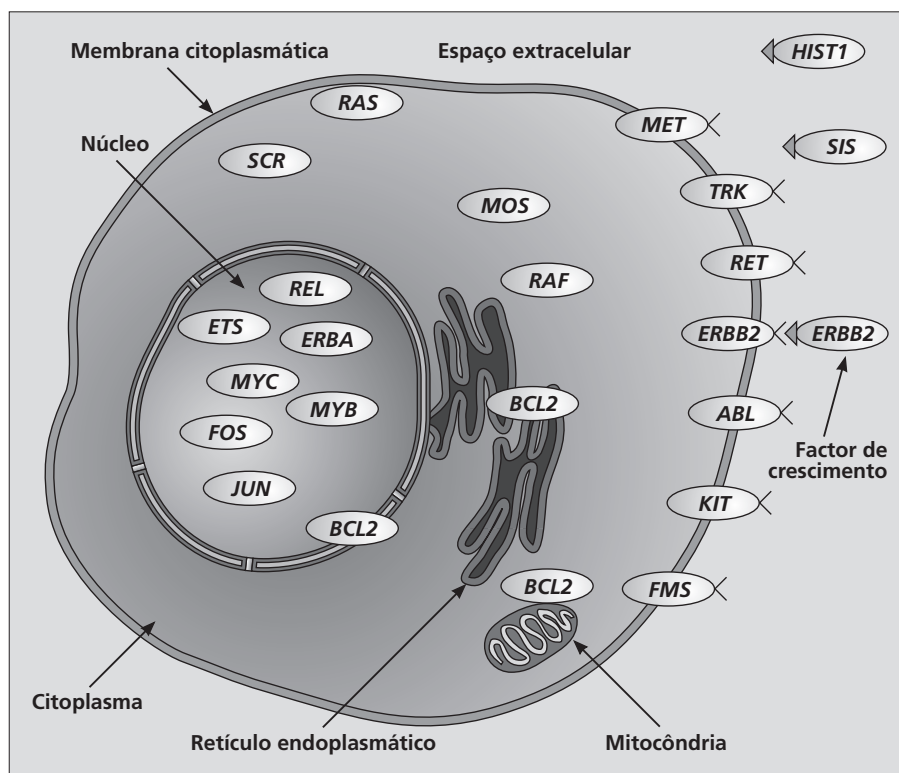


Fig. XVII.2 – Distribuição dos produtos dos protooncogenes pelos compartimentos extracelular e intracelular. A notação em *itálico* indica os respectivos genes codificadores.

1.1.1. FACTORES DE CRESCIMENTO E RECEPTORES DE MEMBRANA

Alguns protooncogenes codificam proteínas que se localizam no meio extracelular e funcionam como factores de crescimento, de que são exemplo o SIS para o factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) ou o HST-1/K-FGF para o factor de crescimento angiogénico (Fig. XVII.2). Os factores de crescimento são moléculas de primordial importância para as células quiescentes entrarem em ciclo celular e progredirem ao longo de G1.

Outros protooncogenes codificam receptores da membrana citoplasmática. Estes receptores possuem um domínio extracelular como local de ligação para o agonista (factor de crescimento), uma parte intramembranar e um domínio citoplasmático que, quando ocorre a ligação do agonista ao receptor, expressa actividade proteinquinase (na maioria das vezes, é uma tirosinquinase cuja função consiste em transferir um grupo fosfato para a proteína alvo). Os genes *ERBB2*, *TRK*, *MET*, *KIT*, *ROS* ou *RET*, são exemplos de protooncogenes que codificam receptores de membrana (Fig. XVII.2).

O gene *ERBB2* codifica uma proteína transmembranar estruturalmente semelhante a outros receptores para factores de crescimento como o EGF. O domínio interno deste receptor tem actividade proteinquinase e, em casos de mutação pontual ou de amplificação, verifica-se aumento da actividade de cinase. Até agora, ainda não foi identificado o ligando para este receptor, admitindo-se que seja um mitogénico. A activação constitucional da proteína *ERBB2* dá origem a um estímulo mitogénico na ausência de ligando, por continuada actividade de cinase do domínio interno.

1.1.2. TRANSDUÇÃO INTRACELULAR DE SINAIS

Para a transmissão do estímulo mitogénico, desde a membrana celular até ao núcleo, é necessária a intervenção de uma complexa rede de vias de sinalização, envolvendo vários produtos de protooncogenes como são exemplos os genes da família *RAS*. A nível do citoplasma, foram encontradas proteínas transdutoras de sinais com actividade cinase para a serina ou para a treonina, também codificadas por protooncogenes (v.g., *MOS*, *RAF*) (Fig. XVII.2).

A família dos genes *RAS* (*HRAS*, *KRAS*, *NRAS*) é o protótipo dos protooncogenes que codificam proteínas transdutoras de sinais. As proteínas, com 21kDa e com actividade GTPase intrínseca, ligam-se à face interna da

membrana celular, por grupos farnesil. Esta função permite-lhes activar a via de transdução de sinais das MAP cinases envolvida na transmissão de informação desde receptores da superfície da membrana citoplasmática até genes envolvidos no controlo da proliferação celular. Pensa-se que estes genes, quando mutados ou hiperexpressos, contribuam para a proliferação celular ou que potenciem a resposta a estímulos hormonais ou a factores de crescimento.

A actividade da proteína p21 é regulada pela ligação e pela hidrólise de GTP. Quando o GTP está ligado, a proteína p21 activa a função proteinquinase, promovendo a sua fosforilação, como ocorre com a proteína codificada pelo protooncogene *RAF*. Neste caso, a proteína *RAF* fosforilada actua em alvos como as proteínas do citoesqueleto ou factores de transcrição como o *AP1*. O complexo *AP1* induz, por sua vez, a expressão de genes envolvidos no controlo da proliferação celular. A hidrólise do GTP em GDP inibe a actividade da p21. Nos processos neoplásicos, as mutações que envolvem os genes *RAS* estabilizam a conformação activa da proteína p21, resultando num estímulo contínuo para a proliferação, independente de estímulos exteriores. A p21 mutada inibe a hidrólise do GTP. A activação da p21 ocorre por via de diversos tipos de receptores para factores de crescimento (v.g., *IGF-1*, receptores com actividade de cinase, receptores associados a proteínas G).

A destruição da ligação farnesil elimina a capacidade de transdução de sinais, o que tem motivado o ensaio de substâncias que inibam a “farnesilação” de modo a inibir a actividade do gene *RAS* nas células tumorais.

1.1.3. FACTORES DE TRANSCRIÇÃO NUCLEARES

As proteínas codificadas por protooncogenes, que se localizam no núcleo, funcionam como factores de transcrição. Estão implicadas directamente na regulação da expressão génica e, desse modo, no controlo da proliferação e da diferenciação celular. Estas funções resultam da sua capacidade para se ligarem ao DNA ou para interagirem com outras proteínas, modulando a expressão de outros genes celulares específicos. São exemplos destes protooncogenes que funcionam como factores de transcrição, o *FOS*, o *JUN*, a família *MYC* ou o *MYB*. Os factores de transcrição nuclear ligam-se a sequências de DNA específicas iniciando a transcrição de genes importantes na replicação do DNA e na divisão celular (Fig XVII.2).

O protooncogene *MYC* codifica um factor de transcrição que se liga a sequências específicas do DNA, sendo esta ligação mais eficiente quando a proteína *MYC* forma um complexo com uma proteína designada por *MAX*. Para que a proteína *MYC* cause cancro deve interagir com a proteína *MAX* e o complexo ligar-se ao DNA. A proteína *MAX* forma complexos *MAX/MAX*, mas a ligação destes complexos às mesmas sequências de DNA não provoca cancro.

1.2. ONCOGENES

As mutações a nível dos protooncogenes que levam a alterações quantitativas ou qualitativas dos produtos que codificam, podem originar transformação celular, de um modo dominante (a mutação induz a aquisição de novas características pela célula, que lhe conferem vantagem proliferativa) (Fig. XVII.3). Nas condições anteriores, estes genes designam-se por oncogenes (*onkos*, que significa tumor ou massa) e funcionam como aceleradores da proliferação celular. Os primeiros oncogenes foram identificados no genoma de alguns retrovírus e actualmente conhece-se mais de uma centena.

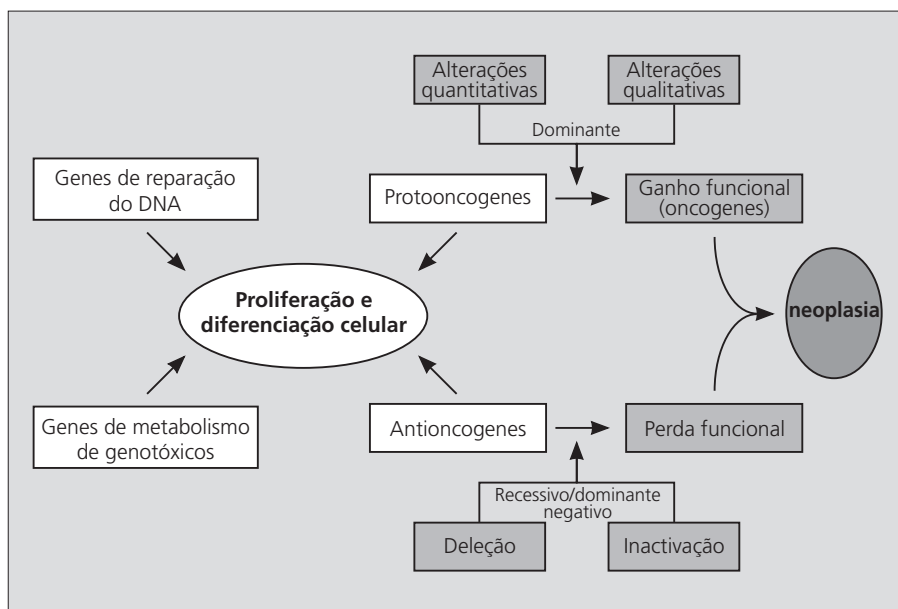


Fig. XVII.3 – Diagrama de grupos de genes envolvidos na regulação da proliferação celular e de vias e causas que podem conduzir a proliferação neoplásica.

As mutações de protooncogenes são quase sempre somáticas, sendo as duas exceções conhecidas as mutações germinais dos protooncogenes *RET* e *MET* que, quando herdadas, predispõem, respectivamente, para a neoplasia endócrina múltipla do tipo 2A e para o carcinoma papilar renal. As mutações que originam oncogenes comportam-se de forma dominante, sendo necessária apenas a mutação de um dos alelos para que ocorra a estimulação da proliferação celular ou o desenvolvimento do fenótipo tumoral.

O mecanismo de mutação de um protooncogene, pode ser de natureza quantitativa (através do aumento da produção de uma proteína normal) ou qualitativa (através da produção de uma proteína alterada com propriedades diferentes da original). Os tipos de mutações mais frequentes são a amplificação, a mutação pontual e a translocação cromossômica.

A amplificação génica constitui um dos mecanismos que originam oncogenes de uma forma quantitativa. Quando é passível de detecção por estudo citogenético, a amplificação génica assume, frequentemente, a forma de regiões de coloração homogénea (HSR, de "homogeneous staining regions") ou de microcromossomas (dmin, de "double minutes"). Estas formas traduzem a presença de múltiplas cópias de um gene. Na leucemia promielocítica aguda e no carcinoma de pequenas células do pulmão, o número de cópias do gene *MYC* pode atingir cerca de oitenta e no carcinoma da mama têm sido detectados casos com amplificação de *ERBB2* até trinta vezes. A amplificação pode, contudo, não ser visível por citogenética e, ainda assim, haver um número bastante elevado de cópias de um gene, detectável por estudos moleculares de hibridação.

A amplificação génica tem sido correlacionada com a aquisição de resistência a determinadas substâncias antineoplásicas e com pior prognóstico para as situações tumorais em que se verifica. Encontra-se associada à fase de progressão tumoral de cerca de 10% das neoplasias humanas.

As mutações pontuais podem também originar oncogenes. Verificou-se que os protooncogenes da família *RAS* podem adquirir capacidades oncogénicas por mutação pontual, de que são exemplos as mutações a nível dos codões 12, 13 e 59-61. As formas oncogénicas de *RAS* foram encontradas em diversos tumores humanos, como ocorre no carcinoma da bexiga em que uma mutação pontual a nível do codão 12 do gene *RAS*, leva à substituição de uma glicina por uma valina. Estas mutações pontuais podem ocorrer por indução com carcinogéneos químicos idênticos aos que se detectam no fumo do tabaco.

A translocação pode ser detectada por estudos citogenéticos quando a extensão do fragmento translocado está acima do limite de resolução da microscopia de luz. A translocação pode originar alterações quantitativas ou qualitativas. Uma alteração qualitativa ocorre, por exemplo, na leucemia mielóide crónica. Neste caso, a translocação t(9;22)(q34;q11) provoca a transposição do protooncogene *ABL* do cromossoma 9 para o cromossoma 22 onde se recombina com a região BCR. A sequência híbrida BCR-*ABL* resultante produz uma proteína com actividade tirosinacinaase aumentada. A translocação t(14;18) observada no linfoma folicular de células B justapõe o gene *BCL2* com o *locus* da cadeia pesada das imunoglobulinas. O gene de fusão derivado origina uma produção elevada de proteína BCL2 com interferência na morte celular programada.

A presença dos oncogenes provoca um aumento do ritmo proliferativo das células, de um modo inadequado. Em células normais, um único oncogene não parece suficiente para provocar a tumorigenicidade celular: em fibroblastos embrionários, mantidos em cultura, é necessária a associação dos oncogenes *RAS* e *MYC* para se obter um fenótipo tumorigénico, tendo-se verificado que a transfeção isolada com cada um deles não provoca tumorigenicidade. A necessidade de dois ou mais oncogenes, para provocar a tumorigenicidade de células em primoculturas, sugere uma explicação para os vários estádios da carcinogénese: cada etapa da tumorigénese pode significar uma nova e diferente alteração no genoma celular, a qual poderá, frequentemente, envolver a activação de um protooncogene como o *RAS* ou o *MYC* ou, em outras situações, alterações a nível de antioncogenes.

1.3. ANTIONCOGENES OU GENES DE SUPRESSÃO TUMORAL

O segundo grupo de genes que referimos é constituído pelos antioncogenes ou genes supressores tumorais (Fig. XVII.3). São genes que participam na regulação da proliferação e da diferenciação celular, contrabalançando o estímulo proliferativo dos protooncogenes, através de uma acção inibidora. À semelhança dos protooncogenes, são sequências de DNA altamente conservadas ao longo da evolução filogenética, o que é sugestivo da sua importância no controlo da proliferação e da diferenciação celular.

As proteínas codificadas pelos genes de supressão tumoral distribuem-se pela membrana citoplasmática, pelo citoplasma, pela membrana nuclear e pelo núcleo (Fig. XVII.4).

As mutações dos antioncogenes podem ser somáticas (adquiridas) ou germinais (herdadas) (Fig. XVII.5). São conhecidas várias síndromas neoplásicas hereditárias, atribuídas a mutações germinais de antioncogenes. Nestes casos, a inativação do primeiro alelo é herdada e a do segundo alelo é somática. Nos casos hereditários, há heterozigotia constitucional devido à herança de um alelo mutado e de um alelo normal, com produção de apenas 50% de proteína antioncogénica normal, pelo que basta a perda ou inativação do único alelo funcional para haver ausência de produção da proteína antioncogénica.

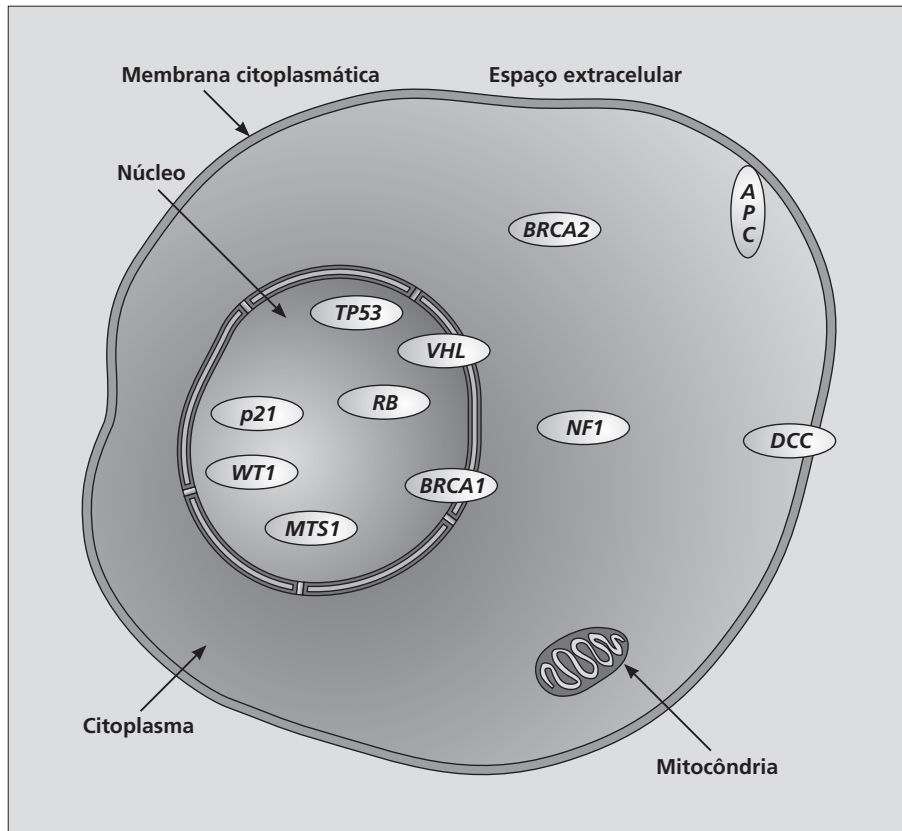


Fig. XVII.4 – Distribuição dos produtos dos antioncogenes pelos compartimentos da célula. A notação em itálico indica os respectivos genes codificadores.

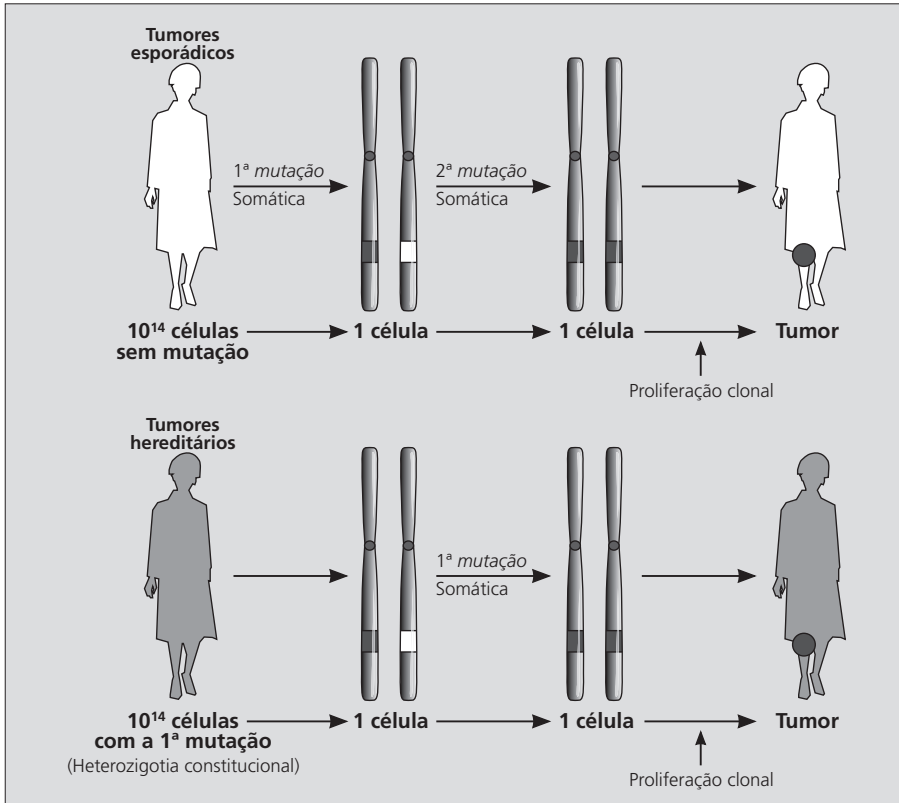


Fig. XVII.5 – Etapas subjacentes à tumorigênese em condições esporádicas e em condições hereditárias. A coloração branca da figura humana significa ausência de mutação constitucional, em comparação com a coloração cinzenta a traduzir heterozigotia constitucional para uma mutação de susceptibilidade para o cancro.

A perda de heterozigotia (LOH, “loss of heterozygosity”) é uma das formas que traduz a perda do alelo funcional, sendo um achado frequente em células de vários tipos de tumores (Fig. XVII.6). A sua caracterização permitiu localizar vários antioncogenes. Nas condições dominantes negativas, não é observada LOH.

As mutações mais frequentemente observadas nos antioncogenes (Fig. XVII.6) são as mutações pontuais, as microdeleções ou as inserções de um ou mais nucleótidos causando mutações do tipo “frameshift”. Podem ainda resultar de deleções mais ou menos extensas de fragmentos cromosómicos. Dados mais recentes apontam para um outro mecanismo de inativação, através da metilação de bases citosina, na região promotora do gene.

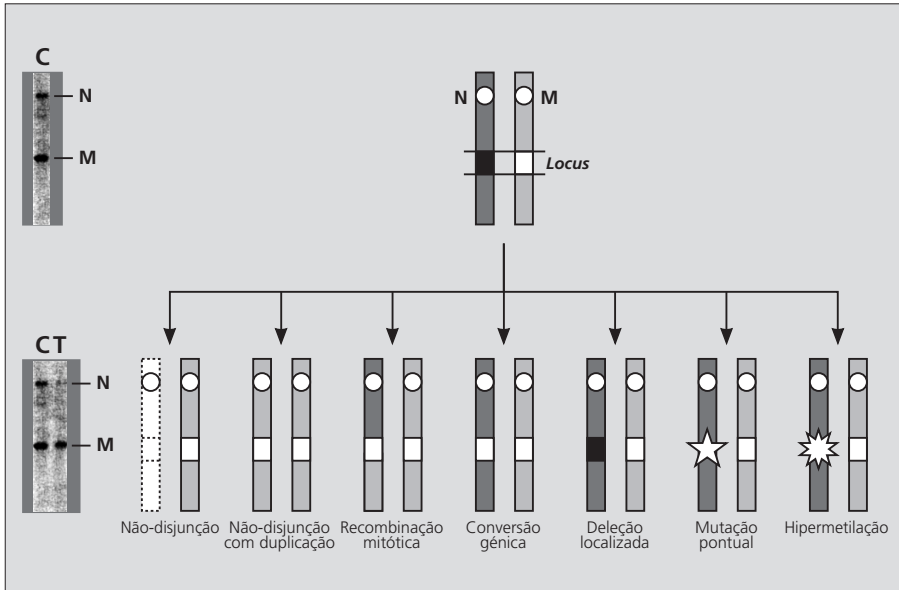


Fig. XVII.6 – Mecanismos conducentes a perda de heterozigotia (LOH) num *locus* antioncogénico. C – a identificação das bandas N (alelo normal) e M (alelo mutado) evidenciam a heterozigotia constitucional presente em DNA de tecido não tumoral; T – o estudo do DNA de células tumorais mostra perda da banda N, como sinal de LOH.

A metilação da região promotora é um exemplo de uma alteração epigenética que leva à ausência da expressão do gene, sem contudo haver uma alteração estrutural deste.

1.3.1. GENE *RB*

A compreensão do carácter recessivo dos antioncogenes teve como suporte importante os estudos de Alfred Knudson, em 1971, baseados na observação das formas de ocorrência e frequência do retinoblastoma. O retinoblastoma ocorre de uma forma hereditária em cerca de 10% dos casos e de uma forma esporádica nos restantes. A taxa de mutações “de novo” é relativamente elevada.

O gene associado ao retinoblastoma está localizado em 13q14 e designa-se abreviadamente por gene *RB*. Codifica uma proteína designada comumente como p105RB, que está envolvida na regulação do ciclo celular (Figs. XVII.7 e XVII.8).

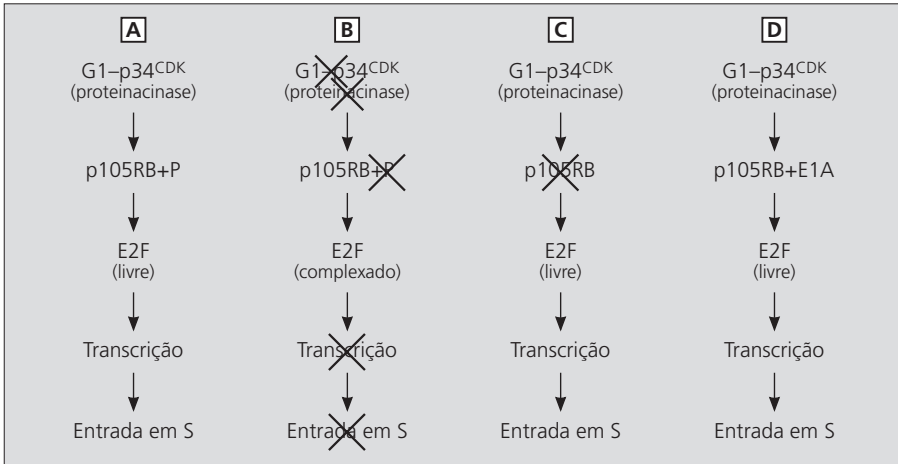


Fig. XVII.7 – A – Regulação da entrada de uma célula em fase S. B – Na ausência de actividade proteinacina, a entrada em S é inibida, por não fosforilação de P105RB. C e D – Mimetização das condições que conduzem a célula a entrar em fase S, por ausência de p105RB, por inactivação ou perda do gene RB (C) ou por complexação da proteína p105RB normal pela proteína oncogénica viral E1A (D).

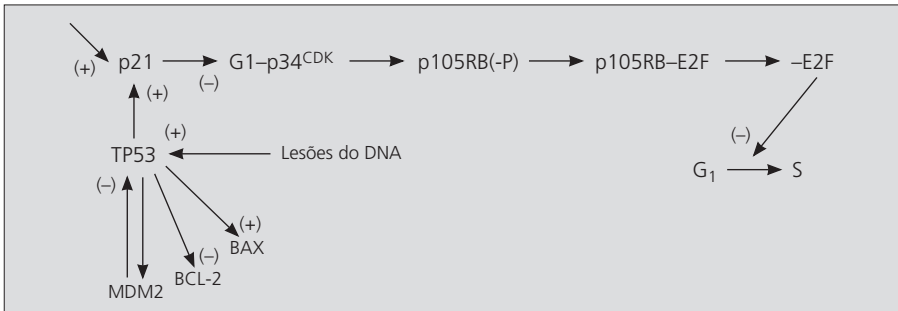


Fig. XVII.8 – Lesões do DNA e mecanismos de paragem do ciclo celular.

Na forma hereditária, o retinoblastoma atinge cerca de 45%⁽¹⁾ dos descendentes de um sobrevivente com retinoblastoma e apresenta focos tumorais únicos ou múltiplos, unilaterais ou bilaterais. Na forma esporádica é, habitualmente, unilateral e unifocal. Com base nos dados anteriores, Knudson desenvolveu, em 1971, a hipótese das “duas mutações” (“two hits”) para explicar o desenvolvimento do retinoblastoma. Na forma hereditária, de natureza dominante, uma mutação patogénica do gene Rb é herdada através

⁽¹⁾ Este valor resulta do facto de a penetrância do gene Rb mutado ser incompleta, da ordem de 90%, e de ser de 50% a probabilidade de transmissão do alelo mutado a um descendente (50%×90%=45%).

das células germinais e a segunda mutação do gene ocorre nas células somáticas; na forma não hereditária, as duas mutações⁽¹⁾ ocorrem numa mesma célula somática (Fig. XVII.5).

Em indivíduos com retinoblastoma hereditário há heterozigotia constitucional, pelo que todas as células nucleadas do organismo têm um alelo mutado. No entanto, nestes indivíduos, para além do retinoblastoma, apenas os osteossarcomas, os tumores dos tecidos moles e os melanomas ocorrem com uma incidência superior à da população geral. As razões para este facto ainda não são conhecidas.

Os casos esporádicos de retinoblastoma são raros, com uma prevalência de 1/40.000. Nos indivíduos com a forma esporádica, as duas mutações (uma em cada alelo do gene) são somáticas e têm de ocorrer antes da diferenciação completa da retina. A probabilidade de um indivíduo desenvolver mais do que um foco tumoral é muitíssimo pequena, sendo o tumor, nestas condições, geralmente unifocal e unilateral.

1.3.2. GENE *TP53*

O gene *TP53* localiza-se em 17p13. Codifica uma fosfoproteína designada TP53, identificada pela primeira vez na década de 70. Deve o seu nome ao facto de se tratar de uma fosfoproteína com um peso molecular aproximado de 53 kDa.

As mutações inativadoras deste gene, considerado um gene supressor tumoral, são as mutações mais frequentes nas neoplasias humanas. A severidade das manifestações de uma mutação do gene *TP53*, em termos de maior ou menor penetrância numa família, correlaciona-se com a sua localização, sendo maior se está localizada nas sequências que codificam o domínio da proteína TP53 que se liga ao DNA.

A proteína TP53 desempenha um importante papel no controlo da proliferação celular, quer parando a progressão do ciclo celular em G1/S para permitir a reparação em caso de lesões do DNA, quer induzindo a apoptose, em resposta a lesões mais extensas. Pelo seu papel, é também conhecida como “guardião” do genoma humano.

⁽¹⁾ As duas mutações podem ocorrer em tempos diferentes: a primeira mutação ocorre numa célula somática e a segunda em célula descendente desta por mitose ou mitoses sucessivas.

As funções da TP53 resultam, pelo menos em parte, da sua actuação como factor de transcrição. Foram já identificados centenas de genes cujos níveis de transcrição podem ser aumentados ou reduzidos pela expressão da TP53. Entre os genes alvo encontram-se os que codificam proteínas que actuam na apoptose, na interrupção do ciclo celular, no citoesqueleto e na matriz extracelular, como factores crescimento ou seus inibidores, ou como factores inibidores da angiogénese. Outra função importante é a sua interferência na reacção celular a estímulos proliferativos dependentes de oncogenes como as formas mutadas de *RAS* ou *MYC*. A presença de TP53 intacta impede a acção tumorigénica dominante destes oncogenes, favorecendo a ocorrência de senescência e apoptose.

A ausência de proteína TP53 funcional favorece não só a imortalização da célula, como também a acumulação de lesões do DNA que normalmente conduziriam à apoptose. A instabilidade genómica e cromossómica associada à disfunção da TP53 não é atribuída apenas à falência dos mecanismos que permitem controlar a proliferação celular e a eliminação das células mutadas mas também à intervenção directa da TP53 no desencadear dos mecanismos de reparação do DNA.

A função da proteína TP53 pode ser alterada por mutações génicas em domínios que afectem a sua função, na maioria das vezes nos exões 5 a 8, ou por mutações em outros genes que controlam os níveis celulares e a função da TP53, como a proteína MDM2 (Fig. XVII.8). Algumas mutações do tipo “missense”, que ocorrem nos exões 5 a 8 e que resultam na substituição de um único aminoácido, afectam a capacidade de ligação da proteína ao DNA e impedem a sua função como factor de transcrição. As mutações podem, também, ser do tipo “frameshift” ou “nonsense”, resultando na produção de uma proteína truncada disfuncional.

Algumas mutações do gene *TP53* originam uma proteína não funcional que se acumula no núcleo porque escapa à normal degradação pela via da ubiquitina-proteossoma. A detecção celular por técnicas de imunohistoquímica é, por isso, frequentemente utilizada para diagnóstico indirecto da existência de mutações do gene *TP53*. Contudo, esta técnica origina falsos negativos, porque nem todas as mutações originam acumulação da TP53, assim como falsos positivos se forem utilizadas técnicas muito sensíveis dado que a proteína também se pode acumular como resposta a agressões extracelulares.

A presença, em heterozigotia, de uma mutação patogénica do gene *TP53*, é responsável pelo efeito de dominância negativa (Fig. IV.3).

1.3.3. GENE *PTEN*

O gene *PTEN/MMAC1/TEP1* é um gene de supressão tumoral, localizado em 10q23.3, que codifica uma fosfatase que actua sobre produtos envolvidos em vias de sinalização intracelulares, tais como o AKT, a cinase p27 e a ciclina D1.

A actividade de fosfatase lipídica, que a proteína codificada por este gene evidencia, é a principal responsável pela função supressora tumoral, ao regular negativamente a via de transdução de sinais do PI3K (fosfoinosítido 3-cinase) envolvida no controlo da apoptose e proliferação celular. A hiperexpressão do gene *PTEN* inibe o crescimento celular e induz a paragem do ciclo celular em G1, com aumento do inibidor da cinase p27. É provável que a inactivação do gene *PTEN* resulte em progressão do ciclo celular por diminuição dos níveis da proteína inibidora p27. Outras funções têm recentemente sido atribuídas à proteína PTEN, incluindo a regulação da adesão, migração e diferenciação celulares.

1.4. GENES DE REPARAÇÃO DO DNA

Os genes de reparação do DNA estão envolvidos de forma indirecta na regulação da proliferação celular (Fig. XVII.3). Quando se verifica incapacidade das células para repararem lesões do DNA, estas podem ocorrer em qualquer *locus* e, por isso, também em genes directamente envolvidos na regulação do ciclo celular e no controlo da proliferação, como os protooncogenes ou os antioncogenes.

As alterações do DNA podem decorrer de erros de replicação e da agressão por agentes mutagénicos endógenos ou ambientais (de natureza física, química ou biológica) (Fig. XVII.9). Os carcinogénicos químicos podem provocar metilação (reparada directamente pela enzima O⁶-metilguanina-DNA metiltransferase) ou modificações covalentes do DNA que originam aductos (reparadas pelas enzimas de excisão). Os aductos podem também ser provocados pela radiação UV e por espécies livres de oxigénio.

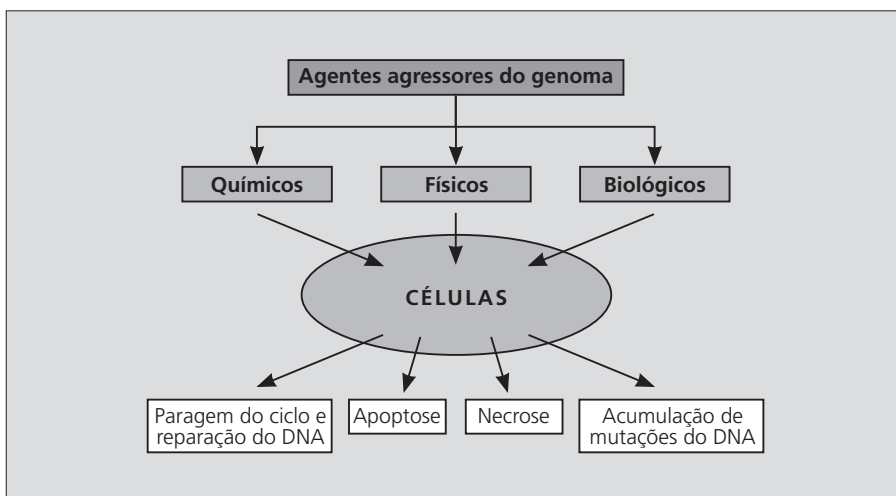


Fig. XVII.9 – Diagrama dos tipos de agressores das células e do genoma e das possíveis consequências.

1.5. GENES DE METABOLISMO DE GENOTÓXICOS

Os genes de metabolismo estão envolvidos numa rede complexa de vias metabólicas de biotransformação de xenobióticos, alguns deles genotóxicos e potenciais carcinogéneos (Figs. X.3 e X.4). O seu envolvimento na regulação da proliferação celular (Fig. XVII.3) é indirecto, verificando-se quando a sua actuação ou a ausência ou deficiência da sua actuação conduzem à produção de moléculas mutagénicas ou à impossibilidade de as eliminar, com consequente agressão do DNA e, eventualmente, de genes envolvidos directamente na regulação da proliferação celular (protooncogenes ou antioncogenes).

Os genes de metabolismo mais comuns são polimórficos, conferindo diferenças individuais no que respeita à capacidade ou eficiência metabólica, em face de determinados compostos genotóxicos, consoante o genótipo (par de alelos) presente num indivíduo. Esta variabilidade genética, a que corresponde uma variabilidade fenotípica, poderá ser responsável por diferentes níveis de protecção para carcinogéneos químicos e, conseqüentemente, diferentes níveis de susceptibilidade para o cancro.

Sob o ponto de vista genotípico, os *loci* destes genes podem-se apresentar como homozigóticos para o alelo normal, heterozigóticos e homozigóticos para o alelo recessivo. Há ainda a possibilidade de estarem presentes polimorfismos associados a uma actividade enzimática excessiva em comparação com a que se verifica para a forma normal do alelo (v.g., os polimorfismos *MspI* e Ile-Val do gene *CYP1A1*) ou mutações em regiões reguladoras da transcrição que igualmente causem aumento da sua expressão (v.g., a substituição de uma base na região reguladora do gene *CYP2E1*).

A presença, num mesmo indivíduo, de dois genótipos de susceptibilidade em termos de metabolismo de genotóxicos pode aumentar significativamente o risco relativo para o cancro, em comparação com a soma das parcelas quando cada um se encontra isoladamente.

2. REGULAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR NORMAL E NEOPLÁSICA

A proliferação celular está sujeita a mecanismos complexos de regulação que envolvem as proteínas do ciclo celular e proteínas codificadas por protooncogenes e antioncogenes.

No que respeita ao ponto de restrição R1, a actividade proteinquinase do complexo ciclina G1-p34^{CDK} vai aumentar o nível de fosforilação da proteína antioncogénica p105RB (Fig. XVII.7-A).

O grau de fosforilação da proteína p105RB varia consoante a fase do ciclo celular: no início de G1 está desfosforilada, aumentando a fosforilação ao longo de G1. Nas células que deixam G0 e entram em ciclo há um aumento da fosforilação de p105RB e nas células que se diferenciam observa-se um decréscimo do seu grau de fosforilação.

A proteína p105RB tem a capacidade de formar complexos com outras proteínas quando não está fosforilada. Entre as proteínas com que forma complexos encontra-se o factor de transcrição E2F. Compreende-se assim como é crucial o grau de fosforilação da proteína p105RB já que a complexação dos factores de transcrição vai inibir a progressão do ciclo celular. Quando a proteína p105RB está fosforilada deixa os factores de transcrição livres, em condições de promoverem a transcrição de genes cujos produtos são essenciais para a progressão do ciclo. O retorno da proteína

p105 RB a um estado não fosforilado em consonância com o efeito transitório do complexo ciclina G1-p34^{CDK} é promovido por fosfatases codificadas por genes que, atendendo à sua função de supressores da proliferação, poderão também ser classificados como antioncogenes.

Há três condições que mimetizam a fosforilação da proteína p105RB (Fig. XVII.7-B,C,D): a mutação a nível da região activa do gene, a deleção do gene, ou a inactivação da forma normal desta proteína (forma não fosforilada), por complexação com uma proteína viral e subsequente destruição do complexo como sucede com a proteína viral E1A. Na eventualidade de as fosfatases não actuarem, será também mimetizada a ausência da proteína p105RB.

Nas condições em que não haja formação do complexo ciclina-p34^{CDK} com surgimento de actividade de cinase, a proteína p105RB não é fosforilada pelo que ocorre complexação dos factores de transcrição e inibição da entrada das células na fase S do ciclo (Fig. XVII.7-B).

Fisiologicamente, a paragem do ciclo celular requer proteína p105RB não fosforilada, o que implica ausência de actividade de proteinacina, por parte do complexo ciclina G1-p34^{CDK}. Terá, por isso, de haver um mecanismo que actue ao nível deste complexo. Esta mediação parece ser feita por outra proteína designada p21 com capacidade para inibir a actividade fosforilativa daquele complexo (Fig. XVII.8). As concentrações da proteína p21 são consistentemente mais baixas em células imortalizadas comparativamente com as células normais.

Em células sujeitas a agressão do genoma por radiação ionizante verificou-se aumento da concentração da proteína p21 associado a aumento da concentração da forma normal da proteína TP53 que, por sua vez, resulta do aumento da expressão do antioncogene *TP53*, como resposta à agressão. O aumento de concentração da proteína TP53 induz o aumento de expressão da proteína codificada pelo gene *GADD45*. Esta proteína liga-se ao PCNA e, por esta via, bloqueia a síntese do DNA e pára a proliferação celular.

Em células de indivíduos com ataxia telangiectasia sujeitas a radiação ionizante verificou-se que não há aumento da expressão de TP53 nem paragem do ciclo celular em R1. A proteína TP53 surge, assim, como um “travão” do ciclo celular nos casos em que há necessidade de reparação do DNA. O aumento da expressão do gene *TP53* está também envolvido na paragem do ciclo celular na transição G2/M (ponto de restrição R3) nos casos de agressão por radiação ionizante.

O gene *MDM* localizado no cromossoma 12 codifica uma proteína que se liga à proteína antioncogénica TP53 e tem sido referenciado como um dos reguladores da expressão desta proteína (Fig. XVII.8). Quando amplificado, estabiliza e inactiva a proteína TP53, mimetizando uma condição que corresponde a alterações mutacionais do gene *TP53*.

Do que se acaba de enunciar, pode deduzir-se uma cascata de acontecimentos conducente à suspensão do ciclo celular sempre que é necessário prolongar a fase G1 do ciclo para preparar a célula para entrar na fase S. Esta paragem do ciclo é essencial para reparar o DNA e manter a estabilidade do genoma antes que se repliquem erros que tenham eventualmente alterado a sequência nucleotídica de genes envolvidos na regulação do ciclo celular como os protooncogenes ou os antioncogenes e que poderiam conduzir a proliferação neoplásica.

Em síntese, quando há agressão do DNA, a sequência de acontecimentos poderá ser (Fig. XVII.8):

- 1 – agressão do genoma;
- 2 – aumento da expressão da proteína TP53;
- 3 – aumento da expressão da proteína p21;
- 4 – inibição da actividade de proteinquinase do complexo ciclina-p34^{CDK};
- 5 – não fosforilação da proteína p105RB;
- 6 – complexação de factores de transcrição (v.g., E2F) pela proteína p105RB não fosforilada;
- 7 – inibição da transcrição de genes cujos produtos são essenciais para a progressão do ciclo;
- 8 – paragem do ciclo celular;
- 9 – reparação integral das lesões do DNA;
- 10 – redução da concentração da proteína TP53;
- 11 – redução da expressão da proteína p21;
- 12 – aumento da actividade de cinase do complexo ciclina-p34^{CDK};
- 13 – aumento do nível de fosforilação da proteína p105RB;
- 14 – libertação de factores de transcrição;
- 15 – prosseguimento do ciclo celular e entrada da célula na fase S.

A paragem do ciclo celular tem como objectivo permitir a reparação do DNA. No entanto, quando os genes de reparação do DNA estão alterados, ainda que o mecanismo de paragem do ciclo celular esteja mantido, a

reparação do DNA é deficiente e com o retomar do ciclo celular pode ter lugar a acumulação de alterações do DNA. Estas alterações poderão incluir uma mutação dominante que origine um oncogene, com consequente vantagem proliferativa para um clone celular e formação de um tumor, ou a mutação de um *locus* antioncogénico, com consequências idênticas devido à perda de uma função mediada pela proteína antioncogénica.

Neste enquadramento, é provável que um importante mecanismo conducente à proliferação neoplásica seja a perda da capacidade das células para verificarem, antes da divisão, se a replicação do DNA está terminada, se houve lugar à reparação das lesões do DNA ou se ocorreu a segregação dos cromossomas. Quando os mecanismos de verificação funcionam e são detectadas anomalias, as células interrompem a progressão do ciclo celular num dos “pontos de restrição” que se encontram ao longo do ciclo, para que seja feita a reparação e não haja divisão que origine células com alterações. Quando se verifica perda ou deficiência destes mecanismos de verificação (v.g., mutação do gene *TP53*), pode ocorrer proliferação neoplásica, uma vez que o ciclo celular progride com a eventual acumulação de anomalias do genoma passíveis de interferir com a regulação normal da proliferação celular e tumorigénese.

3. APOPTOSE

A agressão de uma célula pode conduzir à necrose celular se a agressão é muito violenta, à paragem temporária do ciclo celular com reparação integral das lesões do DNA e *restitutio ad integrum*, à acumulação de lesões do DNA por incapacidade para a reparação integral, apesar da ocorrência de paragem temporária, ou à paragem do ciclo e evolução para um processo de morte celular programada (apoptose) (Fig. XVII.9).

A necrose celular conduz ao aparecimento de um citoplasma electrolucente e edema mitocondrial, mantendo-se o núcleo aparentemente intacto. É considerado um processo degenerativo passivo que pode ser induzido por acção directa de tóxicos e por agressões físicas.

A apoptose é um processo fisiológico iniciado pela activação de caspases (proteases), pelo qual as células morrem de uma forma programada.

O processo é activado por alterações a nível de estímulos específicos. A apoptose envolve a compactação do citoplasma, uma elevada condensação da cromatina, o “blebbing” da membrana e a clivagem internucleossomal do DNA genómico (formação de corpos apoptóticos). A fragmentação internucleossomal é mediada por uma endonuclease endógena dependente de $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$. Esta enzima ataca o DNA de ligação entre os nucleossomas espaçados de 185 bp ao longo da molécula de DNA. No final, a célula fragmenta-se em pequenos corpos que são fagocitados e digeridos pelos macrófagos, sem desenvolvimento de resposta inflamatória.

A apoptose é um processo normal durante a morfogénese embrionária e fetal (v.g., para formação dos espaços interdigitais), para a renovação celular e talvez para a limitação da amplitude e da duração da resposta imunológica. Calcula-se que, em média, cerca de 5×10^7 células morrem diariamente, por apoptose, na espécie humana.

Em alguns tecidos, o seu papel parece também importante na transformação neoplásica. A velocidade de acumulação de células num tecido poderá derivar de um aumento da proliferação celular, mas também de uma redução do ritmo da morte celular programada. Por isso, é aceitável que o crescimento neoplásico possa também dever-se ou ser promovido por factores que inibam a apoptose.

A apoptose obedece a mecanismos de regulação mediados por estímulos fisiológicos (v.g., níveis hormonais) que implicam a expressão de genes cujos produtos são pró-apoptóticos e de genes cujos produtos são anti-apoptóticos. Os genes *BCL2*, *BAX* e *BCLX* pertencem a uma família de genes que aparecem envolvidos na regulação da renovação celular nos tecidos normais através dos ritmos de proliferação e de morte celular. O protooncogene *BCLX* (um inibidor da apoptose pertencente à família do gene *BCL2*) origina, por “splicing” alternativo, duas proteínas com propriedades diferentes: a *BCLX_L* que mimetiza a proteína *BCL2* e inibe a apoptose e a *BCLX_S* que contraria a capacidade da proteína *BCL2*.

370

As proteínas da família *BCL2* podem formar homodímeros e/ou heterodímeros entre si. O tipo de associação que estabelecem e a concentração de cada membro parecem responsáveis pela orientação dada às células no sentido da sobrevivência ou da morte celular.

Em alguns órgãos como o ovário e o estômago os genes *BCL2* e *BCLX_L* são anti-apoptóticos e os genes *BAX* e *BCLX_L* são pró-apoptóticos, enquanto que em órgãos como a mama e a próstata ocorrerão outros equilíbrios.

4. SENESCÊNCIA

A senescência, ou envelhecimento, é um processo multifactorial em que estarão envolvidos cerca de 7.000 genes e múltiplos factores ambientais. Os fenótipos da senescência parecem ser modulados por mutações e polimorfismos genéticos. Cerca de 1% dos genes terá um efeito *major*. Assim, a heterogeneidade génica, a natureza multifactorial e a variabilidade da interacção com o meio devida aos polimorfismos deverão ser os responsáveis pela considerável multiplicidade de padrões de envelhecimento.

A longevidade é, em vários aspectos, um caracter tipicamente multifactorial, que varia numa escala contínua dentro de uma população e entre populações, que está sujeito a efeitos ambientais variados e responde à pressão de selecção. Na espécie humana, a longevidade evidencia uma hereditabilidade moderada de cerca de 30%, conforme estudos de concordância realizados em gémeos. Os estudos de adopção também demonstraram alguma influência da hereditariedade na idade de falecimento. Um indivíduo que tenha um progenitor falecido antes dos 50 anos tem um risco de morrer com idade inferior a 50 anos que é duas vezes superior ao risco observado em indivíduos cujos pais faleceram em idades superiores àquela. Comparativamente, a idade de falecimento dos pais adoptivos não mostrou qualquer associação com a idade de falecimento dos filhos adoptivos.

Os genes que retardam o aparecimento de doenças estão envolvidos na longevidade. Nestes genes, algumas variações alélicas poderão antecipar o aparecimento de doenças tardias como no caso da doença de Alzheimer, ou de variações alélicas do receptor para a vitamina D que criam susceptibilidade para a osteoporose.

4.1. O LIMITE PROLIFERATIVO DE HAYFLICK

O limite de Hayflick foi descrito em 1961, deduzido a partir de experiências feitas com células em culturas. Por estas experiências, foi demonstrado que as células humanas normais se dividem cerca de 50-70 vezes, após o que atingem o seu limiar para a replicação e entram em senescência.

As células obtidas de um dador adulto dividem-se um menor número de vezes, comparativamente com o número de divisões registado para células embrionárias. Ainda assim, mesmo as células recolhidas de uma pessoa bastante idosa mantêm a capacidade de se dividir cerca de vinte vezes. Na fase pós-replicativa, as células senescentes têm um citoplasma mais abundante do que nas fases proliferativas e um núcleo um pouco aumentado. No citoplasma de muitas células senescentes acumulam-se lipofuscinas como resultado das reacções de peroxidação lipídica.

A limitação proliferativa poderá justificar as atrofias observadas em diversos tecidos. Há, contudo, focos de hiperplasia que podem alternar com zonas de atrofia, provavelmente em associação com desregulação do controlo da proliferação. Esta desregulação poderá estar associada ao aumento da incidência de cancro que acompanha o envelhecimento e também com a aterosclerose por proliferação da camada íntima das artérias.

A capacidade proliferativa limitada das células em cultura, que está na base da paragem da replicação celular, após um previsível número de divisões, implica que haja um mecanismo de “contagem” das mitoses. Este mecanismo reside na alteração do processo de restauração do comprimento dos telómeros, por perda de actividade da telomerase.

Os telómeros são complexos nucleoproteicos que definem o topo dos cromossomas, previnem a sua fusão aberrante, protegem-nos da degradação por exonucleases e estabilizam a estrutura dos cromossomas. A sequência de DNA dos telómeros têm um comprimento de cerca de 10.000 a 20.000 bp, sendo constituída por sequências repetitivas 5'-TTAGGG-3' numa cadeia de DNA e 5'-CCCTAA-3' na cadeia complementar. O comprimento dos telómeros é específico de cada espécie a nível das células germinais.

A replicação dos telómeros é processada por uma polimerase própria – a telomerase. Trata-se de uma enzima ribonucleoproteica, cuja componente de RNA tem uma sequência que serve de modelo para adição de unidades repetitivas aos telómeros. Deste modo, a telomerase promove a compensação da perda de DNA que ocorre com a replicação e contribui para a estabilidade dos cromossomas, mantendo constante o comprimento dos telómeros. Na ausência de telomerase, os telómeros encurtam progressivamente à medida que as células se dividem, até ao ponto em que é atingido um comprimento crítico (ponto de restrição M1) que corresponde ao limite de Hayflick. Neste momento as células perdem capacidade replicativa e entram em senescência (Fig. XVII.10).

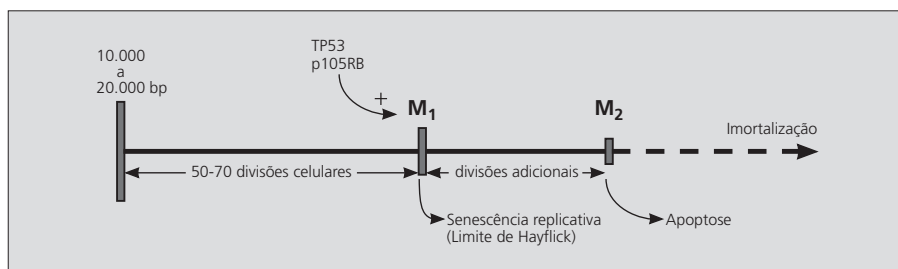


Fig. XVII.10 – Limite proliferativo de Hayflick. O ponto M1 pode ser ultrapassado pelas células se houver deficiência de regulação. A ultrapassagem do ponto M2, por deficiência da apoptose, pode conduzir à imortalização das células.

A paragem das divisões celulares em M1 requer a acção das proteínas TP53 e p105RB. Se estas proteínas não actuarem, as células continuam a dividir-se e continua o encurtamento dos telómeros. É assim atingido um segundo limiar crítico (ponto de restrição M2) em relação ao comprimento dos telómeros, com o conseqüente incremento da instabilidade cromossómica (Fig. XVII.10). Neste momento, é desencadeada a apoptose. No entanto, pode ocorrer a ultrapassagem ocasional do ponto M2 por algumas células, o que traduz a sua imortalização e envolve, com grande probabilidade, a recuperação da actividade da telomerase de modo a estabilizar o comprimento dos telómeros. No entanto, foram descritas algumas linhas celulares tumorais com o comprimento dos telómeros conservado e sem actividade da telomerase, o que sugere que outros mecanismos como a recombinação podem estar subjacentes. As células imortalizadas podem ser tumorigénicas.

A telomerase é expressa pelas células do embrião e do feto, durante os primeiros três a cinco meses de vida intra-uterina. A sua expressão mantém-se nas "stem cells", embora os níveis de expressão sejam inferiores aos das células embrionárias mas, ainda assim, compatíveis com um retardamento do encurtamento dos telómeros. Está também presente em cerca de 85% dos tumores da espécie humana, permitindo às células neoplásicas restaurar, continuamente, o comprimento dos telómeros, o que não ocorre na generalidade das células somáticas⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Como exemplo, compare-se a actividade da telomerase em células do cancro da mama em diferentes estádios, com a actividade em células normais. Assim, considerando a actividade da telomerase como 100%, em células tumorais do estágio IV, será de 96% no estágio III, de 68% no estágio I e de 4% nos tecidos normais.

A valorização da actividade da telomerase como indicador de prognóstico e como base para o desenho de abordagens terapêuticas em situações tumorais não está ainda definitivamente assumida, nomeadamente devido a resultados de investigação contraditórios, à sua presença em células não neoplásicas e ao facto de não estar sempre presente nas células tumorais.

Na ausência de telomerase, a replicação do DNA, mediada pela polimerase do DNA, inicia-se a partir de uma sequência de RNA que funciona como “primer”. Assim, em cada ciclo de replicação, uma região terminal do telómero não é replicada. Desta forma, as células em senescência replicativa, como as que são recuperadas de doadores idosos, apresentam telómeros mais curtos.

O sucessivo encurtamento dos telómeros, por falta de actividade da telomerase poderá ser a base para a paragem da divisão celular resultante da expressão génica de moléculas inibidoras da divisão celular. A molécula inibidora poderá consistir na proteína p21. Nas células senescentes, há um aumento da concentração da proteína p21.

4.2. PROGERIAS

As progerias são formas severas de envelhecimento prematuro (v.g., síndrome de Hutchinson-Gilford e síndrome de Werner). Nas progerias, as células uma vez postas em cultura dividem-se apenas 10-30 vezes, ao contrário do que se observa com as células de indivíduos normais em que o número de divisões é de cerca de 50.

A síndrome de Hutchinson-Gilford é uma forma de progeria muitíssimo rara e severa. As células apresentam telómeros muito curtos e dividem-se um número reduzido de vezes em cultura. A criança nasce com aspecto normal, verificando-se redução do ritmo de crescimento ao fim do primeiro ano de vida. A criança apresenta baixa estatura, ausência de tecido celular subcutâneo, micrognatia e alopecia. Durante a infância começa a sofrer um processo de envelhecimento acelerado com aparecimento de rugas, calvície, aterosclerose, doença cardíaca coronária e insuficiência cardíaca congestiva. A morte ocorre habitualmente por enfarte do miocárdio ou acidente vascular cerebral cerca dos 12 anos, sendo raros os casos que chegam aos 20 anos.

A síndrome de Werner também representa uma forma de envelhecimento humano precoce. Ocorre com uma frequência de 1/330.000. É uma situação de natureza autossômica recessiva para um *locus* do braço curto do cromossoma 8. Por isso, é mais frequente nas populações com elevada consanguinidade. Está em causa a presença de telómeros mais curtos desde o início da vida e falta de actividade da enzima helicase. As células destes doentes, quando postas em cultura, dividem-se apenas cerca de um terço do número de vezes observado em células retiradas de indivíduos normais. Os indivíduos são normais até à adolescência. O quadro evolui com baixa estatura e, numa fase precoce da vida, enfraquecimento e branqueamento do cabelo, uma face envelhecida, cataratas, calcificações subcutâneas, atrofia da pele e do tecido subcutâneo dos membros, osteoporose, diabetes *mellitus*, aterosclerose, instabilidade cromossômica e susceptibilidade aumentada para diversas formas de tumores benignos e malignos. A morte ocorre em média na década dos 40 anos, com as características próprias da velhice, habitualmente com enfarte do miocárdio ou cancro. Nestes casos, o cancro é mais frequentemente de origem mesenquimatosa, em comparação com a origem epitelial mais comumente observada no envelhecimento normal.

(Página deixada propositadamente em branco)

CAPÍTULO XVIII

GENES E CANCRO

1. INTRODUÇÃO

Actualmente, um em cada quatro europeus desenvolve alguma forma de cancro durante a vida. Mesmo para as neoplasias comuns, há uma percentagem de casos de cancro, entre 5% e 10%, de natureza hereditária. Se a percentagem pode parecer relativamente baixa em relação aos casos esporádicos, nas famílias em que está presente uma forma mutada de um gene que cria aumento de susceptibilidade, a percentagem de doentes pode aproximar-se de 50%, dependendo esta percentagem da penetrância mais ou menos elevada da mutação presente.

O cancro, como doença multifactorial, desenvolve-se pela interacção de factores ambientais e de factores genéticos. No processo que conduz ao cancro, é possível definir várias etapas, correspondentes a acontecimentos mutagénicos, em média em 4 a 6 genes, que conferem vantagem em termos de sobrevivência das células em que ocorrem. Por este motivo, a incidência da maioria dos tumores aumenta com a idade.

Uma determinada mutação pode conferir susceptibilidade que apenas se exprime face à exposição a factores desencadeantes ambientais (v.g., fumo do tabaco) como ocorre com determinados fenótipos metabólicos ou com defeitos de reparação do DNA. Na presença da agressão, pode ocorrer uma nova mutação que confira vantagem proliferativa à célula com autonomização subsequente e expansão clonal. A selecção clonal pode também partir de uma população estimulada de uma forma policlonal (o que origina hiperplasia).

Subsequentemente, uma das células adquire uma mutação que lhe confere vantagem e origina um clone. Nos dois casos, a ocorrência de mutações adicionais poderá conduzir à aquisição de um fenótipo invasivo e metastático. O crescimento de um tumor depende do ritmo proliferativo das células tumorais, da percentagem de células em proliferação e da extensão da morte de células tumorais.

As células neoplásicas exprimem genes diferentes (ou, pelo menos, diferentes em termos qualitativos ou quantitativos) dos que são expressos nas células normais correspondentes, podem ter uma capacidade proliferativa aumentada, podem evidenciar autocrinia, têm capacidade angiogénica, adquirem capacidade metastática, iludem o sistema de vigilância imunológica e resistem à apoptose.

Em células neoplásicas provenientes de diversos órgãos, é frequente encontrarem-se alterações nos mesmos genes pertencentes a um grupo restrito (v.g., *MYC*, *RAS*, *TP53* ou *RB*), dada a sua relevância no controlo da proliferação celular.

2. O CANCRO COMO DOENÇA DE GENES

As neoplasias, sejam esporádicas ou hereditárias, têm origem genética, na medida em que resultam de alterações mais ou menos complexas e sucessivas da informação genética presente numa determinada célula. Estas alterações podem afectar mecanismos de regulação da proliferação celular, da apoptose ou da senescência celular.

Os genes são o “órgão” em causa, quando se aborda a genética do cancro. A evidência dada aos genes resulta de múltiplas observações, como sejam:

- a identificação de síndromas de natureza hereditária em que o risco de ocorrência de cancro nos membros de uma família é muito maior do que na população geral;
- a associação entre alterações genéticas e cancro (v.g., alterações cromossómicas específicas de determinados tipos de neoplasias);
- a correlação entre a agressão do DNA por agentes de natureza física, química ou biológica que actuam como carcinogénicos e o aparecimento de fenótipos celulares transformados;

- a capacidade oncogénica de alguns retrovírus devida à presença no seu genoma de um oncogene;
- a transformação celular resultante da transfeção com DNA extraído de células neoplásicas;
- a correlação entre a incapacidade para reparar o DNA alterado e a grande susceptibilidade dos indivíduos afectados para desenvolverem neoplasias;
- as alterações epigenéticas da expressão de determinados genes em relação com a ocorrência de tumores.

3. O DIÁLOGO ENTRE O GENOMA E O MEIO AMBIENTE

Os factores ambientais que têm sido identificados como agentes etiológicos do cancro, são de natureza química, física e biológica. A exposição aos agentes ambientais está associada ao desenvolvimento da grande maioria dos casos de cancro.

Em relação com a exposição a moléculas ambientais que os organismos vivos têm necessidade de metabolizar ou eliminar, foram seleccionados múltiplos e complexos sistemas enzimáticos, altamente polimórficos. A iniciação, a promoção e a progressão de um tumor, como etapas da carcinogénese química, resultam da interacção entre factores ambientais e individuais. A predisposição individual é criada ou aumentada pelos agentes iniciadores e a proliferação é provocada, numa segunda etapa, pelos agentes promotores cuja acção conduz à malignidade. O citocromo P450 está frequentemente envolvido na activação de promotores tumorais. São exemplos de promotores, as dioxinas e os agentes que libertam radicais livres como o tetracloreto de carbono e os raios ultravioleta, bem como moléculas endógenas como os ácidos biliares e algumas hormonas.

Quando se comparam diferentes indivíduos, observa-se uma variação interindividual no que concerne à susceptibilidade para o cancro, decorrente da presença de determinados genótipos herdados e dos factores ambientais. A susceptibilidade ou a resistência para o cancro traduzem a probabilidade de um indivíduo vir a desenvolver cancro num determinado período da vida ou durante a vida, consoante o período de tempo em que se considere a incidência.

Knudson, em 1985, dividiu uma população em quatro unidades demográficas — que designou por oncodemes — cada uma com diferentes expectativas de vir a ter cancro em função das variáveis ambientais e hereditárias (Fig. XVIII.1).

O primeiro grupo é constituído pelos indivíduos com cancro provocado pela exposição inevitável a mutagénios ambientais (v. g., radiação cósmica) e pela instabilidade inerente ao material genético. Cada cancro tem uma determinada incidência universal, devida à mutagénese espontânea. No seu conjunto, representariam cerca de 20% dos casos de cancros e corresponderiam ao número de cancros não erradicáveis.

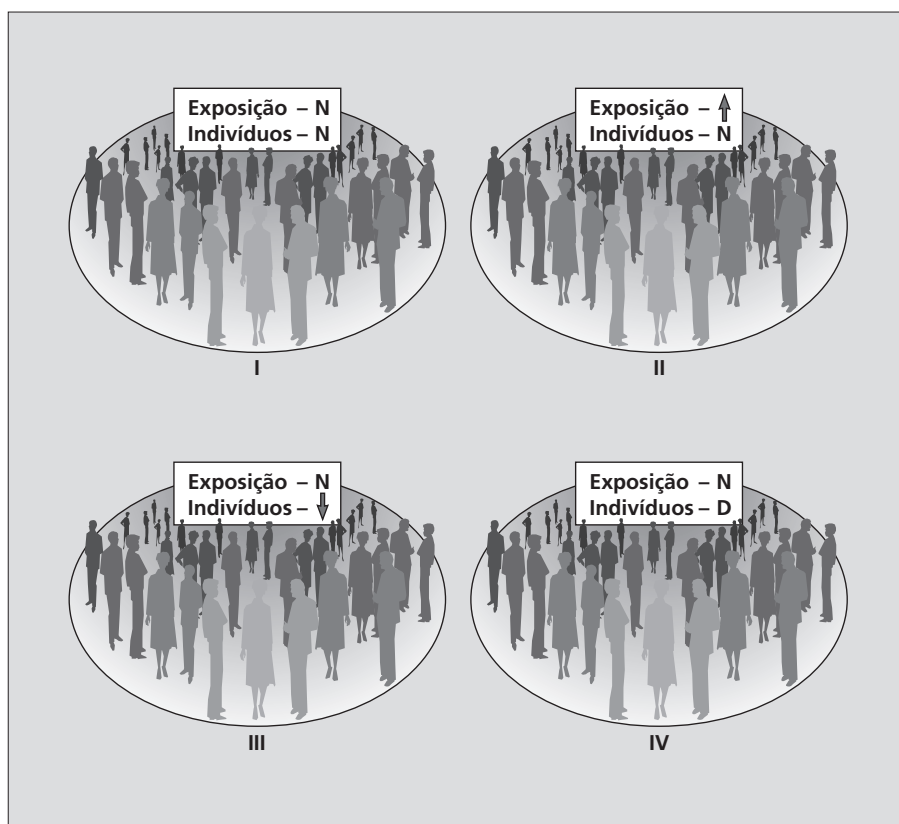


Fig. XVIII.1 – Oncodemes de Knudson. I – exposição ambiental normal e condições genotípicas normais; II – exposição ambiental aumentada e condições genotípicas normais; III – exposição ambiental normal e condições genotípicas deficientes; IV – exposição ambiental normal e condições genotípicas marcadas por mutações de natureza dominante, em termos de susceptibilidade para o cancro.

O segundo grupo engloba os indivíduos com câncros devidos à exposição excessiva a mutagénicos. Nestas condições, são ultrapassados os níveis basais de exposição. A capacidade constitucional dos indivíduos é suficiente para fazer face aos níveis basais mas é insuficiente para responder às solicitações adicionais.

O terceiro grupo inclui os indivíduos em que o cancro resulta de um insuficiência genética relativa para tolerar a exposição a carcinogénicos, não havendo necessidade de ultrapassar os níveis basais para se desenvolver cancro. Engloba situações, como o *xeroderma pigmentosum*, em que se verificam alterações em genes cujos produtos são responsáveis pela manutenção da estabilidade do genoma, bem como os casos em que ocorre um fenótipo metabólico (um polimorfismo) favorecedor da activação de mutagénicos.

O quarto oncogene é constituído por indivíduos com um risco muito alto de desenvolver cancro. São as situações comumente designadas por hereditárias, embora, na realidade, o que é herdado é uma elevada predisposição para o cancro, resultante da presença de mutações dominantes em genes envolvidos directamente na regulação da proliferação celular. O ambiente terá um papel pouco significativo.

O conhecimento do “diálogo” entre os genes e o meio ambiente, poderá permitir modificar a susceptibilidade para o cancro, por alteração da exposição ambiental, nomeadamente a agentes genotóxicos. O diálogo entre o médico e o consultante, no ambiente de uma consulta de Genética Tumoral apresenta-se como o melhor recurso para perceber o que está em causa e para planear as intervenções mais adequadas.

4. CONSULTA DE GENÉTICA TUMORAL

4.1. FINALIDADES DA CONSULTA DE GENÉTICA TUMORAL

A recolha da história pregressa e da história familiar no âmbito de uma consulta de Genética Tumoral tem, como primeira finalidade, a diferenciação entre a natureza esporádica ou hereditária, para além do apoio ao diagnóstico, ao prognóstico, às intervenções para diagnóstico pré-sintomático

quando indicado, aos cálculos de risco para o consulente ou familiares, às intervenções preventivas e à identificação dos membros da família para os quais está indicado o acompanhamento no âmbito desta consulta (Tabela XVIII.1). A manutenção de um registo dos casos familiares e o envolvimento na investigação, na educação médica e na educação das populações são também finalidades da consulta de Genética Tumoral.

Tabela XVIII.1. Finalidades de uma consulta de Genética Tumoral

FINALIDADES
Esclarecer a natureza esporádica ou hereditária da condição tumoral
Contribuir para um prognóstico preciso
Apoiar as propostas de diagnóstico pré-sintomático
Deduzir o risco para cancro no consulente e em familiares
Apoiar as propostas de índole médica ou cirúrgica para intervenção preventiva
Manter um registo dos casos familiares
Participar na investigação, na educação médica e na educação das populações

4.2. CRITÉRIOS PARA ACESSO A UMA CONSULTA DE GENÉTICA TUMORAL

Nos critérios de acesso à consulta de Genética Tumoral, deve ser tida em consideração a sua natureza genérica (Tabela XVIII.2). Devem também estar sempre presentes, as características das condições hereditárias (Tabela XVIII.3).

Tabela XVIII.2. Critérios para acesso a uma consulta de Genética Tumoral

CRITÉRIOS
1. Confluência de neoplasias comuns numa família: a) três ou mais neoplasias do mesmo tipo ou pertencentes a um espectro neoplásico conhecido (v.g., mama, ovário, endométrio, colon e próstata), em familiares próximos, sobretudo se ocorrerem em idades jovens; b) duas neoplasias do mesmo tipo ou de um espectro conhecido, em familiares próximos, sendo uma delas diagnosticada antes dos 50 anos; c) existência de um familiar em primeiro grau com uma neoplasia comum diagnosticada antes dos 40 anos ou, no caso da próstata, antes dos 55 anos;
2. Presença de duas ou mais neoplasias pouco frequentes num mesmo indivíduo ou em familiares próximos (v.g., tumor cerebral e sarcoma);
3. Ocorrência de cancro em contexto sindrômico (v.g., glioma na neurofibromatose tipo I, melanoma na síndrome de névus displásicos).

Tabela XVIII.3. Características dos tumores hereditários

CARACTERÍSTICAS
Precocidade do aparecimento
Elevado número de casos na família
Proximidade do parentesco entre os indivíduos atingidos
Bilateralidade
Multicentralidade sincrónica ou metacrónica
Diversos tipos de tumores primários pertencentes a um espectro, num mesmo indivíduo ou nos membros da família
Maior risco de ocorrência em indivíduos de sexo em que o tumor é raro

4.3. TESTES PREDIZENTES DE SUSCEPTIBILIDADE PARA O CANCRO

Os testes predizentes devem ser realizados no âmbito de uma consulta de Genética Tumoral, dada a possibilidade de os consulentes serem confrontados com resultados analíticos que os coloquem perante um elevado risco para desenvolverem cancro, na maioria das vezes não tendo capacidade para perceberem o alcance e as limitações desses resultados, e sendo ou sentindo-se saudáveis. Por isso, os médicos desta consulta devem ter experiência no que respeita às metodologias clínicas e laboratoriais aplicadas à oncogenética, à interpretação dos resultados de genética molecular e à forma de se relacionar com os consulentes. Por outro lado, o apoio psicológico dos consulentes deve ser assegurado.

Em indivíduos adultos, a realização de testes predizentes e o conhecimento do seu resultado obedecem a diversas motivações:

- decisão sobre o casamento e a constituição de família;
- planeamento do futuro em termos de riscos financeiros e de responsabilidades profissionais;
- combate à ansiedade motivada por experiências prévias relacionadas com a doença neoplásica;
- aceitação de intervenções de índole profilática (v.g., cirurgia do cólon, da mama ou do ovário), ou adopção de estilos de vida que contrariem o risco genético;
- aceitação da inclusão em projectos de investigação sobre propostas de quimioprevenção ou de rastreio;
- identificação dos familiares não atingidos para que se libertem de protocolos de rastreio caros e invasivos.

Os teste predizentes podem também estar associados a inconvenientes, entre os quais se destacam:

- a dificuldade em lidar com a certeza de ser portador de um gene de susceptibilidade para cancro e a possibilidade de desenvolver patologia do foro psiquiátrico;
- a eventual perturbação decorrente de se reconhecer como transmissor a um filho, da susceptibilidade para o cancro;
- o prejuízo a nível do emprego ou de prémios de seguros se for obrigado a declarar o seu estatuto genotípico, ou se, eventualmente, não for mantida a confidencialidade;
- a incerteza frequente, no que respeita à previsão sobre os órgãos que serão atingidos, ao risco para os diferentes órgãos atingidos, à idade de aparecimento e à agressividade da doença;
- a dificuldade que, por vezes, existe de estabelecer o balanço entre o benefício e o risco para os meios disponíveis para rastreio (v.g., vantagem da mamografia em idades muito jovens em mulheres portadoras de heterozigotia para o gene da ataxia telangiectasia ou de mutação do gene *TP53*, versus aumento de risco iatrogénico para cancro);
- a falta de meios de rastreio que assegurem, de forma eficaz, a detecção precoce de lesões neoplásicas, e de opções terapêuticas ou preventivas que permitam ganhos em termos de cura ou de sobrevivência.

4.4. SEGUIMENTO DOS CONSULENTES

Numa consulta de Genética Tumoral, o seguimento dos consulentes depende, em primeiro lugar, da caracterização da situação como esporádica ou hereditária (Fig. XVIII.2). Num segundo nível, deverão ser equacionadas três possibilidades para as condições hereditárias:

- o diagnóstico sintomático é possível;
- não é aparente a presença de doença e resta a proposta de rastreio por ausência de testes genéticos aplicáveis;
- é possível a realização de testes predizentes.

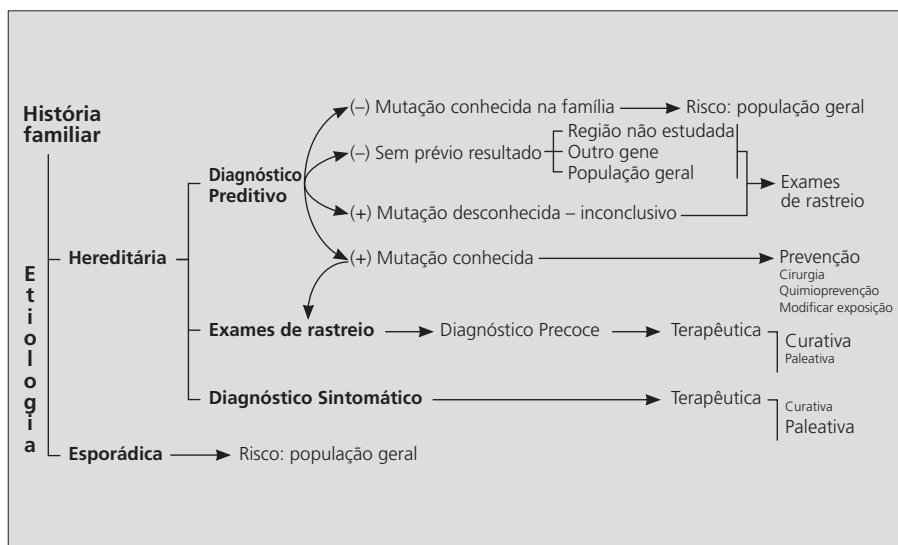


Fig. XVIII.2 – Diagrama para seguimento de consulentes em Consulta de Genética Tumoral.

Se a mutação presente no consulente já tiver sido identificada em indivíduos doentes, poderá ser indicado o risco para vir a ter cancro e deverão ser apresentadas e analisadas com o consulente as soluções e os recursos disponíveis para rastreio, diagnóstico precoce e prevenção. Se a mutação presente no consulente for desconhecida, o resultado é inconclusivo. A situação deve ser analisada com o consulente e devem ser oferecidos os exames de rastreio disponíveis mais adequados.

Quando não é detectada nenhuma mutação, colocam-se duas possibilidades, com ilações diversas. Se não é encontrada a mutação patogénica conhecida na família, o risco para cancro, no indivíduo estudado, é o da população geral. Se não é detectada nenhuma mutação, mas não há resultados prévios na família, fica a incerteza, uma vez que o resultado se pode dever a não ter sido estudada a região correcta, ao facto de estar em causa outro gene, ou então à inexistência de mutação, sendo, neste caso o risco para cancro igual ao da população geral. Na ausência de uma certeza, devem ser oferecidos os exames de rastreio que a arte médica considere mais adequados.

4.5. DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

No decorrer da consulta de Genética Tumoral que antecede a decisão de recolher material biológico para extracção de DNA e a realização de estudos moleculares, é explicada a necessidade de o consulente assinar, juntamente com o médico, uma Declaração de Consentimento Informado⁽¹⁾. Os termos da declaração devem ser lidos e descodificados da forma julgada mais adequada à melhor compreensão de cada consulente. Antes da assinatura, deve ainda ser perguntado ao consulente se não tem dúvidas em relação ao seu conteúdo e às implicações que podem advir da realização do estudo genético, manifestando o médico toda a disponibilidade para prestar os esclarecimentos adicionais que forem julgados oportunos.

⁽¹⁾ Declaração de Consentimento Informado (Modelo utilizado na Consulta de Tumores Hereditários dos Hospitais da Universidade de Coimbra):

No decorrer da Consulta de Tumores Hereditários foram-me explicadas, de forma compreensível e adequada, as bases genéticas que podem estar subjacentes à situação tumoral que motivou a minha vinda à Consulta. Dessa forma, pude compreender a importância e as limitações dos estudos moleculares de DNA e as vantagens que podem advir do seu conhecimento para mim e para os meus familiares, em termos de determinação do risco, de planeamento do seguimento para diagnóstico precoce e de eventual intervenção preventiva. Foi-me dada oportunidade de esclarecer todas as minhas dúvidas.

A assinatura deste consentimento confirma a minha autorização para a colheita de sangue e para que no DNA a extrair sejam feitas as análises de mutações associadas à minha condição ou de elementos da minha família, que se mostrem adequadas no momento presente e que haja disponibilidade para executar, ou que venham a ser consideradas importantes no futuro face à evolução do conhecimento científico.

Até à comunicação dos resultados, poderei optar por não os conhecer. Foi-me garantido que os resultados serão mantidos em rigorosa confidencialidade e que apenas serão comunicados aos médicos assistentes com a finalidade de orientar o rastreio, o tratamento e o meu seguimento ou de familiares meus. A amostra do meu DNA que fica em arquivo poderá ser removida e destruída a todo o momento, se vier a ser essa a minha decisão expressa.

Autorizo ainda a utilização do DNA em investigação médica destinada a aprofundar o conhecimento da origem das situações tumorais, uma vez asseguradas as condições estritas de anonimato, por codificação das amostras de DNA.

Nome do consulente
Assinatura do consulente
O Médico (nome e assinatura)
Local e data

5. CANCRO HEREDITÁRIO

O mesmo tipo de tumor pode ocorrer devido à acumulação de mutações de origem somática ou devido à herança, ao longo das gerações, de uma mutação hereditária (Tabela XVIII.3).

5.1. POLIPOSE CÓLICA FAMILIAR

A FAP é uma síndrome neoplásica de natureza dominante, com uma prevalência próxima de 1 em cada 10.000 nascimentos. O desenvolvimento do tumor é devido a mutações do gene supressor tumoral *APC*. É provável que a expressão do gene esteja sob a influência de um *locus* modificador, dada a diversidade das apresentações clínicas registadas numa família (para uma mesma mutação).

As mutações do gene *APC* conduzem, em mais de 90% dos casos de FAP, a proteínas truncadas não funcionais. A deleção ou inserção de pequenas sequências, no exão 15, à volta do codão 1309, constituem as mutações mais frequentes.

As formas mutadas da proteína *APC* dimerizam, na maioria das vezes, com a forma normal desta proteína, actuando de um modo dominante negativo no aparecimento da FAP. Em alguns casos, a proteína mutada é incapaz de dimerizar, o que poderá explicar o número reduzido de pólipos em famílias com formas atenuadas de FAP.

Os pólipos aparecem predominantemente no cólon distal e no recto, ainda durante a infância (em média pelos 10 anos de idade), vários anos antes do aparecimento de cancro. Podem também surgir no tracto gastrointestinal superior. Em média, o número de pólipos cólicos, no momento do diagnóstico é igual ou superior a 100, ainda que um menor número, quando associado a história familiar de polipose cólica, seja muito sugestivo de FAP. Entre os 30 e os 40 anos de idade, o número de pólipos é, em média, de cerca de 1000 (Fig. XVIII.3). Na grande maioria dos casos, há também hiperplasia congénita do epitélio pigmentar da retina, visível por fundoscopia, o que constitui um excelente sinal da presença de mutações do gene *APC*.

Na ausência de colectomia total profilática, a evolução para carcinoma colorrectal é precoce, com uma idade média de diagnóstico de 39 anos.

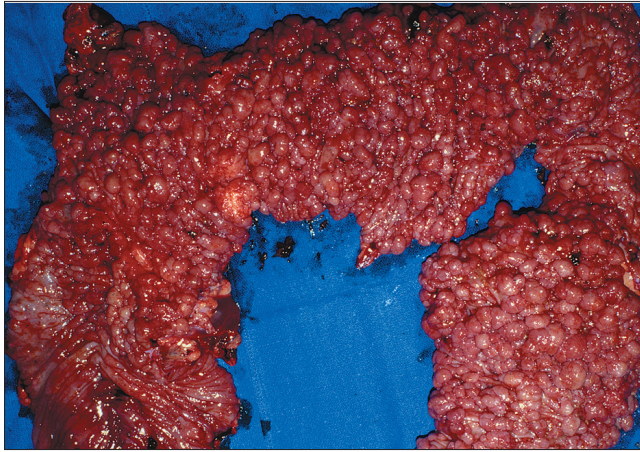


Fig. XVIII.3 – Imagem do lúmen do cólon numa situação de polipose cólica familiar. É visível o número muito elevado de pólipos.

Cerca de 100% dos doentes com FAP têm cancro colorrectal, por volta dos 50 anos de idade.

Uma possível sequência de acontecimentos para desenvolvimento do fenótipo metastático parece incluir (Fig. XVIII.4):

- hiperproliferação do epitélio cólico e formação de adenomas da classe I, na presença de mutação herdada do gene *APC*, ou mutação somática nos casos esporádicos;
- subsequente mutação do protooncogene *KRAS*, com evolução dos adenomas para a classe II;
- inactivação do antioncogene *DCC* e evolução para adenomas da classe III;
- mutação do antioncogene *TP53* e evolução para carcinoma *in situ*;
- mutação em genes inibidores da metastização e estabelecimento de metástases.

Nos membros das famílias com história de FAP, a detecção molecular da mutação no gene *APC*, em linfócitos de sangue periférico, deve ser feita logo após o nascimento ou nos primeiros anos de vida. Também nos indivíduos em que a doença foi confirmada clinicamente, deve ser feita a pesquisa da mutação presente na família.

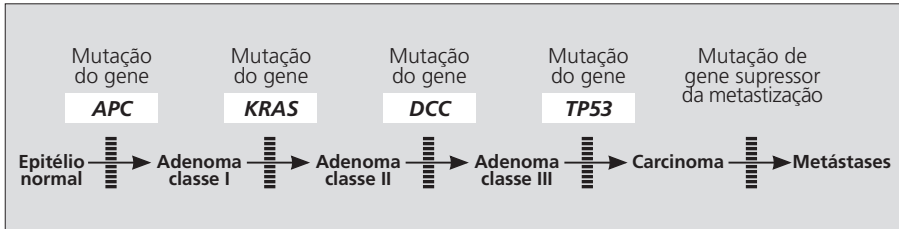


Fig. XVIII.4 – Polipose cólica familiar. Sequência de acontecimentos conducentes a carcinoma metastático do cólon. Adaptado de Vogelstein B e Kinzler KW, Trends Genet 9:138, 1993.

A vigilância de indivíduos portadores de mutação em *APC* deve ser feita a partir dos 10 anos de idade, por rectosigmoidoscopia. No entanto, quando há história de malignização precoce, deve ser feita colonoscopia completa. Uma vez feito o diagnóstico de FAP, a colonoscopia deve ser realizada cada 6 a 12 meses. Deve também ser feita endoscopia gastroduodenal, cada 2 a 3 anos, para rastreio de pólipos. Após a detecção de pólipos, deve ser feita endoscopia anual. Para prevenir o desenvolvimento de carcinoma do cólon, a colectomia total profilática deve ser realizada cerca dos 20 anos, ou em idade mais precoce, tendo em consideração a idade em que ocorreram os casos familiares.

Nos familiares em risco (Fig. XVIII.5), em que não seja detectada a mutação do gene *APC*, está indicada a realização de rectosigmoidoscopia aos 18, 25 e 35 anos. A colonoscopia deverá iniciar-se aos 50 anos, com uma periodicidade de 3 a 5 anos.

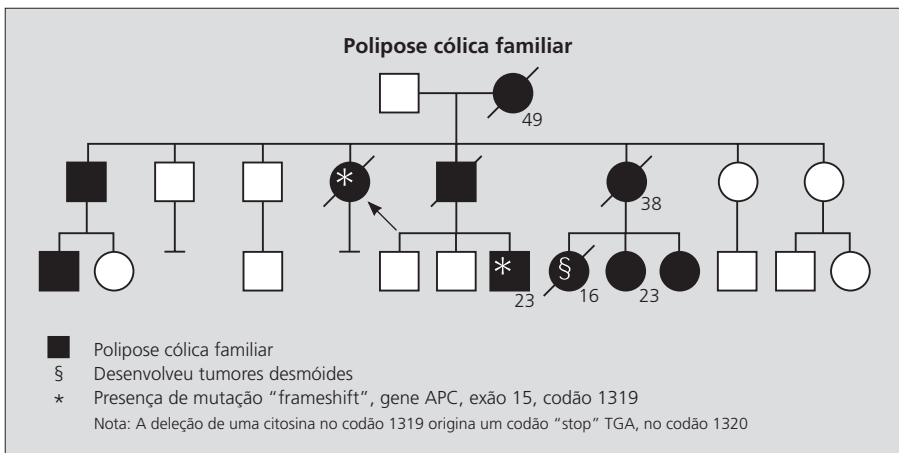


Fig. XVIII.5 – Heredograma característico de polipose cólica familiar, variante de Gardner. É visível a natureza autossômica dominante desta condição.

5.2. CANCRO DA MAMA

O cancro da mama afecta, aproximadamente, uma em cada 10 a uma em cada 12 mulheres nos países ocidentais. Em Portugal, no decénio 1976-85, o cancro da mama foi responsável por 30% dos cancros diagnosticados em mulheres. A incidência de cancro da mama tem aumentado de forma sistemática na maior parte dos países, tendo-se verificado um aumento de 2,4% por ano em Portugal, entre 1976 e 1985. É considerada uma doença da civilização actual!

Encontram-se duas formas de cancro da mama: uma forma esporádica, responsável pela grande maioria das situações e uma forma hereditária (Fig. XVIII.6) responsável por cerca de 5% a 10% de todos os cancros da mama e pela maioria dos que têm um início precoce. Consideram-se casos precoces de cancro da mama quando ocorrem antes dos 50 anos de idade.

Considera-se que há um baixo risco para cancro da mama quando este é inferior a 15% durante a vida, um risco moderado quando se situa entre 15% e 30% e um risco elevado quando é superior a 30%. Na Tabela XVIII.4 estão representados os valores de risco em função da história familiar.

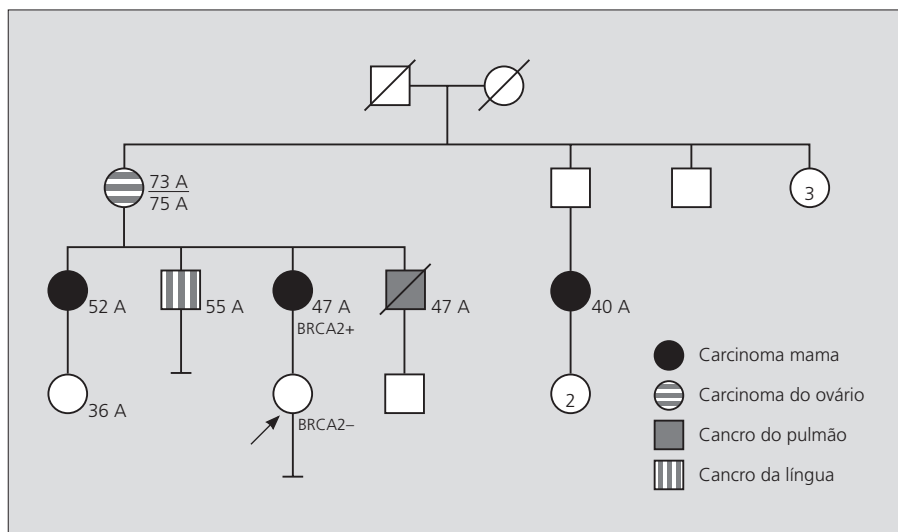


Fig. XVIII.6 – Heredograma de uma família em que está presente uma síndrome neoplásica mama-ovário por mutação do gene BRCA2. Trata-se de uma deleção de 4 bp, no exão 11 - BRCA2 (3036del4).

Tabela XVIII.4. Risco relativo para cancro da mama na mulher, em função da história familiar

FAMILIAR DOENTE	CONDIÇÃO OBSERVADA	RR
Irmã	Pós-menopausa	2-3
Irmã	Pré-menopausa	5
1º grau	Pré-menopausa, bilateral	9
Irmã	Bilateral, <50 anos	6
Irmã	Bilateral, <40 anos	10,5
Mãe + irmã		14
Mãe + irmã	Pré-menopausa, bilateral	39, 47-51*

(*) Valores referidos em trabalhos diferentes.

Há diversos genes envolvidos no cancro da mama hereditário (Tabela XVIII.5), sendo as mutações em *BRCA1* e *BRCA2* as que surgem com mais frequência. A penetrância das mutações do gene *BRCA1* pode atingir cerca de 80%, pelos 70 anos. O risco para a mama contralateral, numa mulher com mutação em *BRCA1* que tenha sido afectada por cancro da mama é da ordem de 65% aos 70 anos. Para o cancro do ovário, o risco é de cerca de 45%. Há ainda um risco de 6% para cancro do cólon e de 8% para cancro da próstata. Nas mulheres com mutação em *BRCA2*, o risco para cancro da mama aos 70 anos pode chegar aos 85%, sendo de cerca de 10% para o cancro do ovário. As mutações em *BRCA2* estão associadas a um risco de 6% de ocorrência de cancro da mama no sexo masculino.

Tabela XVIII.5. Genes associados a formas hereditárias de cancro da mama

SÍNDROMA FAMILIAR (genes mutados)	TIPOS DE CANCRO/PENETRÂNCIA, EM PORTADORES DE MUTAÇÕES	TIPO DE HEREDITARIEDADE
Síndrome mama/ovário (<i>BRCA1</i> - 17q21.1)	Mama (≈85%); ovário (≈45%); cólon (6%, aos 70 anos); próstata (8%, aos 70 anos)	AD
Cancro da mama (<i>BRCA2</i> - 13q12-13)	Mama (≈85%); ovário (10% a 15%); c. mama no sexo masculino (6%, aos 70 anos)	AD
Muir-Torré (variante de HNPCC)	Espectro de tumores de HNPCC, com maior frequência de múltiplos tumores primitivos; c. da laringe; c. mama; carcinoma basocelular; tumores gl. sebáceas; queratoacantomas	AD
Cowden (<i>PTEN</i> - 10q22-23)	Múltiplos hamartomas cutâneos; macrocefalia; c. mama em mulheres jovens; c. da tiróide (papilar); c. gastro-intestinais; c. da pele	AD
Peutz-Jeghers (<i>STK11</i> - 19p13)	Pólipos/hamartomas (sobretudo no jejuno); c. mama (idade média: 35 anos, frequentemente bilateral); c. cólon, estômago e duodeno; tumores do ovário ("sex cord"); c. células de Sertoli; pigmentação mucocutânea	AD
Ataxia telangiectasia (<i>ATM</i> - 11q22-23)	Ataxia telangiectasia; possível excesso de c. mama em indivíduos heterozigóticos	AR
Li-Fraumeni (<i>TP53</i> - 17p13.1)	Tumores na infância: sarcomas, cérebro, leucemia, suprarrenais; outras localizações tumorais: c. mama (idade jovem), pulmão, laringe	AD

AD – Autossómico dominante; AR – Autossómico recessivo.

O rastreio das mulheres e dos homens com elevado risco para cancro da mama deve ser precoce e regular (Tabela XVIII.6).

Tabela XVIII.6. Rastreio para diagnóstico precoce de cancro da mama, ovário, próstata ou cólon, na presença de mutações em *BRCA1* ou *BRCA2*

EXAME DE RASTREIO	PERIODICIDADE	INÍCIO
Vigilância da mama: – Auto-exame da mama – Exame clínico com avaliação da mama – Mamografia + ecografia concomitante	Mensal 2-4 vezes/ano Anual	≥18 anos ≥25-35 anos ≥25-35 anos
Vigilância do ovário: – Consulta com avaliação pélvica – Ecografia transvaginal com Doppler a cores – CA125	Semestral Semestral Semestral	≥25-35 anos ≥25-35 anos ≥25-35 anos
Vigilância da próstata: – Toque rectal – PSA	Anual Anual	≥50 anos ≥50 anos
Vigilância do cólon: – PSO – Colonoscopia	Anual Cada 3-5 anos	≥50 anos ≥50 anos

PSO – pesquisa de sangue oculto nas fezes; PSA – antígeno específico da próstata.

As intervenções para prevenção do cancro da mama em portadores de mutações patogénicas em *BRCA1* ou *BRCA2* passam pela proposta de mastectomia total bilateral e de salpingo-ooforectomia bilateral, bem como pela quimioprevenção (Tabela XVIII.7).

Tabela XVIII.7. Prevenção do cancro da mama e do ovário em portadores de mutações em *BRCA1* ou *BRCA2*

TIPO DE ACTUAÇÃO	IDADE
Mastectomia total bilateral	Opção a considerar a partir dos 35 anos
Salpingo-ooforectomia bilateral	Opção a considerar a partir dos 35 anos (e da decisão da mulher de não voltar a engravidar)
Quimioprevenção: - Para o cancro da mama (tamoxifeno) - Para o cancro do ovário (contracepção oral)	Opção a considerar a partir dos 35 anos (e da decisão da mulher de não voltar a engravidar)

5.3. SÍNDROMA DE LYNCH E CARCINOMA COLORRECTAL

A síndrome de Lynch tipo II ou HNPCC é a causa mais frequente de cancro do cólon de natureza hereditária. No espectro desta síndrome incluem-se ainda os tumores do endométrio, do estômago, ovário, intestino delgado, sistema hepatobiliar e das vias urinárias altas. É de transmissão autossómica dominante (Fig. XVIII.7), com penetrância incompleta estimada em cerca de 70%. As mutações dos genes *MSH2*, *MLH1*, *PMS1*, *PMS2* e *MSH6*, envolvidos na reparação dos erros de emparelhamento, têm sido associadas a HNPCC. A instabilidade de microssatélites ocorre em cerca de 95% dos tumores da síndrome HNPCC.

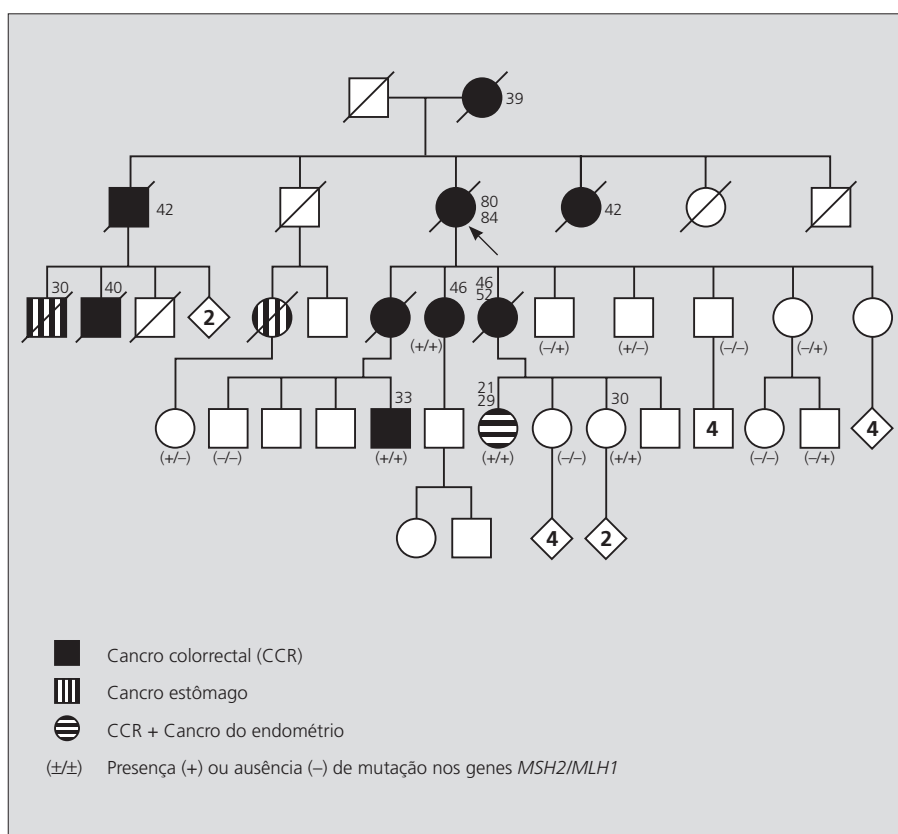


Fig. XVIII.7 – Heredograma característico de uma família com síndrome de Lynch tipo II.

Para o diagnóstico clínico de HNPCC, foram estabelecidos os critérios de Amesterdão (Tabela XVIII.8) e, posteriormente, foram definidos os critérios de Bethesda (Tabela XVIII.9).

Tabela XVIII.8. Critérios de Amesterdão para diagnóstico de HNPCC

CRITÉRIOS DE AMESTERDÃO
Carcinoma colorrectal em, pelo menos, três familiares
Um doente deve ser familiar em 1º grau dos outros dois afectados
Devem existir pelo menos duas gerações consecutivas afectadas
Um caso, pelo menos, deve ser diagnosticado antes dos 50 anos
A FAP deve ser excluída

Tabela XVIII.9. Critérios de Bethesda para diagnóstico de HNPCC

CRITÉRIOS DE BETHESDA
Indivíduos com CCR cuja família apresenta critérios de Amesterdão
Indivíduos com duas neoplasias sincrónicas ou metacrónicas, do espectro do HNPCC
Indivíduos com CCR e um familiar em 1º grau com CCR e/ou neoplasia do espectro HNPCC e/ou adenoma colorrectal; uma das neoplasias diagnosticada antes dos 45 anos e o adenoma antes dos 40 anos
Indivíduos com CCR ou carcinoma do endométrio diagnosticado antes dos 45 anos
Indivíduos com carcinoma do cólon direito e com padrão histológico indiferenciado (sólido/cribiforme) diagnosticado antes dos 45 anos
Indivíduos com CCR de células em anel de sinete (mais de 50% das células) diagnosticado antes dos 40 anos
Indivíduos com adenomas diagnosticados antes dos 40 anos

CCR – carcinoma colorrectal.

O programa de vigilância dos indivíduos abrangidos por HNPCC, deve considerar os órgãos em risco, diferenciando as intervenções, consoante haja ou não diagnóstico molecular positivo nos indivíduos (Tabela XVIII.10). Os demais órgãos do espectro, devem ser vigiados anualmente, sempre que tenha havido membros na família com cancro localizado no respectivo órgão.

As medidas de prevenção destinadas aos portadores de mutações patogénicas associadas a HNPCC, encontram-se resumidas na Tabela XVIII.11.

Tabela XVIII.10. Protocolo de vigilância dos indivíduos que tiveram cancro do espectro da síndrome de Lynch

EXAME DE RASTREIO	PERIODICIDADE	IDADE DE INÍCIO
A. Presença de critérios clínicos para HNPCC e diagnóstico molecular		
Exame médico	Semestral/anual	20-25 anos
Colonoscopia total	Cada 1-3 anos Anual	20-25 anos 40 anos
Histeroscopia e biópsia dirigida	Anual	25 anos
Ecografia transvaginal/Doppler a cores e doseamento do CA125	Anual	25 anos
B. Presença de critérios clínicos e diagnóstico molecular negativo		
Colonoscopia	De 2 em 2 anos	20-25 anos

Tabela XVIII.11. Intervenções preventivas em portadores de mutações patogénicas associadas a HNPCC

TIPO DE INTERVENÇÃO	IDADE
Colectomia total	Após detecção de pólipos
Histerectomia total + Salpingo-ooforectomia bilateral	A considerar a partir dos 35 anos

(Página deixada propositadamente em branco)

CAPÍTULO XIX

TERAPIA GÉNICA

1. INTRODUÇÃO

A terapia génica tem como finalidade curar uma doença de natureza genética, por integração, em células do organismo, de uma cópia normal de um gene mutado ou em falta, ou por modulação da expressão génica.

A terapia génica apresenta-se como a quarta revolução nas abordagens médicas das doenças. A primeira consistiu no combate às infecções através de medidas sanitárias, a segunda assentou no aperfeiçoamento da cirurgia com anestesia e a terceira processou-se através da vacinação e do recurso aos antibióticos. As técnicas de recombinação do DNA contribuíram decisivamente para o desenvolvimento da terapia génica.

Em termos de hereditariedade para uma doença, a prevenção primária implica que seja evitada a formação do genótipo anormal responsável, o que pressupõe uma intervenção antes da formação do embrião e do seu desenvolvimento. Quando não tem lugar a prevenção primária, o recurso consiste na prevenção secundária através do DPI seguido de não implantação do embrião no útero materno, ou do DPN e da eventual interrupção da gravidez. A prevenção secundária permite alterar a frequência de nascimentos com um determinado fenótipo anormal. Na ausência de prevenção primária ou secundária, haverá que recorrer às formas de tratamento disponíveis (Tabela XIX.1), actuando a nível sintomático ou, quando for possível, a nível do genótipo através de terapia génica.

Tabela XIX.1. Métodos de intervenção terapêutica em doenças de natureza genética

MÉTODOS DE INTERVENÇÃO
Afastamento de factores ambientais deletérios
Modificação da dieta
Terapêutica medicamentosa
Cirurgia para exérese do órgão doente
Administração do produto em falta
Modulação da expressão génica
Transplantação de células ou de órgãos
Terapia génica

Para que a terapia génica possa ser considerada um recurso na prática clínica, são ainda necessárias aquisições aparentemente inatingíveis, como sejam as que permitam aos vectores uma direcionalidade segura em termos de células alvo quando esta for necessária, uma adequada inserção no *locus* homólogo em contraposição à inserção ao acaso no genoma, uma dosagem génica adequada, um efeito de cura que se prolongue durante a vida do indivíduo, custos reduzidos, efeitos colaterais reduzidos e uma relação risco/benefício atractiva.

2. BASES GENÉTICAS PARA A TERAPIA GÉNICA

A terapia génica pode ser equacionada para condições hereditárias ou adquiridas. Entre as condições hereditárias, os casos de natureza monogénica são os que permitem uma racionalização mais objectiva. Quando a hereditariiedade multifactorial está subjacente, haverá que identificar, entre os genes envolvidos, um que seja determinante na génese ou no controlo da doença em causa e cuja substituição ou modulação por terapia génica possa travar o processo patogénico, sem esquecer que um melhor conhecimento dos factores ambientais e uma actuação consistente a este nível poderá ser mais eficaz e menos problemática.

A racionalização das condições monogénicas é diversa, consoante se trate de hereditariiedade recessiva, dominante ou dominante negativa.

Nos casos recessivos, espera-se que, em homozigotia, haja perda da função devido a ausência do produto proteico por não expressão dos dois alelos do *locus*, ou do alelo único na hemizigotia observada para o cromossoma X no sexo masculino. A solução passará pela incorporação na célula de uma cópia do alelo normal que, uma vez expressa, proporciona a recuperação da função através do seu produto proteico. Para muitos casos de doença provocados por deficiência de uma enzima devida a homozigotia recessiva, bastará a reposição de cerca de 10% dos níveis enzimáticos normais, para que a deficiência seja corrigida, o que não exige elevada eficácia da terapia génica.

Quando a alteração génica é de natureza dominante, coexistem num *locus* a forma normal e a forma mutada do alelo, esta última responsável pela patologia presente. Por isso, não bastará transferir para as células a forma normal do gene (que já está presente em heterozigotia), mas sim proceder de modo a que não se observe expressão do alelo mutado. Para concretizar este objectivo, podem-se antever as seguintes abordagens:

- inactivação do produto proteico por complexação da proteína anómala com outra proteína ou por alteração do seu grau de acetilação, fosforilação ou metilação;
- degradação do respectivo RNAm;
- inactivação do RNAm por meio de uma cadeia de RNA “antisense” produzida a partir da sequência “sense” do alelo mutado ou recorrendo a uma sequência oligonucleotídica complementar para a região do RNAm onde tem início a tradução ribosómica;
- modulação da expressão do alelo mutado de modo a inibir a sua transcrição.

Nos casos dominantes negativos, também não bastará incorporar nas células uma cópia normal do alelo. Esta já está presente em heterozigotia. O recurso poderá passar pela inactivação selectiva da expressão do alelo mutado intervindo a nível do DNA (por inibição alelo-específica ou por recombinação homóloga), do RNAm ou do produto proteico.

3. CRITÉRIOS DE SELECÇÃO DAS DOENÇAS PARA TERAPIA GÉNICA

Uma doença poderá ser objecto de terapia génica se se verificarem os seguintes critérios:

- perigo de vida na ausência de terapia génica e inexistência de recursos terapêuticos alternativos;
- um relação favorável na ponderação do risco/benefício para o indivíduo e para a espécie;
- clonagem e sequenciação prévia do gene em causa e dos seus elementos reguladores;
- conhecimento da patologia molecular da doença;
- ausência de precisão da dosagem génica;
- existência de soluções técnicas para introduzir o gene nas células ou para modular a expressão do alelo mutado;
- identificação das células alvo e da proporção de células a tratar para obter efeito terapêutico;
- existência de experimentação prévia em modelos animais que demonstre a segurança do método.

4. ABORDAGENS PARA TERAPIA GÉNICA

4.1. TERAPIA GÉNICA SOMÁTICA

A terapia génica somática é feita em células somáticas do indivíduo doente, submetidas a transfeção ou transdução com o gene normal. Entende-se que a terapia génica somática não atinge as células da linha germinal. Por isso, é um processo comparável à transplantação de um órgão. Pode curar o indivíduo mas o mecanismo somático responsável pela cura não é transmitido aos descendentes. Neste aspecto, tem efeitos idênticos a outras terapêuticas de suporte da vida. Possibilita o aumento de frequência de formas alélicas mutadas associadas à génese de doenças.

A terapia génica poderá ainda ser realizada a nível fetal. Durante o desenvolvimento fetal há mais células-mães multipotentes, o sistema imunológico ainda não está desenvolvido e a intervenção nesta fase previne a acumulação de lesões devidas à falta de produto ou da sua forma alterada.

4.2. TERAPIA GÉNICA GERMINAL

A terapia génica pode ser aplicada a células germinais (quando se dirige a um gâmeta ou ao ovo). Nestas condições, todas as células do organismo serão portadoras da cópia normal do gene inserido, inclusive as células precursoras dos gâmetas. Deste modo, os descendentes de um indivíduo tratado não serão doentes. Contudo, o genoma da espécie pode ser modificado por esta via, devido à codificação proporcionada por um gene heterólogo ou por eventuais alterações provocadas pela inserção do gene ao acaso como acontece actualmente. Se a terapia génica for pós-zigótica, a nível do embrião em fase precoce do desenvolvimento, o gene pode-se inserir em todos os blastómeros e equivaler a terapia génica germinal, ou pode inserir-se nuns blastómeros e não se inserir noutros, originando um mosaico.

4.3. TERAPIA GÉNICA *EX VIVO*

As metodologias de terapia génica *ex vivo* são viáveis quando o defeito está presente em células do sangue ou quando o defeito é sistémico e pode ser corrigido através da transfeção ou transdução de células sem especificidade tecidual. As células são recolhidas do doente, são tratadas *in vitro* e, posteriormente, reintroduzidas no organismo.

Actualmente, a terapia génica é realizada, na maioria das vezes, *ex vivo*. Para cumprirem a sua missão, as células devem ser facilmente obtidas, crescer bem em cultura, suportar as manipulações destinadas à integração do DNA recombinante, ser facilmente reincorporadas no organismo após tratamento *ex vivo* e manter-se viáveis no organismo durante um longo período de tempo.

As células-mães da medula óssea (“stem cells”) congregam muitas destas características e apresentam-se como excelentes alvos quando as alterações são sistémicas ou pertencem ao sistema hematopoiético. Estas células, pela sua natureza multipotente, originam diversos tipos de células do sangue. Em alternativa, podem-se obter células multipotentes hematopoiéticas a partir de sangue do cordão umbilical ou da parede do saco vitelino fetal. O recurso aos ilhéus sanguíneos do saco vitelino permite ainda obter células precursoras

das células endoteliais localizadas na periferia dos ilhéus. Para ultrapassar a limitação decorrente do baixo índice proliferativo das células-mães da medula óssea e a sua contra-indicação quando é necessária uma elevada quantidade do produto, é possível aumentar o seu índice proliferativo recorrendo a factores de crescimento. Será também de considerar a utilização de sequências intensificadoras da transcrição a inserir no vector utilizado.

Os linfócitos periféricos possuem algumas características que os recomendam como células alvo para terapia génica, tendo sido usados no caso pioneiro de tratamento da deficiência em adenosina desaminase. Os fibroblastos da pele também têm sido usados como células alvo para transfeção ou transdução *ex vivo* com posterior incorporação no organismo por injeção na cavidade peritoneal ou nos planos subcutâneos. De igual modo, as células da epiderme podem ser postas em cultura e originar quantidades elevadas de células que, após terapia génica, podem ser “enxertadas” na pele do dador de modo a constituírem-se numa parte da epiderme com capacidade para produzir moléculas com efeito terapêutico que o organismo não sintetiza ou que produz de um modo deficiente. As células hepáticas apresentam-se igualmente como candidatas a manipulação *ex vivo* para terapia génica e posterior injeção na veia porta de modo a veicularem para o fígado cópias normais de um gene mutado. O mesmo se passa em relação às células satélites das fibras musculares estriadas, como células quiescentes com capacidade para proliferarem em cultura e serem objecto de terapia génica e posterior injeção na massa muscular.

4.4. TERAPIA GÉNICA *IN SITU*

402

A terapia génica *in situ* pode ter lugar quando é possível definir um território do organismo com uma via de acesso específica (v.g., territórios vasculares bem delimitados como os do fígado, dos rins e do cérebro, ou as vias respiratórias). Um ensaio de terapia génica da fibrose quística consistiu na inalação de aerossóis com vectores recombinantes portadores de cópias normais do gene CFTR. O tratamento da distrofia muscular por injeção do gene normal no tecido muscular é outro exemplo de um ensaio de terapia génica *in situ*.

4.5. TERAPIA GÉNICA *IN VIVO*

A terapia génica *in vivo* é executada no indivíduo, sem definição de um território específico, por injeção na corrente sanguínea dos vectores recombinantes. Esta via depara com múltiplas dificuldades, de que são exemplo a acção do sistema imunológico e a não selectividade dos vectores para as células alvo.

5. MÉTODOS PARA TERAPIA GÉNICA

Têm sido desenvolvidas e propostas múltiplas estratégias para proceder à terapia génica, de natureza física, química, biológica e por modulação da expressão génica (Tabela XIX.2).

Tabela XIX.2. Métodos para terapia génica

MÉTODOS
Métodos físicos ou químicos: Microinjeção Injeção directa nos tecidos Microprojecteis com DNA adsorvido Acoplagem do DNA a um complexo dextrano/DEAE com carga eléctrica positiva (endocitose) Co-precipitação do DNA com fosfato de cálcio (endocitose) Electroporação Lipossomas Conjugação do DNA com proteínas
Métodos biológicos: Retrovírus Adenovírus Vírus adeno-associados Vírus herpes
Modulação da expressão génica: Produção de RNAm "antisense" Utilização de sequências oligonucleotídicas sintéticas complementares para a região iniciadora da tradução Modificação do grau de metilação do DNA
Recombinação homóloga
Quimeroplastia

5.1. LIPOSSOMAS

A utilização de lipossomas tem despertado intensa investigação e alguma esperança. O DNA, sob a forma de plasmídeo, pode ser incorporado em vesículas lipídicas designadas lipossomas. Quando os lipossomas se fundem com a membrana citoplasmática permitem que o DNA entre para dentro das células, ocorrendo a transfeção. Os lipossomas permitem incorporar nas células genes de grandes dimensões juntamente com as respectivas sequências reguladoras e ainda os elementos centroméricos e teloméricos que possibilitam a replicação autónoma do DNA incorporado. A eficiência da transferência é baixa.

5.2. MÉTODOS BIOLÓGICOS

As técnicas de recombinação do DNA vieram possibilitar o uso de vírus de RNA (retrovírus) e de DNA (adenovírus) como vectores para o DNA. Quando o DNA é incorporado nas células por meio de um vírus, após a sua inserção no genoma viral, o processo de transferência do DNA designa-se por transdução.

São exigências a concentrar num vector viral:

- que proporcione uma incorporação estável do gene no genoma do hospedeiro;
- que possibilite a terapia de um número de células suficiente;
- que o nível de expressão seja controlado de modo adequado e nas células alvo (o recombinante deve incluir a região codificadora e as sequências promotora e intensificadora do gene);
- que haja vantagem em termos de risco/benefício devido à possibilidade de mutagénese insercional e ao aumento de risco de neoplasia;
- que haja ausência de problemas éticos, nomeadamente os que decorrem da eventual integração no genoma de células germinais.

5.2.1. RETROVÍRUS

Os retrovírus possuem a informação genética sob a forma de RNA. Cerca de 80% do genoma de um vírus como o da leucemia murina de Moloney (um retrovírus amplamente usado para terapia génica) são constituídos por

três genes (Fig. XIX.1): *gag* que codifica o antígeno específico do grupo, *pol* que codifica a transcriptase inversa e *env* que codifica as proteínas do invólucro. Para além destas sequências, o genoma dos retrovírus possui ainda uma sequência ψ de reconhecimento do RNA durante a encapsulação e, nas direcções 5' e 3', sequências designadas "long terminal repeats" (LTRs) com função reguladora.

Os retrovírus, após penetrarem nas células, libertam o genoma de RNA e recorrendo à maquinaria ribossómica das células sintetizam as proteínas virais. A transcriptase inversa promove a síntese de uma cadeia de DNA complementar do genoma viral. Esta cadeia simples, por acção da polimerase do DNA é transformada em cadeia bicatenar, ficando apta a ser inserida no genoma celular sob a forma de provírus de DNA, por meio da enzima integrase. Cumprida a integração no genoma da célula hospedeira, o genoma proviral é replicado quando as células se dividem, transcrito em RNA e o RNA traduzido em proteínas virais. As proteínas virais e as partículas de RNA viral transcritas proporcionam a produção de grandes quantidades de vírus, o que se traduz em infecção da célula hospedeira.

As sequências retrovirais utilizadas em terapia génica resultam de manipulações do âmbito da engenharia genética dirigidas para anular a capacidade replicativa dos vírus e assim evitar o desenvolvimento de uma virose. São retiradas aos retrovírus as sequências *gag*, *pol* e *env* codificadoras das proteínas estruturais e, no seu lugar, é inserida a sequência correspondente ao gene exógeno a incorporar nas células para terapia génica, juntamente com as respectivas sequências reguladoras e de poliadenilação (Fig. XIX.1).

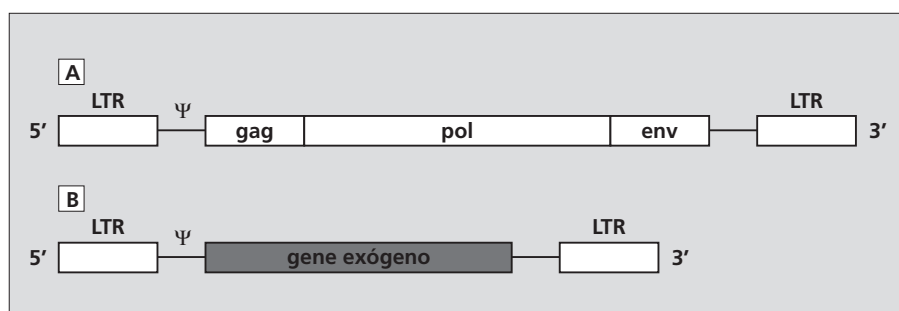


Fig. XIX.1 – Esquema de um retrovírus (A) e do vector para terapia génica (B) que resulta das modificações realizadas no retrovírus. LTR – "long terminal repeat"; *gag*, *pol* e *env* – genes estruturais que codificam, respectivamente, o antígeno específico, a transcriptase inversa e a proteína do invólucro. A negro está representado o gene exógeno transportado pelo vector.

Consequentemente, o retrovírus recombinante perde capacidade para transformar o seu genoma de RNA em DNA, por ausência de codificação para a transcriptase inversa e perde capacidade para replicar. Por isso, é necessário recorrer a “células de empacotamento” em que foi incorporado um retrovírus auxiliar manipulado geneticamente para manter os genes estruturais mas incapaz de se constituir em partículas virusais infecciosas por ausência da sequência ψ .

Os vectores derivados de retrovírus apresentam como vantagens:

- elevada eficiência, já que podem ser transduzidas cerca de 100% das células;
- ausência de toxicidade;
- transdução simultânea de tantas células quantas as desejadas;
- em condições apropriadas, a possibilidade de inserção, no genoma das células hospedeiras, de apenas uma cópia do DNA transduzido, num único lugar, embora ao acaso, ao contrário dos métodos físicos pelos quais são, habitualmente, incorporadas múltiplas cópias;
- inserção do DNA no genoma e estabilidade do efeito terapêutico durante bastante tempo, com raros riscos para as células, já que não têm capacidade para formar partículas infecciosas.

As desvantagens dos retrovírus decorrem:

- da necessidade de as células estarem em divisão para se incorporarem no núcleo;
- da inactivação rápida pelo complemento do soro;
- da capacidade limitada em termos de comprimento do gene a inserir, que não ultrapassa as 8 Kb;
- da instabilidade, podendo a purificação reduzir a eficácia da transdução;
- da eventual mutagénesis insercional provocada pela inserção ao acaso;
- da dificuldade de regular com precisão a dosagem génica;
- da possibilidade de expressão transitória;
- da possibilidade, ainda que remota, de incorporação do genoma proviral recombinante nas células germinais, sem se poder prever ou tratar eventuais consequências para as gerações vindouras.

Situações como a SIDA, diversas formas de cancro e a doença de Gaucher são exemplos de doenças que têm sido seleccionadas para terapia génica, recorrendo aos vectores retrovirais.

5.2.2. ADENOVÍRUS

Os adenovírus têm um genoma constituído por uma dupla cadeia de DNA linear com cerca de 35 kb. Evidenciam um tropismo natural para o epitélio respiratório, o tracto gastro intestinal e a córnea e incorporam-se nas células por endocitose mediada por receptores. Como vectores para a terapia génica, apresentam as seguintes vantagens em relação aos retrovírus:

- permitem a obtenção de elevadas concentrações virusais;
- são estáveis;
- possibilitam a transferência de genes e a sua expressão em células em mitose e em células que não estão em divisão;
- podem infectar, virtualmente, todos os tipos de células humanas;
- a recombinação é rara;
- têm um risco de mutagenese insercional muito reduzido por não serem, habitualmente, incorporados no genoma;

Como desvantagens dos adenovírus enunciam-se:

- a possibilidade de gerarem títulos elevados de anticorpos neutralizantes, com redução de eficácia, em particular nos casos de sucessivas administrações;
- os efeitos secundários devidos à resposta inflamatória, para doses elevadas;
- a acção transitória por não inserção no genoma e a necessidade de repetir as administrações;
- a eliminação rápida das células infectadas por acção de linfócitos T;

Como exemplo de utilização dos adenovírus em terapia génica refira-se a sua aplicação em ensaios de terapia génica na fibrose quística, na deficiência em α -1-antitripsina e para transferir genes para o sistema nervoso central.

5.2.3. VÍRUS ADENO-ASSOCIADOS

Os vírus adeno-associados são constituídos por uma cadeia simples de DNA. Têm um local específico de integração no genoma, a nível do cromossoma 19, em 19q13.3-qter. Habitualmente, a infecção ocorre na presença de um vírus auxiliar, seja um adenovírus ou um vírus herpes simplex.

Os vírus adeno-associados integram-se no genoma das células em divisão e mantêm-se transitoriamente em posição extracromossómica nas células que não estão em divisão. Como vectores proporcionam um efeito terapêutico prolongado e não têm acção tóxica. Têm ainda um elevado grau de segurança, sendo apenas conservados menos de 5% do seu genoma, a que não corresponde nenhum gene viral. Uma das limitações do seu uso decorre da baixa capacidade ao comportarem apenas sequências de DNA até 4,5 kb.

Na ausência de vírus auxiliar, a junção da sequência promotora do parvovírus B19 a este vector confere-lhe especificidade infecciosa para as células da medula óssea precursoras dos glóbulos vermelhos. Procedendo a terapia génica *ex vivo* em células da medula óssea e reinjectando-as na corrente circulatória, será possível tratar doenças associadas a alterações genéticas presentes nos glóbulos vermelhos, recorrendo a este tipo de vírus. Assim, uma condição como a anemia de células falciformes poderá ser tratada com este vector recombinado com o gene humano da β -globina.

5.2.4. VÍRUS HERPES

Os vírus herpes, como vectores para terapia génica, encontram particular utilização nas condições que envolvem o sistema nervoso central devido ao seu tropismo selectivo para o sistema nervoso central. Estes vírus não necessitam de células em divisão e não inserem os genes que transportam no genoma da célula hospedeira. Podem transportar fragmentos de DNA com uma dimensão de cerca de 30 kb. O tratamento de doenças neurológicas como a doença de Parkinson ou as neoplasias do sistema nervoso central poderá passar pela utilização destes vectores.

5.3. MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÉNICA

A modulação da expressão génica pode-se realizar nos diversos patamares de regulação da expressão génica, desde o DNA até à forma funcional da proteína.

A nível do DNA, a terapia génica poderá recorrer à utilização de sequências oligonucleotídicas específicas para uma determinada região do genoma na qual origina a formação de uma tripla hélice de DNA. A formação de tripla hélice de DNA afecta a transcrição do DNA e, conseqüentemente, poderá inibir a expressão de uma mutação.

Para contrariar a expressão génica, sem actuar a nível do gene, pode-se recorrer à neutralização do RNAm, por ligação de uma cadeia complementar de RNA, de modo a formar-se uma cadeia bicatenar de RNA. Desta forma, não haverá tradução do RNAm em proteína, a nível dos ribossomas. Por outro lado, o RNA é, nestas condições, rapidamente destruído. A cadeia complementar de RNA usada para terapia designa-se por "antisense". A introdução de sequências "antisense" nas células pode ser feita por meio de um vector recombinante construído para exprimir a sequência "sense" do gene em quantidades elevadas (Fig. XIX.2). Por esta metodologia, tem sido possível provocar a reversão do comportamento tumorigénico de células neoplásicas, a uma condição em que a sua capacidade proliferativa é idêntica à observada em células normais. É também verosímil a sua utilização para anular a expressão de outros fenótipos celulares patológicos resultantes de mutações dominantes como as que ocorrem a nível do protooncogene *RAS* no cancro do pulmão.

Outra forma de terapêutica com moléculas "antisense" baseia-se na utilização de oligonucleótidos monocatenares sintetizados *in vitro*, complementares para o codão AUG iniciador da tradução e para as sequências anexas da cadeia de RNAm transcrita pela célula. Estes pequenos oligonucleótidos penetram nas células com relativa facilidade e, por complementaridade, vão originar uma sequência bicatenar na região de iniciação da tradução, inibindo a produção da proteína codificada pelo RNAm original. Para extensões de oligómeros com mais de 15-17 nucleótidos deverá haver no genoma apenas uma sequência complementar o que possibilita uma hibridação específica.

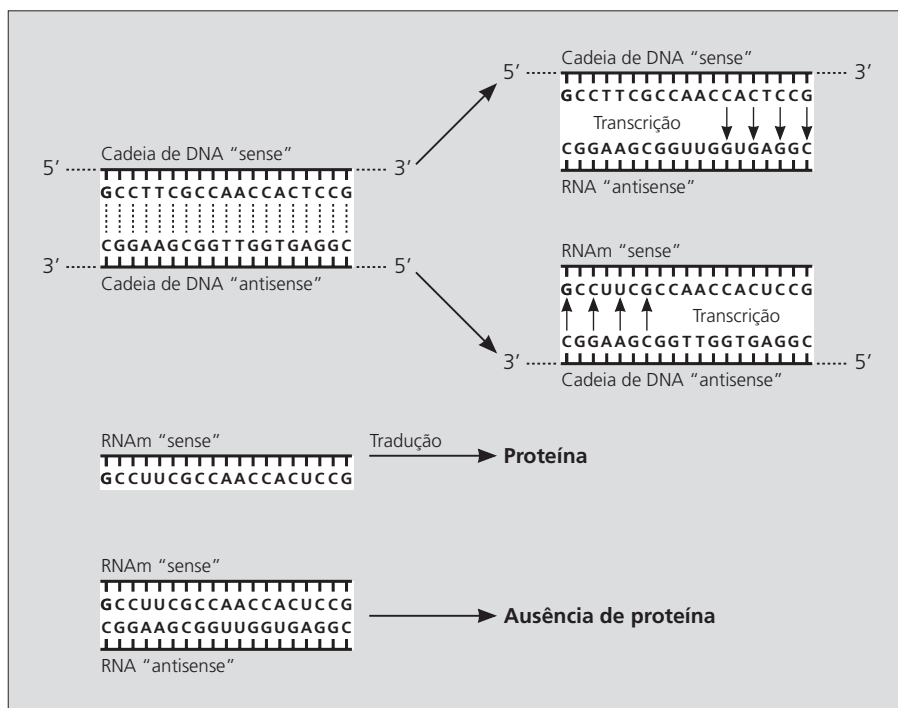


Fig. XIX.2 – Esquema ilustrativo do modo de actuação das sequências "antisense", em terapia génica.

O recurso à terapia génica por metodologia "antisense" parece útil em doenças em que há expressão de uma proteína com função alterada (v.g., oncogenes), ou seja, nos casos de mutações dominantes. Nas mutações dominantes negativas poderá também ser útil, ao inibir a produção do monómero mutado, deixando que os monómeros sem alteração oligomerizem e formem complexos funcionais.

Os problemas relacionados com a utilização de sequências "antisense" resultam da sua destruição pela DNase e da conseqüente semi-vida curta, da necessidade de doses elevadas, da sua administração por via parenteral e da dificuldade de obter especificidade para as células alvo.

Durante o processo de diferenciação das funções celulares há genes que são sucessivamente inactivados. Uma das formas de inactivação é mediada pela metilação das bases citosina. Nesta perspectiva, se forem administradas, num indivíduo adulto, moléculas que induzam a desmetilação, será possível reactivar estes genes tornando-os acessíveis à transcrição. Este processo foi

ensaiado para tratamento de casos de anemia de células falciformes. O aumento de expressão do gene da cadeia δ da hemoglobina permite a substituição das cadeias β anormais nas moléculas de hemoglobina adulta, com consequente aumento de concentração da hemoglobina fetal. A 5-azacitidina inicialmente usada como agente indutor da produção aumentada de hemoglobina fetal foi abandonada devido aos seus efeitos carcinogénicos e substituída pela hidroxiureia. Ensaios realizados em doentes com anemia de células falciformes demonstraram uma melhoria significativa dos sintomas devido à administração de hidroxiureia e ao consequente aumento de expressão de hemoglobina fetal.

5.4. RECOMBINAÇÃO HOMÓLOGA

A recombinação homóloga surge como uma resposta de eleição da terapia génica, nos casos em que há necessidade de precisão no processo de recombinação subjacente à inserção de DNA estranho numa célula. A recombinação homóloga consiste na substituição de um alelo, em vez da adição de um alelo normal mantendo-se os dois alelos pré-existentes. A sequência génica incorporada pela célula aproxima-se do *locus* homólogo e substitui um dos alelos. Nas células humanas, este processo parece ocorrer com uma baixa frequência, da ordem de 10^{-6} . Nestas condições, o número de células tratadas é extremamente baixo, mesmo partindo de elevadas quantidades iniciais. Embora o número de células tratadas por recombinação homóloga seja à partida previsivelmente reduzido, se forem usadas células embrionárias para transfectar em cultura, e se as células que sofrerem recombinação homóloga forem seleccionadas e o seu número ampliado em cultura, será possível obter uma quantidade suficiente para obter efeitos terapêuticos num embrião ou no indivíduo adulto.

5.5. QUIMERAPLASTIA

Este procedimento conduz à reparação de um alelo mutado. Recorre a uma sequência sintética de DNA com algum RNA distribuído ao longo da sequência. Tem uma extensão de cerca de 25 a 40 nucleótidos, o que é

suficiente para lhe conferir especificidade, em termos da sequência mutada a que se destina no genoma da célula. Organiza-se espacialmente como dupla hélice.

O quimeraplasto emparelha com a sequência alvo que se pretende corrigir, por meio das suas porções de RNA. Por sua vez, introduz um erro de emparelhamento de bases que activa os sistemas de reparação do DNA. Tendo como modelo a sequência de DNA do quimeraplasto, as enzimas de reparação irão reparar a sequência mutada do genoma da célula.

6. EXEMPLOS DE TERAPIA GÉNICA

6.1. IMUNODEFICIÊNCIA SEVERA POR DÉFICE DE ADENOSINA DESAMINASE

Na imunodeficiência severa por défice de adenosina desaminase (ADA), há um bloqueio da via metabólica que transforma a toxina desoxi-inosina em ácido úrico. Se a toxina não for metabolizada acumula-se e destrói os linfócitos T. Na ausência de linfócitos T “helper” não há estimulação dos linfócitos B de modo a produzirem anticorpos. A falta de actividade dos linfócitos T e B predispõe os indivíduos para infecções e para desenvolverem cancro.

Há alguns anos, os doentes com défice de ADA começaram a ser tratados com administração de enzima de origem bovina modificada por adição de cadeias de polietileno. Os doentes passaram a viver com menos risco de infecção mas, ainda assim, com tendência para sofrer infecções.

A terapia génica para a deficiência em ADA, realizada em 1990 nos Estados Unidos, em duas doentes, foi a primeira intervenção de terapia génica humana a nível mundial, feita com aprovação prévia. A partir de sangue periférico foram isolados linfócitos, posteriormente transduzidos com vectores retrovirais recombinantes portadores de cópias normais do gene que codifica a enzima ADA. Os vectores retrovirais recombinantes foram construídos de modo a reduzir as capacidades patogénicas da componente retroviral e a inserir o gene da ADA. Após a transdução dos linfócitos com os vectores recombinantes, as células foram reinjectadas nas doentes. Os linfócitos até aí incapazes de produzir ADA passaram a produzir a enzima, após integração

do gene normal da ADA no seu genoma. Actualmente, as crianças tratadas têm uma vida normal, sem receio de infecções.

Foi conseguido o tratamento das crianças, mas não a cura. Como os linfócitos têm uma vida de alguns meses, o tratamento tem de ser repetido periodicamente, para repor uma população de linfócitos com capacidade para produzir ADA em quantidade suficiente. A alternativa a esta solução parece passar pela transdução de células-mães da medula óssea que originam linfócitos T. Quando estas células se dividem, uma das células-filhas continua como célula-mãe e a outra evolui para formas com diferenciação funcional e capacidade para sintetizar ADA. Assim, a população de células-mães manterá ao longo da vida a correcção para a deficiência.

Num ensaio em curso desde Maio de 1993 em doentes com deficiência de ADA, foram colhidas células-mães do cordão umbilical que, após tratamento com um vector recombinante para o gene normal da adenosina desaminase foram injectadas nos recém-nascidos. Lentamente, a percentagem de células T com expressão de ADA tem vindo a aumentar desde valores de 1/10.000 após alguns meses de tratamento até cerca de 3% ao fim de dois anos de evolução.

6.2. FIBROSE QUÍSTICA

A fibrose quística é a causa mais frequente de morte, entre as doenças autossómicas recessivas. Embora as crianças com homozigotia para o forma mutada do gene *CFTR* tenham pulmões normais na altura do nascimento, a inflamação e as alterações pulmonares observam-se muito precocemente, cerca das quatro semanas. Por isso, a terapia génica da fibrose quística, quando for possível, deverá ocorrer nas primeiras semanas de vida, para evitar a degradação da função respiratória. Idealmente, deverá ocorrer *in utero*, o que no momento presente não é possível antecipar como forma de tratamento realizável.

A terapia génica com a forma normal do gene *CFTR* permitiria a transdução das células de revestimento das vias respiratórias e a síntese da forma normal do transportador de cloro, evitando as consequências que advêm da sua ineficácia. Estes ensaios foram iniciados por via inalatória com adenovírus recombinantes portadores da forma normal do gene, tendo sido observada expressão do gene nas células do revestimento nasal mas não a nível pulmonar.

Com o recurso aos adenovírus, aos vírus adeno-associados e aos complexos de plasmídeos e lipossomas, já foram realizados vários ensaios clínicos de fase I. Os resultados mostram que há alguma expressão génica, ainda que transitória. A via endotraqueal levou, predominantemente, à deposição do DNA transferido para as células do epitélio bronquiolar (v.g., células de Clara), enquanto que a administração intravenosa possibilitou a chegada do DNA até à região alveolar, inclusive com localização nos pneumócitos tipo II. À semelhança dos resultados de outros estudos, a expressão génica foi transitória.

6.3. TRATAMENTO DO CANCRO

Ao contrário de situações extremamente raras como é o caso da deficiência em ADA em que foi a novidade que chamou a atenção, o impacto da terapia génica será seguramente enorme em termos de saúde pública, quando permitir tratar situações comuns como o cancro. A dificuldade da terapia génica do cancro prende-se com a dificuldade de atingir todas as células com o tratamento ou, pelo menos, um número suficiente de células que permita eliminar as restantes por efeito citotóxico de “bystander”.

O melanoma foi a primeira situação de cancro em que foi ensaiada a terapia génica, em 1991. Foram isolados linfócitos do doente com especificidade para infiltrarem os tumores sólidos (TILs) e para matarem as células quando administrados conjuntamente com interleucina 2. Os TILs foram postos em cultura e transduzidos com retrovírus recombinantes portadores do gene que codifica o factor de necrose tumoral (TNF). Seguidamente, os TILs foram injectados na esperança de que infiltrassem o tumor e produzissem TNF, uma molécula com uma actividade anticancerosa potente, embora com efeitos tóxicos severos quando administrada por via sistémica.

Na terapia génica dos tumores cerebrais tem sido ensaiado o recurso a “genes suicidas”. Esta abordagem baseia-se no facto de os neurónios não se dividirem e, em contrapartida, as células neoplásicas, nomeadamente nos casos de glioblastoma, terem uma actividade proliferativa elevada. Recorrendo a retrovírus, apenas haverá transdução das células em divisão, com protecção dos neurónios. Os retrovírus recombinantes são veiculados até à massa

tumoral por injeção estereotáxica de uma suspensão de fibroblastos previamente transduzidos com retrovírus recombinantes para o gene da timidinacinase. Os retrovírus libertados na massa tumoral procedem à transdução das células neoplásicas e proporcionam a produção de timidinacinase nestas células. A morte selectiva das células tumorais é desencadeada recorrendo ao ganciclovir, como pró-droga antivírica. Esta molécula, na presença de timidinacinase, é transformada em intermediários citotóxicos que eliminam selectivamente as células tumorais transduzidas e, por efeito “bystander”, as células neoplásicas vizinhas.

O recurso a genes “suicidas” tem vantagens que resultam do seu efeito tóxico em células que podem ser resistentes a terapêuticas citotóxicas convencionais, da necessidade de expressão durante um curto período de tempo e de ser necessário transduzir apenas cerca de 10% das células neoplásicas para que todas as células do tumor sejam mortas por efeito “bystander”.

6.4. HIPERCOLESTEROLÉMIA FAMILIAR

Em casos de hipercolesterolemia familiar tem vindo a ser ensaiada a terapia génica, recorrendo a células hepáticas que são transfectadas com um recombinante portador do gene que codifica a forma normal do receptor de membrana para as LDLs. Posteriormente, as células são injectadas na veia porta.

6.5. TERAPIA GÉNICA DE DOENÇAS AGUDAS

Para além das doenças hereditárias, uma outra área de utilização da terapia génica poderá ter como objectivo o tratamento de doenças adquiridas, modulando a expressão de um determinado gene. Nestas condições, a expressão temporária do gene transduzido, sendo uma limitação da terapia génica nos casos hereditários, poderá ser suficiente para contribuir para o tratamento. Como exemplo, refira-se a transdução do gene da ciclo-oxigenase em casos de lesão aguda do pulmão, cuja expressão resulta no aumento da expressão de prostaciclina e PGE2 pelos pulmões e inibe o edema e a hipertensão pulmonar induzida pela endotoxina.

(Página deixada propositadamente em branco)

CAPÍTULO XX

ACONSELHAMENTO GENÉTICO

1. INTRODUÇÃO

O aconselhamento genético é, por excelência, um acto médico em que se salienta a comunicação entre o médico e o doente ou consulente. “O aconselhamento genético é o processo pelo qual uma pessoa doente ou os seus familiares em risco para uma doença, que pode ser hereditária, são informados sobre as consequências da doença, a probabilidade de a desenvolverem ou transmitirem e os modos de a prevenir ou melhorar”. Assim tem sido definido o aconselhamento genético por Peter Harper nas sucessivas edições do seu livro “Practical Genetic Counselling”. Para a OMS, o aconselhamento genético define-se como “a prevenção de genótipos que comportam uma doença e/ou um defeito congénito, mediante a identificação prospectiva ou retrospectiva dos acasalamentos que sejam capazes de produzi-los”. Para o Comité para o Aconselhamento Genético da Sociedade Americana de Genética Humana, consiste “num processo de comunicação que aborda os problemas humanos relacionados com o aparecimento ou com o risco de recorrência de uma determinada alteração numa família”. A dimensão educativa também faz parte do processo de aconselhamento genético.

O aconselhamento genético é denominado retrospectivo quando já existe um indivíduo afectado na família. Se o aconselhamento genético se desenvolve numa família, na ausência de alguém afectado, designa-se como prospectivo.

2. ETAPAS DO ACONSELHAMENTO GENÉTICO

Um processo de aconselhamento genético estabelece-se no âmbito da relação médico/doente. Tem, como ponto de partida, uma condição presumivelmente de natureza hereditária e, por isso, associada a risco de recorrência. Inclui as seguintes etapas:

- elaboração de um diagnóstico seguro e, quando tal não for possível, a exclusão de algumas doenças (uma etapa essencial para suportar as etapas subsequentes);
- determinação do curso da doença, do prognóstico e das formas de tratamento ou prevenção;
- identificação da forma de transmissão hereditária e do risco para o próprio ou para a descendência;
- identificação das opções perante um determinado risco de recorrência;
- comunicação dos factos ao consulente (outra etapa crucial e de grande exigência e sensibilidade) com indicação das consequências da doença em termos fenotípicos, do seu curso e dos riscos de ocorrência no próprio ou em descendentes, dos meios de tratamento, de prevenção, ou de minorar as suas consequências, das opções reprodutivas para evitar o nascimento de descendentes doentes;
- definição de formas de actuação no respeito pelas aspirações do consulente e da família e pelos seus princípios éticos, morais e religiosos, bem como de seguimento com destaque para o apoio psicológico, tendo presente que haverá frequentemente um processo de adaptação pessoal ou de uma família face a uma anomalia ou doença ou a um risco de recorrência.

3. INDICAÇÕES PARA O ACONSELHAMENTO GENÉTICO

O aconselhamento genético pode ser dirigido a um único consulente, aos membros de uma família, ou, de uma forma alargada, aos membros de uma comunidade. Neste último caso, a generalidade das pessoas não tem história familiar de anomalias genéticas (v.g., grávidas com idade avançada, rastreios bioquímicos, ecografias de rotina).

O aconselhamento genético está indicado, sempre que uma etiologia genética seja evidente ou possível, ou quando for necessário excluir uma causa hereditária:

- em gravidezes em idade avançada (≥ 35 anos);
- nos casos de gravidez em mulheres portadoras de doenças que podem afectar o desenvolvimento embrionário e/ou fetal (v.g., epilepsia, diabetes);
- quando se verifica esterilidade conjugal;
- em casais consanguíneos;
- quando um dos cônjuges apresenta uma alteração genética;
- quando há anomalias cromossómicas conhecidas na família;
- quando os dois cônjuges apresentam a mesma alteração congénita (v.g., surdez, paralisia cerebral);
- quando há abortos de repetição num casal;
- quando numa família existe um elemento com anomalias congénitas graves, concomitantes ou não com atraso mental, no sentido de esclarecer as causas daquela ocorrência e estabelecer os riscos de recorrência;
- quando há na família uma história de doença grave;
- quando há numa família vários membros com uma determinada doença ou várias formas de doença enquadráveis numa condição sindrómica (v.g., várias formas de cancro pertencentes ao espectro da síndrome de Lynch);
- como suporte a tratamentos médicos, cirúrgicos ou dietéticos de doenças genéticas.

4. REGRAS BÁSICAS PARA O ACONSELHAMENTO GENÉTICO

A comunicação entre o médico e o consulente corporiza a essência da arte médica. Desde o primeiro contacto, o consulente deve sentir um ambiente de proximidade e de confiança propiciador de uma abertura que ultrapasse naturais inibições e permita um relato fiel e sem evitamentos dos factos relativos à sua condição e/ou dos membros da sua família.

Para a comunicação dos dados relativos a uma condição, devem ser tidos em consideração o momento e os recursos de linguagem que o julgamento personalizado do médico entender adequados, face ao nível sócio-educativo e cultural do consulente e ao seu estado emocional. O número de sessões de consulta deve também ser ajustado, tendo em mente que o aconselhamento genético não se esgota, habitualmente, numa única sessão. Sendo um processo e não um acontecimento, deve ser continuado, quando necessário, de modo a suportar as decisões do consulente.

Deve ser tida em atenção a necessidade de fazer compreender os mecanismos que originam a condição, as formas de manifestação e evolução, o prognóstico, as soluções terapêuticas, preventivas ou de alívio das manifestações, o modo de transmissão hereditária, o risco de vir a desenvolver a doença e/ou de recorrência noutros membros da família, as formas de rastreio e as eventuais opções em termos de reprodução. Será com base nessas informações e no conhecimento que o consulente construir a partir delas que tomará as suas decisões informadas.

O médico deve evitar qualquer atitude coerciva relativamente ao consulente. Deve apresentar factos, abstendo-se de emitir juízos de valor ainda que o consulente se dirija ao médico e pergunte como decidiria se estivesse nas suas condições ou quando a decisão do consulente é de risco elevado. O processo de aconselhamento genético deve deixar ao consulente a liberdade de decidir por si, a partir do conhecimento de toda a informação disponível, dada sem qualquer direcionalidade por parte do médico geneticista. Face a estas exigências, o aconselhamento genético é um acto médico, que consubstancia por excelência o exercício da arte médica, como já se referiu.

Outro aspecto do aconselhamento tem a ver com a necessidade de se criar um clima de esperança que contrarie alguma tendência natural para se referirem apenas as vertentes mais negativas. Este aspecto deve ser cuidado em interligação com a indicação dos riscos e com eventuais recursos de DPI ou DPN, bem como com os recursos terapêuticos, preventivos ou de diagnóstico precoce. Veja-se o caso do risco de recorrência de uma condição homocigótica recessiva num casal. A existência de um filho afectado indica um risco de recorrência de 1 em 4 (ou de 25%). A probabilidade de 3 em 4 (ou seja, de 75%), de nascer um filho não afectado em próxima gravidez, deve também ser indicada. Se o risco de recorrência de uma afecção for, por

exemplo, de 1 em 20 (ou seja, de 5%), dever-se-á indicar que há uma probabilidade de 19 em 20 de um próximo filho nascer sem a doença (ou seja de 95%). A decisão informada caberá ao consulente!

A identificação de membros da família em risco, põe o problema relacionado com a forma de os contactar. O consulente é habitualmente o melhor meio de comunicar com o indivíduo em risco e de o esclarecer sobre a necessidade de procurar uma Consulta de Genética. Quando o consulente deseja o anonimato, ou pretende não divulgar a sua ligação ao caso, poderá indicar o médico de família como intermediário para o contacto dos indivíduos que, pelo heredograma, estejam em risco.

5. O DIAGNÓSTICO GENÉTICO COMO SUPORTE DO ACONSELHAMENTO

Um diagnóstico correcto constitui a pedra angular do processo de aconselhamento genético. Exige, como em qualquer consulta médica, a elaboração de uma história clínica cuidada em que seja dada particular atenção à história familiar e ao heredograma. No decorrer da elaboração da história clínica, as eventuais preocupações que aflijam o consulente e que não sejam relevantes para a sua condição, devem também ser identificadas e esclarecidas pelo médico, para que a ansiedade seja quebrada. Deve também ser realizado um exame físico cuidadoso. Entre os meios complementares para o diagnóstico genético incluem-se o cariótipo, estudos moleculares, bioquímicos, enzimáticos, radiológicos ou outros. O diagnóstico genético destina-se, à semelhança dos diagnósticos noutras áreas da Medicina, a confirmar a presença de uma doença.

Veja-se o caso, relativamente frequente, de um indivíduo com dificuldades sérias de aprendizagem. Para um diagnóstico etiológico, nem sempre conseguido, deve ser considerada uma avaliação clínica cuidada que inclua a história familiar e obstétrica, a elaboração do cariótipo tendo presente que, em média, apenas 6% destes casos mostram alterações citogenéticas, o estudo molecular do gene *FMR1* para despistar uma síndrome do X-frágil (que mostrará alterações apenas em cerca de 6% dos casos), o estudo imagiológico do sistema nervoso central e, eventualmente, estudos metabólicos se houver dados que os justifiquem.

Há diversas situações que podem dificultar o diagnóstico genético:

- quando o doente faleceu sem que tenha sido diagnosticada a causa da doença ou tenham sido realizados os exames complementares de diagnóstico disponíveis (poderão restar fotografias, peças de anatomia patológica, relatórios clínicos, a descrição de familiares, a possibilidade de excluir determinadas condições ainda que sem um diagnóstico preciso);
- quando não é possível chegar a um diagnóstico de certeza por conhecimento inadequado da literatura (ou por a condição não ter ainda sido descrita), o que acontece com um número significativo de situações genéticas, mesmo recorrendo ao contributo de colegas de diversas especialidades;
- quando o doente chega à Consulta de Genética com um diagnóstico errado que é assumido como verdadeiro e sobre o qual se desenvolve o processo de aconselhamento;
- quando, para uma determinada condição, há dificuldade no estabelecimento da correlação genótipo/fenótipo pela existência de eventual heterogeneidade génica, de pleiotropismo, de penetrância incompleta, de expressividade variável, de variabilidade da idade de expressão clinicamente aparente, ou quando tenha resultado de mosaïcismo gonadal ou de relações extra-conjugais;
- quando estão disponíveis testes predizentes adequados mas existem questões éticas relevantes que questionam a sua realização.

6. OPÇÕES E SEGUIMENTO

Num processo de aconselhamento genético, as opções devem ser analisadas com o consulente em termos de terapêutica, de formas de prevenção, de eventuais alternativas reprodutivas e de seguimento.

No âmbito das opções reprodutivas surgem como hipóteses a ponderar: ter filhos e recorrer a DPN ou DPI se estiverem disponíveis; recorrer a técnicas de procriação medicamente assistida como a inseminação heteróloga ou a dádiva de ovócitos; não ter filhos e adoptar uma criança; não ter filhos e não adoptar uma criança. É essencial um esclarecimento adequado sobre as possibilidades indicadas, em termos de vantagens e de inconvenientes.

Com o avanço dos meios complementares de diagnóstico postos ao serviço do diagnóstico genético, nomeadamente pelo estudo molecular do DNA, é cada vez mais possível modificar o cálculo de risco e aconselhar de uma forma bastante mais precisa. No entanto, nos casos em que estes estudos não estejam disponíveis ou o consulente não o deseje, o médico terá de se basear na avaliação clínica.

Os aspectos relacionados com o seguimento têm a ver com o planeamento de próximas consultas do âmbito da Genética ou de áreas de especialidade para intervenção terapêutica ou diagnóstico precoce, com tarefas que sejam assumidas pelo consulente como sejam o contacto e a sensibilização de familiares para virem à consulta, ou a recolha de dados adicionais sobre a história familiar, mas também com a disponibilização de recursos humanos para apoio psicológico que ajudem a ultrapassar eventuais sentimentos de culpa que a consulta ou consultas não resolvam.

O sucesso de uma consulta de aconselhamento genético pressupõe a compreensão dos dados comunicados. Para complementar o aconselhamento e apoiar essa compreensão, deve ser posteriormente elaborada e enviada ao consulente uma carta em que seja sintetizado o conteúdo da consulta ou consultas realizadas e aberta a possibilidade de realização de nova consulta se surgirem dúvidas por parte do consulente.

7. MOMENTOS PARA O DIAGNÓSTICO E O ACONSELHAMENTO GENÉTICO

Face à existência de um risco genético, o diagnóstico e o aconselhamento genético podem ser pré-matrimonial, pré-concepcional, pré-implantatório, pré-natal e pós-natal. Os procedimentos devem assentar numa percepção clara do que se procura e dos momentos mais adequados para a sua realização.

7.1. ACONSELHAMENTO GENÉTICO PRÉ-MATRIMONIAL

O aconselhamento pré-matrimonial tem lugar antes do casamento. Está indicado quando há consanguinidade entre os futuros membros do casal, quando há antecedentes familiares para uma doença genética e, em bases

populacionais, para rastreio de portadores de formas alélicas com mutações recessivas frequentes em determinadas populações e que sejam responsáveis por doenças graves em homozigotia.

Quando conjugado com a realização de testes genéticos para detecção de portadores de alelos mutados, permite o cruzamento de informação sobre o estatuto genético dos elementos do futuro casal.

Como exemplos de rastreio de portadores, refiram-se os que foram realizados entre judeus Ashkenazi, para detecção de heterozigotos para a mutação responsável pela doença de Tay-Sachs⁽¹⁾ e os rastreios realizados entre habitantes de Malta, Grécia e Itália para prevenção da talassémia β .

O diagnóstico genético realizado em período pré-matrimonial tem como problemas éticos a perda de privacidade e a eventual estigmatização, com rejeição social dos portadores.

7.2. ACONSELHAMENTO GENÉTICO PRÉ-CONCEPCIONAL

O período pré-concepcional representa, para um casal, a melhor oportunidade para proceder ao aconselhamento genético, ao permitir a realização dos estudos necessários, sem a pressão do tempo que se impõe quando já existe uma gravidez em curso. Os estudos podem ser demorados, quando implicam diversos membros de uma família. Por outro lado, e face a eventuais riscos, o casal tem oportunidade de ser esclarecido sobre possíveis medicamentos a tomar ou a evitar, cuidados de saúde a ter, infecções a tratar ou escolhas a realizar em termos reprodutivos, sem ficar limitado ao DPI ou ao DPN.

São indicações para aconselhamento genético pré-concepcional:

- abortos de repetição;
- filho anterior com cromossomopatia;
- esterilidade num membro do casal;
- filho anterior com malformações múltiplas;
- doenças hereditárias na família;
- história familiar de atraso mental;
- consanguinidade.

⁽¹⁾ A doença de Tay-Sachs é uma afecção de natureza autossómica recessiva, rara na população geral, que afecta o cérebro e provoca morte precoce cerca dos 3 a 4 anos de idade. Entre Ashkenazis, a frequência de portadores do alelo mutado é de 1 em cada 30 indivíduos, em comparação com a população geral em que é de 1 para 300.

7.3. DIAGNÓSTICO E ACONSELHAMENTO GENÉTICO PRÉ-IMPLANTATÓRIO

O DPI permite fazer o diagnóstico de anomalias genéticas em embriões obtidos por fecundação *in vitro*, antes de serem implantados no útero. É uma alternativa ao DPN, para casais com um elevado risco de transmitirem doenças genéticas graves. No entanto, para casais sem problemas de esterilidade, enfrenta as dificuldades inerentes à reprodução medicamente assistida por fecundação *in vitro*.

Calcula-se que este tipo de diagnóstico genético, quando seguido de não implantação do embrião na cavidade uterina, reduza em 95% o risco de um casal portador de uma doença genética grave transmitir essa doença a um descendente.

A primeira doença a ser estudada com o recurso a DPI foi a fibrose quística, em 1992. Até agora, o DPI tem sido realizado:

- em embriões obtidos de casais portadores de mutações associadas a doenças monogénicas (Tabela XX.1);
- para a determinação do sexo do embrião em casais portadores de doença ligada ao cromossoma X;
- para detectar complementos cromossómicos anormais em embriões (v.g., embriões de mulheres com mais de 35 anos, com recurso ao estudo de glóbulos polares);
- para identificar embriões portadores de alterações estruturais não equilibradas (v.g., translocações).

Tabela XX.1. Exemplos de doenças monogénicas em que tem sido usado DPI

EXEMPLOS DE DOENÇAS MONOGÉNICAS
Doenças autossómicas dominantes: <ul style="list-style-type: none">– Coreia de Huntington– Distrofia miotónica– FAP– Síndrome de Marfan
Doenças autossómicas recessivas: <ul style="list-style-type: none">– Anemia de células falciformes– Doença de Tay-Sachs– Fibrose quística– Hiperplasia congénita da suprarrenal– Talassémia β
Doenças ligadas ao cromossoma X: <ul style="list-style-type: none">– Distrofia muscular de Becker– DMD– Hemofilia– Síndrome do X-frágil

Os casais em que tenham ocorrido múltiplos abortos (por eventual presença de aneuploidias nos embriões) poderão também beneficiar desta técnica.

O DPI pode ser realizado:

- nos glóbulos polares do ovócito e do zigoto, o que apenas permite estudar mutações presentes no DNA materno;
- em um ou dois blastómeros colhidos em embriões com três dias de desenvolvimento (com 6 a 8 células), obtidos por fecundação *in vitro* por injeção intracitoplasmática;
- por biópsia de cerca de 10 células da trofoectoderme do blastocisto, cerca do 5º-6º dia de desenvolvimento, fase em que o embrião se apresenta com cerca de 100 células.

A biópsia de um ou dois blastómeros é o método mais frequentemente usado. A biópsia da trofoectoderme caiu em desuso para estudo pré-implantatário, embora permita maior segurança dos resultados, provavelmente pelo facto de apenas cerca de 40% a 50% dos embriões em cultura atingirem a fase de blastocisto.

O DPI é um método que exige rapidez na obtenção dos resultados, não podendo demorar mais do que 48 horas, para que o embrião se encontre com boa viabilidade para ser implantado no útero. Os estudos cromossómicos são realizados, habitualmente, por hibridação *in situ*.

Uma das limitações mais significativas do DPI reside na eficiência, relativamente baixa, da fecundação *in vitro*, uma vez que não mais de 20% a 30% dos casais conseguem uma gravidez por ciclo de fecundação *in vitro*.

É ainda uma técnica associada a cerca de 5% a 10% de falsos positivos ou falsos negativos, pelo que os resultados devem ser confirmados por DPN. Falsas condições de homozigotia podem ocorrer por falha de amplificação de um dos alelos, por PCR. Assim, nos casos de mutações autossómicas, se o estudo por PCR não amplificar o alelo mutado, origina-se um falso negativo que pode determinar a transferência de um embrião portador da mutação. Os erros associados a DPI em mutações autossómicas são mais frequentes nos casos de natureza dominante (cerca de 15%), em comparação com os casos de natureza recessiva (cerca de 1,8%). Nos casos de natureza recessiva ligada ao X, a probabilidade de erro é de cerca de 7%.

Na eventualidade de haver mosaicismo a nível dos blastómeros e se for estudada uma única célula, o resultado do DPI também pode induzir em erro. Se forem usadas duas células em vez de uma, reduz-se a probabilidade de erro.

A capacidade de implantação é ligeiramente afectada pela prévia colheita de células, levando à degenerescência dos embriões em menos de 5% dos casos, para equipas bem treinadas.

7.4. DIAGNÓSTICO E ACONSELHAMENTO GENÉTICO PRÉ-NATAL

O diagnóstico e o aconselhamento pré-natais assentam, predominantemente, no DPN realizado no período fetal da gravidez. O primeiro DPN realizado em Portugal, teve lugar no Porto, em 1972. O DPN permite que os pais tomem decisões com base em factos em vez de cálculos de risco empíricos. Contudo, nenhum teste pré-natal pode garantir que um feto será normal, para além da doença investigada e, mesmo nesta, tendo em consideração as limitações do método utilizado.

São indicações para DPN:

- idade da mãe superior a 35 anos;
- existência de um filho anterior portador de cromossomopatia;
- progenitor portador de cromossomopatia equilibrada;
- possibilidade de ocorrência de síndrome de X-frágil;
- risco elevado para doença de causa monogénica;
- abortos múltiplos;
- anomalias detectadas por ecografia;
- suspeita de anomalias fetais sugeridas por rastreio bioquímico (v.g., valores anormais de α -fetoproteína);
- história de defeitos do tubo neural;
- anomalias múltiplas em filho anterior, ainda que sem diagnóstico médico;
- ansiedade materna.

A ecografia é o meio complementar de diagnóstico mais frequentemente utilizado no DPN.

A amniocentese é habitualmente realizada às 15 semanas de gestação e a biópsia das vilosidades coriónicas entre as 9 e as 12 semanas de gestação.

Estes procedimentos constituem as fontes mais comuns de obtenção de células com origem fetal para DPN, seja para estudos citogenéticos ou moleculares. A amniocentese é executada com um agulha fina introduzida no útero através da parede abdominal, sob controlo ecográfico. São recolhidos cerca de 20 a 30 ml de líquido amniótico, por aspiração com uma seringa. A biópsia das vilosidades pode ser executada por via vaginal ou por via abdominal, sendo colhidos cerca de 20 a 40 mg de tecido coriônico.

A amniocentese permite, para além dos estudos nas células fetais, a realização de doseamentos bioquímicos. No soro materno, também pode ser realizado o doseamento bioquímico de substâncias, de que são exemplo as indicadas na Tabela XIV.7.

As células fetais podem também ser isoladas do sangue circulante materno, onde se encontram em pequena quantidade. Como técnica não invasiva, ainda que sem utilização prática actualmente, tem despertado grande interesse.

A ecografia fetal pode constituir um recurso precioso, como acontece no rastreio de defeitos do tubo neural, em conjugação com o doseamento da α -fetoproteína, no soro materno, ou da trissomia 21.

O DPN por amniocentese está associado a um risco de aborto da ordem de 0,5% a 1%, quando a colheita de líquido amniótico é realizada à 15ª semana de gestação, e de cerca de 2%, se a amniocentese for realizada precocemente, entre a 12ª e a 14ª semanas de gravidez. O risco provocado pela amniocentese vem adicionar-se ao risco de abortamento espontâneo que, pela 15ª semana, é da ordem de 2,5%. Para a biópsia das vilosidades existe um risco de aborto de 1% a 2%, para além de um ligeiro aumento de risco para defeitos congénitos, sobretudo dos membros, quando é realizada precocemente.

Os estudos para diagnóstico genético pós-natal são habitualmente feitos em linfócitos do sangue periférico ou em fibroblastos. Podem recorrer à citogenética, a FISH e a estudos moleculares do DNA. Abrangem os processos de diagnóstico neonatal e, em idades posteriores, o rastreio de portadores de mutações recessivas e o diagnóstico pré-sintomático. Estão ainda indicados

em fetos com malformações múltiplas, em crianças com malformações múltiplas ou atraso de desenvolvimento, em indivíduos com atraso mental, nos casos de fenótipo sugestivo de anomalias dos cromossomas sexuais e em familiares de portadores de anomalias estruturais dos cromossomas.

O diagnóstico neonatal justifica-se quando a detecção da deficiência de causa genética é passível de abordagem terapêutica, como acontece com a FCU ou o hipotireoidismo congénito.

O rastreio de portadores pode ser realizado em sub-populações em que haja uma frequência aumentada de alelos de um determinado gene com mutações recessivas, na expectativa de reduzir os casamentos ou as gravidezes entre heterozigotos e de diminuir a incidência da doença.

A realização de diagnóstico pré-sintomático deve atender às vantagens e aos inconvenientes do diagnóstico predizente. A sua realização em crianças deve ter lugar apenas quando a expressão da mutação em causa é precoce e há recursos médicos disponíveis para beneficiar o portador da mutação.

(Página deixada propositadamente em branco)

CAPÍTULO XXI

ÉTICA EM GENÉTICA

1. INTRODUÇÃO

A ética é uma área do saber que investiga sobre o que é bem no agir do homem, na busca do comportamento que conduza à plena realização da pessoa, no âmbito de uma solidariedade com os outros que seja globalmente justa. É a ciência da moral e a arte de dirigir a conduta. Os limites éticos divergem em função das restrições que modelam o “mundo moral” das comunidades e dos indivíduos, devendo prevalecer a busca da humanização e a interrogação sobre o dever, e não sobre a capacidade de fazer.

Especificamente, a ética médica está delimitada no seu âmbito pelo que diz respeito à vida, através de juízos sobre as implicações e os limites morais (em contexto médico) para os actos humanos e as aplicações dos novos conhecimentos e tecnologias que a ciência vem proporcionando. Neste aspecto, a ética médica é um processo nunca acabado que se deve desenvolver a par e passo com o desenvolvimento da ciência, para que este desenvolvimento passe a fazer parte da vida das pessoas, sem as agredir. O compartimento da ética médica relativa à genética inclui as condições provocadas por alterações de um ou mais genes ou do número ou da estrutura dos cromossomas que conduzem à expressão de sinais e sintomas de doença no seu todo ou em parte. As alterações genéticas podem ser herdadas (constitucionais, ou seja presentes em todas as células do organismo) ou adquiridas (presentes apenas em algumas células do organismo, por terem ocorrido após a formação do ovo ou zigoto).

2. PRINCÍPIOS ÉTICOS

Os problemas éticos são resolvidos tendo em consideração os princípios éticos, mas também os “standards” da profissão, as expectativas da sociedade, os desejos individuais, os benefícios esperados, as diversas opções abertas, a disponibilidade de recursos, os valores do doente ou consulente e o contexto das relações. A ética serve a tomada de decisões e as melhores escolhas.

No campo específico da ética biomédica, trata-se de defender a autonomia e a liberdade de cada pessoa, ela que é um valor intrínseco, não instrumental, tendo em consideração o respeito pela natureza pessoal das decisões subsequentes ao conhecimento de um resultado, pela auto-determinação individual e pela confidencialidade.

No tempo presente, os avanços dos conhecimentos da biologia, da genética e da medicina já permitem realizar e sobretudo antecipar intervenções que podem atentar contra eventuais equilíbrios atingidos pela “Natureza viva”. Entre as questões que se levantam encontram-se as que questionam sobre quais as mudanças que, operadas sobre esta “Natureza”, se podem considerar ainda dentro dos valores da moralidade e da ética.

Entre os aspectos essenciais para resolver dilemas em Medicina, encontram-se os princípios éticos básicos que sustentam a dignidade da pessoa: autonomia e vulnerabilidade, beneficência, não-maleficência, justiça e confidencialidade.

2.1. AUTONOMIA E VULNERABILIDADE

O exercício da autonomia implica esclarecimento adequado e completo do consulente ou doente, baseado na verdade e na fidelidade em referência ao “estado da arte”. Diz respeito à liberdade de decidir, como um direito do indivíduo, sem qualquer tipo de interferência ou coação, seja de quem for. Pressupõe que as decisões do indivíduo não colidam com a vida e com o respeito que a esta é devido, nem com as finalidades da Medicina.

No âmbito da autonomia desenvolve-se o dilema do direito a saber/não saber os resultados de testes genéticos realizados pelo indivíduo. O direito a não saber pode ser contrariado, se os resultados originarem um dever moral em relação a terceiros. Assim, se houver familiares com risco acrescido para

uma doença e o seu tratamento ou prevenção depender da utilização do resultado de um teste realizado em indivíduo que tenha decidido não querer saber, este resultado deve ser usado para orientar o acompanhamento dos indivíduos em risco, ainda que as intervenções desenvolvidas nos seus familiares revelem o seu estatuto genético. Idêntico raciocínio se poderá aplicar aos casos em que um indivíduo conhecedor do resultado de um teste genético que tenha realizado, não queira que o seu estatuto seja conhecido, ainda que essa posição prejudique terceiros.

A autonomia pessoal deve ser encarada olhando o indivíduo inserido em famílias e na sociedade, pelo que o interesse do “outro” deve ser ponderado quando este puder beneficiar, muito significativamente, da informação recolhida num dos seus membros. Até ao limite do possível, deve ser evitado o prejuízo de quem acabou por contribuir com os resultados do seu estudo para o conhecimento de alterações genéticas numa família (não-maleficência). Contudo, e indo mais além, quando o conhecimento da genética vier a possibilitar ilações mais profundas e mais seguras sobre a associação entre determinadas susceptibilidades e o estatuto multigénico individual, é previsível que o respeito pela autonomia venha a ser ainda mais mitigado, em particular quando o uso dos dados individuais se reflectir no bem comum dos cidadãos (v.g., em pilotos de avião ou de outros transportes públicos vs. susceptibilidade para doenças agudas, em agentes de segurança vs. predisposição para o uso descontrolado da força).

O princípio da autonomia é, frequentemente, sobrevalorizado e invocado de forma desadequada. Como exemplo, refira-se a decisão de uma mãe que interrompe uma gravidez face a um teste predizente indicador de elevada probabilidade de o filho vir a ter uma doença grave em adulto. Se a autonomia deve ser modelada no respeito pelo “outro”, a decisão da mãe deve ponderar os interesses do “outro” que é o seu filho e não decidir apenas em função de si.

Em sentido contrário, não será infrequente caracterizar como irresponsável a decisão de um casal que, sendo conhecedor do resultado de um teste genético, decide implantar um embrião ou não interromper uma gravidez, estando presente uma anomalia genética patogénica grave *in utero*, no período pós-natal ou mesmo de expressão tardia. Será esta decisão moralmente errada? Mesmo que o seja para alguns, não o será para todos. Não parece, contudo, que o conhecimento dado por um teste predizente

transforme, em irresponsável, uma decisão que pondere e respeite o valor da vida!

Recentemente, foi considerado relevante para a reflexão ética, o princípio do respeito pela vulnerabilidade. Este princípio aplica-se a pessoas com reconhecida incapacidade para decidir de forma autônoma, como ocorre com crianças, com portadores de atraso mental ou com doentes em coma. Nestes casos, havendo limites ao princípio da autonomia, prevalece o princípio da beneficência, presumindo-se na decisão tomada por terceiros que a pessoa em causa decidiria em função dos critérios do bem comum.

O princípio da autonomia também é válido para o médico, também ele pessoa, cujos juízos, atitudes e comportamentos serão igualmente ditados em função de valores próprios.

2.2. BENEFICÊNCIA

Por este princípio, as intervenções médicas devem contribuir para o bem estar e a dignidade pessoal, elegendo os actos entendidos como os melhores para o interesse do doente ou consulente. Contudo, o referido interesse não depende, em exclusivo, dos actos do médico, mas também dos valores próprios pelos quais se rege.

No caso particular dos testes genéticos, a sua realização apenas deve ter lugar se for possível antecipar um benefício para o indivíduo em causa.

Os resultados de testes genéticos apenas devem ser confiados a médicos com experiência na sua interpretação e no aconselhamento que deles decorra.

2.3. NÃO-MALEFICÊNCIA

434

A não-maleficência retoma o princípio de Hipócrates *primum non nocere*. Tal significa que a intervenção médica não dê origem a dano no doente, de forma intencional ou por negligência. Nos cuidados a ter para cumprir este princípio, inclui-se também o consentimento informado, no que respeita à garantia dos direitos individuais de não divulgação dos resultados, do direito a não saber e à explicação dos procedimentos, dos benefícios e dos eventuais malefícios pessoais.

2.4. JUSTIÇA

Considerando a saúde como um bem básico, todos os cidadãos devem estar no mesmo plano de igualdade, em termos de acesso aos benefícios proporcionados pelo sistema de saúde, para que se espelhe o princípio da justiça. Num Estado Social, a justiça implica discriminação positiva, com atribuição de custos de forma proporcional ao rendimento e não aos gastos pessoais com as necessidades em cuidados de saúde.

Noutra dimensão mais ampla, a justiça implicará que se combatam as assimetrias no acesso aos bens da saúde já disponíveis, que se verifiquem dentro de um mesmo país ou entre países em estádios de desenvolvimento diversos.

O pensamento aristotélico ajudou a fundamentar o princípio da justiça ao defender que iguais devem ser tratados de forma igual e desiguais de forma desigual.

2.5. CONFIDENCIALIDADE

A confidencialidade sustenta a autonomia, a beneficência e a não-maleficência.

Quando a confidencialidade dos testes genéticos não é mantida, podem ocorrer problemas graves, como sejam o conhecimento da falsa paternidade de um filho do casal, até aí desconhecida, o conhecimento de um genótipo associado a risco genético elevado para determinada doença pelo outro membro do casal ou por familiares contra a vontade expressa do portador, ou a divulgação e conhecimento de genótipos de susceptibilidade para doenças do adulto jovem por empregadores ou seguradoras.

Na opinião de alguns autores, o dever moral de avisar familiares de portadores de mutações associadas a doenças graves, nomeadamente no âmbito da oncologia, e que daí podem tirar benefício, mediante diagnóstico precoce ou prevenção, prevalece sobre a confidencialidade, com base no “paternalismo justificado”. Algumas vantagens deste conhecimento podem passar, por exemplo, pelo tratamento e prevenção de doenças, pelo

planeamento das opções reprodutivas tendentes a evitar a transmissão de alelos deletérios ou pela escolha da ocupação profissional, de modo a evitar as consequências desfavoráveis da exposição a determinado poluente ambiental causador de doença na presença de um genótipo de susceptibilidade. Contudo, a divulgação dos resultados pode trazer algumas desvantagens para o indivíduo, como sejam a dificuldade de emprego ou a perda do emprego, a não aceitação de propostas de seguros ou o aumento do montante dos prémios pelas seguradoras, perturbações nas relações familiares, acasalamentos não ao acaso, angústia a nível psicológico e na relação social.

A confidencialidade também pode acarretar penalizações para a sociedade. Assim, indivíduos que se saibam portadores de mutações de susceptibilidade para doenças graves ou mortais, poderão contratar, junto de companhias de seguros, elevadas indemnizações, a receber pelo próprio ou por familiares, mediante o pagamento de prémios calculados para a esperança média de vida da população a que pertence e não para condições particulares. As penalizações decorrentes da falta de honestidade de uns poucos, poder-se-ão traduzir em aumento dos prémios a pagar pelos contratantes em geral para cobertura do excesso de perdas das companhias de seguros, sem vantagens adicionais, ou na neutralização da confidencialidade, pelo menos acima de determinados escalões de indemnização.

A utilização de DNA de forma anónima, para investigação, não parece ofender a condidencialidade e não carecerá, por isso, de autorização. Contudo, quando estes estudos forem feitos em grupos populacionais bem delimitados e com um número reduzido de membros, e caso haja resultados que se traduzam na presença de formas alélicas deletérias, podem surgir sentimentos de exclusão em relação ao grupo populacional em causa, pela parte das populações vizinhas, bem como redução da auto-estima nos seus membros. E ainda que em regime de anonimato, se as indicações obtidas demonstrarem que as populações estudadas podem beneficiar da aplicação dos conhecimentos científicos resultantes da investigação, deverão ser equacionadas as melhores formas de fazer incidir os seus benefícios sobre os membros da população em causa.

3. A VIDA HUMANA, DO EMBRIÃO AO SER ADULTO

Uma vida humana é um *continuum* com origem no momento da fecundação. No ovo, resume-se todo o potencial da herança genética de cada ser humano, de forma irrepetível. A identidade genética, em relação ao DNA nuclear do ovo, vai-se manter ao longo do desenvolvimento e durante a vida de cada indivíduo, para todas as células nucleadas de um ser humano adulto.

Um embrião humano poderá não ser considerado pessoa, mas ninguém pode negar que reúne em si toda a potencialidade para vir a ser pessoa. Incontestavelmente, desde os seus primórdios como ovo, que é uma forma de vida, que é vida humana e nada mais, e que, globalmente, a informação codificada no DNA é única. Em sequência, nenhuma informação genética lhe será acrescentada durante a ontogénese. São excepções ao que se acaba de afirmar:

- os linfócitos B maduros devido à recombinação somática;
- os gâmetas devido à redução haplóide do seu complemento cromossómico;
- as células do organismo em que ocorram mutações.

Ao longo de fases sucessivas, o embrião evolui ganhando em complexidades de que a vontade e a consciência humanas irão ser expressão superior e fundamento da dignidade do homem! Por tudo isto, o embrião humano é um fim em si e tem uma dignidade intrínseca desde a sua concepção, que torna inaceitável a sua instrumentalização como se de um objecto se tratasse.

O embrião humano, sendo uma nova vida humana, não é propriedade de ninguém, e neste ninguém incluem-se os pais. Aos pais e à sociedade compete, antes, garantir a sua protecção, concedendo todos os meios que a ciência pode disponibilizar para garantir a sua sobrevivência e desenvolvimento. O conhecimento e as tecnologias a que a humanidade tem acesso actualmente devem ser usadas para defender e incrementar a dignidade humana e não para atentar contra essa dignidade.

Noutra dimensão, a enorme diversidade que é concedida pelos mecanismos subjacentes à criação de cada embrião aparece, aos olhos do conhecimento actual, como insubstituível para a preservação e a evolução adaptativa da espécie humana e permite levantar questões relevantes no que respeita à clonagem somática para fins reprodutivos.

4. QUESTÕES ASSOCIADAS À CLONAGEM SOMÁTICA

Justificar-se-á a clonagem somática humana para fins reprodutivos?
A resposta negativa parece óbvia:

- por razões éticas, destacando-se o facto de um embrião clonado não reproduzir as potencialidades que decorrem da diversidade presente nos embriões obtidos por fecundação, pelo que é negada a essência e o potencial da criação, inerentes a uma nova vida humana, na sua unicidade; será, por isso, “reprodução”, mas não “criação”;
- por razões científicas, pela atenção a dar à precaução como princípio a respeitar face à falta de estudos prévios em animais, capazes de conceder segurança ao método, ao registo de problemas de saúde nos animais em que foi utilizada esta metodologia, ao atentado à diversidade que o processo representa e ao elevado nível de ignorância actual, nomeadamente no que respeita às formas de ultrapassar as consequências do encurtamento dos telómeros e do “imprinting”;
- por razões práticas, tendo em consideração a baixíssima rentabilidade dos métodos descritos até agora;
- por razões legais, uma vez que o “Protocolo Adicional à Convenção sobre Direitos Humanos e Biomedicina”,⁽¹⁾ já ratificado por Portugal, com efeitos a partir do dia 1 de Dezembro de 2001, proíbe a clonagem humana para fins reprodutivos, por considerar a criação deliberada de seres humanos geneticamente idênticos uma instrumentalização de seres humanos contrária à dignidade humana e um mau uso da biologia e da medicina.

Ainda assim, poderá ser avançado um registo utilitarista e a invocação da necessidade médica da clonagem reprodutiva para prevenir doenças hereditárias. Contudo, trata-se de um argumento que é anulado pelo recurso à fecundação *in vitro*, para obtenção de embriões, seguida de diagnóstico genético pré-implantatório, se não forem consideradas as questões éticas resultantes da eliminação de embriões humanos. A defesa da clonagem para

⁽¹⁾O Protocolo Adicional à Convenção sobre Direito Humanos e Biomedicina foi aprovado pelo Conselho da Europa em Janeiro de 1998. No artigo 1, estabelece que “Any intervention seeking to create a human being genetically identical to another human being, whether living or dead, is prohibited”, e que “For the purpose of this article, the term human being “genetically identical” to another human being means sharing with another the same nuclear gene set”.

combater formas de esterilidade sem outra solução alternativa, choca com as razões antes aduzidas contra a clonagem reprodutiva.

Quanto à clonagem somática para fins terapêuticos, encontra-se num estágio experimental muito precoce e as aplicações enunciadas correspondem a hipóteses, dentro do que é racionalmente expectável! Mantêm-se, por isso, as objecções de natureza científica e prática. Contudo, no campo ético, existe a possibilidade de não ser atribuído o mesmo nível de dignidade ao embrião obtido por clonagem somática, em comparação com a dignidade intrínseca do potencial único de vida humana do embrião resultante da fecundação. Ponderando este aspecto e a eventual necessidade de recorrer à clonagem terapêutica para fins médicos, como único recurso para tratar casos extremos de doença grave numa pessoa, poder-se-á chegar a um ponto em que a ponderação dos valores em causa sustente a sua realização.

Naturalmente que um embrião obtido por clonagem somática para fins terapêuticos não diverge biologicamente de um embrião que seja clonado, pelo mesmo processo, para fins reprodutivos. O abuso parece estar mais do lado de quem utilize este tipo de metodologia para fins reprodutivos, ignorando o atentado que faz ao processo de criação de vida humana, pelas limitações deste tipo de embrião, e as consequências graves por que se teme, actualmente, para o ser humano daí resultante. Em caso de abuso, um recurso médico pensado para tratar o sofrimento poderia vir a ser transformado em fonte de sofrimento para o ser humano que, eventualmente, viesse a desenvolver-se por este processo. O princípio da precaução deve, por isso, imperar.

Nesta, como noutras áreas do conhecimento, não será o medo de alguns, em relação ao uso indevido do conhecimento, que evitará o progresso científico e técnico, mas será uma consciência ética bem formada de todos os cidadãos que evitará desmandos e usos indevidos desse mesmo progresso! Há pois lugar para a educação especificamente dirigida para a compreensão da ciência e para o seu potencial e finalidade, no que respeita à promoção do bem-estar humano que pode conceder e ao mal que, por abuso ou inconsciência, pode provocar.

A argumentação anterior poderá estar no fio da navalha! Poderá mesmo ser perigosa, quando atribui às finalidades e à mobilização ou não dos meios para as atingir (implantação ou não do embrião clonado no útero materno) a razão para o ganho de dignidade desta forma de vida humana, ou para a

ausência dessa dignidade e a sua transformação *ipso facto* em recurso terapêutico! Talvez que, nesta fundamentação, haja inclusive algum nível de contaminação decorrente do utilitarismo positivista!

Como contraponto, regresse-se ao embrião humano criado por fecundação. Este embrião é facilmente compreendido como vida humana única e com dignidade intrínseca, determinada por uma só finalidade natural e servida por um só caminho (as células gaméticas haplóides são produzidas exclusivamente para a criação de um novo ser humano). Na clonagem somática, a gênese do embrião é determinada por métodos *contra natura*, a finalidade tem determinação exógena ao embrião (a informação diplóide do DNA do núcleo de uma célula somática nunca seria o DNA de um embrião sem uma vontade extrínseca e tem limitações quando usada para esse fim) e, geneticamente, não se verifica unicidade no que à informação do DNA nuclear diz respeito. Contudo, se as finalidades de uma clonagem somática forem abusivamente alteradas no sentido da reprodução, e embora tal determinação exógena não altere as previsíveis limitações biológicas do embrião assim clonado, as finalidades passam a ser sobreponíveis às do embrião criado por fecundação. Não ganhando, por isso, qualidades idênticas às deste, ganhará idêntica dignidade, através das finalidades.

Apesar de todo o envolvimento emocional e de interesses materiais actualmente associados à clonagem somática, talvez que, num futuro próximo, venha a diluir-se a sensação de necessidade prática de a desenvolver, mesmo para fins terapêuticos. Na verdade, nos organismos adultos existem células multipotentes (células estaminais, não diferenciadas), a partir das quais poderá vir a ser possível obter células para fins terapêuticos, por diferenciação induzida. Por outro lado, o sangue do cordão umbilical também possui células indiferenciadas que poderão vir, igualmente, a constituir-se como alternativa à clonagem para fins terapêuticos.

5. A “DESCOBERTA” DO GENOMA HUMANO E O EUGENISMO

A designação “genoma humano” é muito mais do que o genoma de um único ser humano, dizendo respeito à espécie! Há grupos populacionais em que algumas formas alternativas dos genes são raras ou podem mesmo

faltar, embora sejam frequentes noutras populações, para já não falar no número elevadíssimo de diferentes formas que muitos dos genes humanos podem apresentar em diferentes indivíduos e populações. Por isso, o cumprimento do “Programa do Genoma Humano” inclui a sequenciação de um “pool” de DNA obtido de 30 seres humanos, de diferentes etnias.

A “descoberta” do genoma humano consiste na sequenciação de todos os pares de bases constituintes do genoma. Sequenciar significa determinar a ordem pela qual as bases se organizam nos cromossomas. Se fizermos corresponder cada base a uma letra, esta sequência ocupará cerca de mil livros, com mil páginas cada um e três mil letras por página.

Para muitos cientistas da actualidade, a sequenciação do genoma humano poderá ser o precursor de um inevitável retorno à eugenia porque proporcionará, em larga escala, um conhecimento científico mais rigoroso do genoma e as metodologias práticas necessárias para o desenvolvimento de estratégias da saúde pública. Será a eugenia a “face oculta” da Genética, tendo por base o conhecimento do genoma humano e o diagnóstico genético?

É seguramente preocupante que surja alguém com poder para decidir quais as características que são inerentes a uma sociedade e que devem ser preservadas e melhoradas e quais as que devem ser eliminadas. Contudo, o conhecimento da Genética também poderá contribuir para perceber que, afinal, todos os seres humanos são portadores de uma ou outra anomalia genética e que, por isso, não há lugar para tentações eugénicas. Poderá ainda fazer perceber como a diversidade é o melhor recurso para a sobrevivência das espécies..

Na verdade, as visões eugénicas e as tentativas de normalização dos seres, por eugenia negativa, são um atentado à diversidade. A procura do indivíduo ideal, do ser perfeito, do filho que se deseja ter, limitará, à partida, a esperança de vida dos embriões e dos fetos que, por decisão em que não podem tomar parte, são eliminados. Será legítimo eliminar um embrião ou feto, por se concluir que poderá vir a ter uma doença grave numa fase relativamente precoce da sua vida adulta (v.g., 30 ou 40 anos)? Não é esta, actualmente, a esperança de vida da generalidade dos recém-nascidos em África? Não foi com menos de 40 anos que morreram Schubert e Mozart?

A grande maioria das características observáveis em cada pessoa (o seu fenótipo) resulta do “diálogo” entre os cerca de 30.000 a 40.000 genes herdados dos pais e o “meio ambiente”. A “descoberta” do genoma humano, vista por muitos como a chave capaz de desvendar os segredos do futuro de cada ser humano, inscrito nas suas primeiras células, afigura-se-nos que virá a ser um dicionário dos genes. Contudo, possuir um “dicionário” não é escrever uma “obra-prima”!

O homem, cada pessoa, é essa “obra prima” que, nas suas dimensões biológicas, psicológicas, relacionais, culturais e espirituais, existe como uma realidade, bem mais complexa do que o produto da expressão linear dos seus genes!

6. A QUESTÃO DA “NORMALIDADE” À LUZ DA GENÉTICA

A definição de “normalidade” não deve assentar num qualquer modelo de “perfeição” humana determinada por um padrão ideal de genoma! Manipular o genoma para o melhorar, em nome de um padrão considerado normal, é esquecer uma regra de ouro: a sobrevivência das espécies tem na diversidade o seu melhor recurso. Na verdade, nem sempre um gene alterado significa desvantagem e logo ameaça vital para o seu portador. Assim, todas as acções dirigidas para reduzir o fundo génico da espécie humana, seja através de normalização por intervenções eugénicas, seja por clonagem ou por selecção de embriões em função de determinadas características, devem ser consideradas como um atentado contra a humanidade e, por isso, proscritas.

Nem sempre um genótipo considerado normal é favorável ao seu portador. Considere-se, a este propósito, o que pode ocorrer com o processo de eliminação de xenobióticos ambientais. Um indivíduo portador da forma normal de um gene que codifique uma enzima envolvida no metabolismo de um carcinogénico (v.g., hidroxilase da debrisoquina) quando contacta com a molécula, metaboliza-a e transforma-a numa molécula não carcinogénica. Contudo, se este mesmo indivíduo contactar com uma molécula pró-carcinogénica (como tal, não carcinogénica), cujo metabolismo seja mediado pela mesma enzima, tem lugar a formação de moléculas carcinogénicas com

consequente aumento de risco para o cancro. Em contraponto, para um indivíduo “deficiente” para aquela enzima, por mutação do respectivo gene, a exposição ao mesmo pró-carcinogéneo não representa aumento de risco para o cancro, devido a incapacidade para proceder ao seu metabolismo. Neste caso, uma deficiência genética equivale a vantagem biológica. Este exemplo demonstra como a definição de “normalidade” deve considerar o par genoma/ambiente e não apenas a presença ou ausência da forma normal dos genes. O domínio desta área do conhecimento, poderá vir a influenciar no futuro, entre outras áreas, a escolha da ocupação profissional, mas sobretudo a modificar o pensamento sobre o determinismo genético e a visão reducionista do homem aos seus genes.

Pensar-se que o conhecimento do genoma permite saber o futuro de um indivíduo, não passa de um desejo que, no momento presente, apenas pode ser bem caracterizado num número reduzido de situações. Por isso, a partir do conhecimento actual, parece imprudente regular conflitos de interesses entre os pais e o embrião ou o feto com o recurso à eliminação destes, mesmo quando as doenças são de expressão tardia, tendo padrões de “normalidade” do genoma humano, como referência.

O eugenismo é um atentado à diversidade. Fomentar a riqueza do fundo génico através da diversidade, sem selecção dos seus portadores, será a melhor defesa contra as incertezas da pressão de selecção. As forças de selecção podem-se alterar a todo o momento, transformando em desvantagem, ou mesmo em factor letal, a presença de formas de genes até agora consideradas como as mais adequadas. Nessa altura, poderiam ser as formas alélicas consideradas agora “deficientes” a concederem vantagem e a permitirem a sobrevivência da Humanidade.

7. A QUESTÃO DAS “DOENÇAS GRAVES” E DE EXPRESSÃO TARDIA À LUZ DA GENÉTICA

443

Face ao exposto, surgem ainda perguntas claras e incómodas: o que é uma “doença grave” à luz dos resultados do diagnóstico citogenético ou molecular, seja pré-implantatório ou pré-natal? Em que bases genéticas poderão ser definidos os limiares da “normalidade” para selecção dos embriões ou fetos a eliminar? Será legítimo fazer uma lista de doenças graves

e estigmatizantes, inicialmente indicativa e mais tarde, eventualmente compulsiva, no que respeita a intervenções de “normalização”? O embrião, o feto ou a criança com uma alteração genética que origine uma doença grave em adulto é já um doente? Será moralmente aceitável eliminar embriões ou fetos com base numa probabilidade de morte mais precoce? Dentro de 30 a 40 anos, não serão as potencialidades terapêuticas decorrentes dos avanços científicos entretanto conseguidos suficientes para curarem as doenças que hoje são incuráveis nos adultos e que levam à eliminação dos embriões portadores da respectiva alteração genética?

O portador de um genótipo “anormal” será doente, apenas e só quando apresentar sinais e sintomas resultantes da expressão desse genótipo. Por outro lado, dever-se-á ter presente que, para muitos genes, há penetrância incompleta e expressividade variável das suas formas mutadas, pelo que uma percentagem significativa dos portadores poderá nunca vir a ter sinais e sintomas de doença, embora uma forma mutada do gene esteja presente e possa ser transmitida à descendência.

O que somos e como somos vai muito para além de um pretensão “determinismo genético”. Por maioria de razão, quando o “determinismo” para a saúde ou para a doença pode ter muito a ver com o “ambiente”, como se demonstrou para a FCU, ou quando um genótipo considerado deficiente pode ser protector em determinadas condições ambientais, como também ficou esclarecido!

Está também em causa uma visão reducionista do homem, no pensamento comum contemporâneo, alimentada pela ignorância arrogante de muitos que olham o homem como fruto da acção única dos genes imersos nos cerca de 2 metros de DNA de cada célula humana!

8. QUESTÕES ASSOCIADAS À TERAPIA GÉNICA

A terapia génica de células somáticas é actualmente aceite, sem contestação ética. O mesmo não se passa com a terapia génica germinal que, embora ainda hipotética, vem sendo apontada como moralmente não aceitável. Será esta razão moral válida, face à possibilidade de este tipo de terapia poder conduzir à eliminação de centenas de doenças genéticas graves

em descendentes de portadores de mutações patogénicas (embora não permita eliminar a ocorrência de doença por mutações “de novo”)? Ou não terá a Medicina, pelo contrário, a obrigação moral de investigar e de aprofundar os conhecimentos que tornem esta abordagem segura e eficaz, de modo a cumprir uma das suas missões mais nobres?

Naturalmente que a obrigação moral dos médicos consiste em disponibilizarem os melhores recursos que o progresso científico e o “estado da arte” proporcionem para a prevenção e a cura das doenças ou para corrigir as alterações genéticas ou circunscrever os seus efeitos.

As resistências éticas são desejáveis, enquanto persistirem os problemas técnicos e científicos actuais. As intervenções terapêuticas a nível das células germinais levantam questões éticas sérias, como sejam os possíveis limites morais quando se mexe (indevidamente) com a natureza humana, a dimensão da responsabilidade das gerações actuais para com as gerações futuras por uma eventual alteração do genoma com consequências não previsíveis e deletérias (solidariedade com o futuro!), a utilização de embriões humanos precoces para investigação genética, os relevantes riscos clínicos e o perigo social. No estado actual do conhecimento e por precaução (uma vez mais), não parece moralmente aceitável aplicar a terapia génica em células germinais ou embrionárias precoces.

No entanto, quando estiverem ultrapassados os problemas que nos dias de hoje inibem o recurso à terapia génica germinal, continuará a fazer sentido não colocar este recurso ao serviço do homem, de forma a corrigir doenças hereditárias graves?

A terapia génica embrionária poderá vir a permitir a correcção de um genoma e a viabilização da existência de um indivíduo que, na ausência de terapêutica, não atingiria as fases mais avançadas do desenvolvimento embrionário ou fetal e não chegaria a nascer. Será a existência provocada deste ser humano melhor do que a sua não existência, se o embrião com a anomalia genética fosse entregue às forças de selecção natural? Para a espécie parece vir a ser válida. A nível individual, a intervenção configura um acto médico precoce de sustentação de uma vida embrionária, já existente, como acontece com as intervenções médicas no período fetal e pós-natal, sempre que uma intervenção médica cura uma doença ou retarda a morte. Os reflexos para a descendência apenas acrescentam valor à intervenção.

9. QUESTÕES ASSOCIADAS AOS TESTES GENÉTICOS

Os testes genéticos são recursos analíticos destinados a estudar o material genético, envolvendo células somáticas ou germinais, que devem ser realizados no interesse dos doentes ou consulentes, seja este interesse de natureza clínica ou para investigação. As finalidades dos testes genéticos podem ser o diagnóstico, o rastreio ou a monitorização. Os testes genéticos para diagnóstico destinam-se a identificar ou confirmar uma doença. O rastreio tem como finalidade a detecção, em indivíduos saudáveis, de genótipos associados a susceptibilidade para determinadas doenças monogénicas ou multifactoriais relacionadas com exposição ambiental. A monitorização genética, destina-se a acompanhar periodicamente indivíduos expostos a determinadas condições ambientais, no que respeita à aquisição de mutações genéticas específicas.

Os testes genéticos devem ter reproducibilidade, elevada especificidade e sensibilidade e valor preditivo.

Habitualmente, um teste genético dirige-se para uma condição em particular. No entanto, há testes genéticos que originam informação aplicável a órgãos distintos, como pode ocorrer com a caracterização do gene *APOE*, em que é possível deduzir consequências em termos de risco para doença coronária cardíaca e para doença de Alzheimer. Nestes casos, o consulente deve ser previamente alertado para esta dimensão pleiotrópica dos resultados do teste, durante a consulta de aconselhamento genético.

Os testes genéticos podem ter como objectivo o diagnóstico clínico, o diagnóstico de heterozigotia, o diagnóstico pré-sintomático ou predizente, o DPN ou o DPI.

9.1. TESTES GENÉTICOS PRÉ-SINTOMÁTICOS OU PREDIZENTES

Designam-se por testes genéticos pré-sintomáticos ou predizentes, os estudos genéticos feitos em indivíduos sem manifestações de doença (sem sinais, nem sintomas). Permitem identificar os portadores de uma forma mutada de um gene que seja, com grande probabilidade, patogénica em

idade posterior ao momento de realização do teste, ou para os descendentes. Devem ser realizados nos indivíduos afectados e nos membros da família que, através do heredograma, sejam identificados como eventuais portadores da mutação patogénica, em particular nos elementos da família em que se suspeite de um risco inicial de 50%.

Apenas tem sentido a realização de testes pré-sintomáticos nos casos em que a identificação de uma mutação patogénica possa ser acompanhada de propostas que, objectivamente, se traduzam em vantagem para o portador da mutação, por eliminação ou redução do risco, seja por tratamento médico ou cirúrgico, seja por rastreio para diagnóstico precoce ou ainda por acções preventivas.

A reflexão levantada sobre as consequências da realização dos testes genéticos predizentes e os cuidados postos na sua realização, tem vindo a contracenar com a liberalidade e a falta de orientações observadas com a comunicação dos resultados de exames físicos, sendo que, por vezes, estes também têm um valor predizente igualmente elevado. Quando está em causa o acautelar de consequências negativas decorrentes da comunicação ao consulente de informação predizente de doença, não parece sensato tratar de modo diferente a informação que advém de testes genéticos da que advém do exame físico.

A realização dos testes predizentes deve ter lugar no âmbito de uma consulta de Genética Médica e ser precedida de aconselhamento genético e da assinatura de consentimento informado pelo doente ou consulente, ou pelos pais ou representantes legais no caso de menores ou de indivíduos sem competência para o fazerem, depois de devidamente informados e esclarecidos. O pessoal médico deve ser experimentado no que respeita às metodologias clínicas e laboratoriais aplicadas, à interpretação dos resultados de genética molecular e à forma de se relacionar com os consulentes, em particular quando estes são confrontados com resultados analíticos que os podem colocar perante um elevado risco para desenvolverem doença grave, muitas vezes sendo e sentindo-se saudáveis. Por isso, a comunicação dos resultados deverá igualmente ocorrer durante nova consulta de Genética Médica. Sempre que as circunstâncias clínicas o justifiquem, deve ser disponibilizado apoio psico-social.

Em indivíduos adultos, a realização de testes predizentes tem frequentemente a ver com decisões como o casamento e a gestação de filhos,

a assunção de responsabilidades profissionais ou de riscos financeiros, a aceitação ou rejeição de intervenções profiláticas de natureza cirúrgica, a mudança de estilos de vida que procurem contrariar o risco genético, a inclusão em projectos de investigação destinados a avaliar a eficácia de rastreios ou de ensaios de quimioprevenção, a necessidade de viver com certezas, o combate à ansiedade originada pela experiência vivida com casos familiares e a distinção entre familiares portadores e não-portadores da mutação patogénica presente na família.

9.1.1. BENEFÍCIOS E MALEFÍCIOS DOS TESTES GENÉTICOS PREDIZENTES

Entre os potenciais benefícios decorrentes dos testes genéticos predizentes indicam-se a libertação da necessidade de testes periódicos, quando indicados, para os não portadores da mutação, a aceitação, de forma esclarecida, dos procedimentos de rastreio, de tratamento, de prevenção médica ou cirúrgica, ou de investigação, a redução da ansiedade, uma melhor adaptação aos acontecimentos futuros, no caso dos portadores, e uma escolha de percursos de vida mais realistas.

Como malefícios referem-se as perturbações psicológicas, o “stress” familiar e a discriminação em bases genéticas.

As perturbações psicológicas podem surgir face a um teste que indique a presença de uma forma patogénica de um gene, levando o indivíduo a ter dificuldade em lidar com a certeza de ser portador do gene de susceptibilidade. A ansiedade, o medo, os sentimentos de culpa (por exemplo em relação à transmissão da susceptibilidade a um descendente) e a depressão são manifestações frequentes, sem esquecer o risco de suicídio. As manifestações podem ser potenciadas pela dificuldade do médico em prever, com a necessária precisão, nas condições sindromáticas presentes numa dada família, o risco para os diferentes órgãos atingidos, a idade de aparecimento e a agressividade da doença.

De forma estranha, e ao contrário do que seria de esperar, um teste negativo para uma mutação associada a uma doença grave, pode induzir a síndrome da “culpa do sobrevivente”.

As repercussões familiares podem-se traduzir ao nível relacional, da constituição de casais e das escolhas reprodutivas. Quando são detectadas mutações em filhos, os pais podem desenvolver sentimentos de culpa, ao

ponto de afectarem gravemente a sua existência. Por outro lado, os pais podem passar a olhar os filhos como “doentes”, ainda que na ausência de quaisquer sinais ou sintomas que apenas em adulto terão probabilidade de ocorrer nos casos de expressão tardia, bem como excesso de protecção, eventual afastamento, ou atitudes que conduzam a diminuição da auto-estima do filho.

Nos casos de expressão tardia, pode ocorrer a exclusão social de toda uma família.

A discriminação genética pode ocorrer quando a informação genética é usada contra indivíduos, se for obrigado a declará-la ou se, eventualmente, não for mantida confidencial. O uso abusivo poderá ocorrer por parte de companhias de seguros, de empregadores pela selecção na admissão, não promoção ou despedimento, ou de entidades bancárias negando empréstimos.

Pelos riscos de discriminação ou de estigmatização, a aplicação de testes genéticos deve ser cuidadosamente ponderada no que respeita aos eventuais falsos positivos quando se recorre a métodos de elevada sensibilidade. Nesta perspectiva, seria menos problemático o recurso a testes com especificidade absoluta, para evitar falsos positivos, ainda que desse modo, pudessem ocorrer falsos negativos.

A utilização da informação genética por parte dos estados poderá conduzir a discriminação dirigida contra grupos sociais ou étnicos (v.g., por restrição à imigração, por redução de direitos ou por aplicação de medidas eugénicas). De uma forma ainda mais gravosa, poder-se-á antever o seu uso como fundamento de políticas de saúde baseadas em novas formas de eugenia.

No sentido oposto, a ausência de disponibilidade dos testes e/ou das condições para a sua execução, em grande parte das sociedades humanas actuais, pode ser encarada como discriminatória, ao negar a estes povos as vantagens concedidas pela realização dos testes genéticos, acentuando assimetrias no acesso aos bens concedidos pelos progressos da ciência.

9.2. TESTES GENÉTICOS EM CRIANÇAS

Nos casos em que a susceptibilidade genética existe e a expressão é tardia, os testes predizentes não devem ser realizados antes dos 18 anos.

A excepção diz respeito aos casos em que a penetrância se verifica na infância ou adolescência e é possível uma intervenção médica para minorar, atrasar ou impedir as consequências clínicas. Se não se verificarem estes pressupostos de excepção, os testes predizentes não devem ser aplicados em crianças.

Com limitações diversas, está recomendada a realização de testes predizentes em crianças, nos casos em risco para a síndrome MEN2A (carcinoma medular da tiróide, devido a mutações do *RET*), para a FAP (mutações do gene *APC*), para o cancro gástrico difuso hereditário e, eventualmente, para a síndrome de Li-Fraumeni (mutações do gene *TP53*). Contudo, não parece vantajosa a realização de testes predizentes em crianças em risco para condições como a ataxiatelangiectasia ou a neurofibromatose tipo I, pelo facto de as manifestações clínicas serem precoces e raramente deixarem dúvidas.

Por vezes, pode ser necessário realizar testes genéticos em crianças ou menores de 18 anos, para esclarecimento de uma situação familiar. Nesses casos, o resultado só deve ser comunicado ao indivíduo testado quando atingir a maioridade e se ele o desejar.

Face ao envolvimento frequente de factores hereditários e de factores ambientais na génese de múltiplas doenças, é previsível a vantagem que resulta da identificação de genótipos predisponentes, de forma a evitar que o par deletério genótipo/ambiente se conjugue. Nestes casos, também estará indicado o estudo genético em criança, sempre que haja evidência de exposição aos factores agressores do genoma, dado que a acumulação de mutações se verifica desde as idades mais jovens.

Entre os possíveis malefícios dos testes genéticos feitos em crianças, incluem-se a anulação do princípio da autonomia, quando adulto, a subversão da confidencialidade, a eventual discriminação em termos de educação, relações interpessoais, constituição de família, emprego e seguros, a perturbação da auto-estima da criança e a perturbação da relação afectiva dos pais com a criança seja no sentido do excesso de protecção seja no sentido da rejeição.

9.3. TESTES GENÉTICOS PRÉ-NATAIS

Os testes genéticos pré-natais apoiam o DPN entendido como o conjunto de procedimentos realizados para determinar se um feto é portador ou não

de uma anomalia congénita. Não devem ser realizados apenas com o objectivo de efectuar um diagnóstico pré-sintomático mais precoce, devendo a sua utilização ser reservada para condições que se associem a doença grave.

Não é aparente a vantagem de realizar DPN para mutações de expressão tardia, na ausência de uma pré-determinação do casal para interromper uma gravidez de risco para esta situação. Para além dos juízos e das razões que determinam ou inibem a interrupção de uma gravidez nestas condições, acresce o facto de os pais ficarem de posse da informação respeitante ao estatuto genético do filho. Em particular, no caso de a mutação patogénica estar presente, aquele conhecimento poderá afectar o equilíbrio do processo educacional e relacional entre os pais e o filho.

A questão *major* associada ao DPN reside no aborto provocado, devido à presença de eventuais anomalias fetais. No entanto, o diagnóstico genético pré-natal também pode servir para desencadear intervenções terapêuticas fetais com respeito pela vida e pela integridade do feto e que busquem a sua cura e o seu bem-estar.

9.4. TESTES GENÉTICOS PRÉ-IMPLANTATÓRIOS

Os testes genéticos pré-implantatários não são considerados uma intervenção destrutiva do embrião, apesar da ligeira redução da capacidade de implantação que acarretam. No entanto, a destruição poderá vir a ocorrer se o casal, na sequência de um resultado que indique a presença de mutação considerada patogénica, vier a decidir não autorizar a transferência do embrião para o útero da mulher. Desta forma, é evitada uma provável interrupção de gravidez durante a fase fetal do desenvolvimento embrionário, após DPN.

Os casais que não se questionam em relação à dignidade do embrião antes da implantação, optam mais facilmente pelo DPI, em comparação com o DPN. Entre as razões mais frequentemente apontadas para a procura de DPI contam-se a objecção à interrupção de uma gravidez por razões morais ou religiosas, o risco associado à condição de portador de uma doença genética hereditária em conjunto com a existência de esterilidade a requerer fecundação *in vitro* para conseguir uma gravidez e a experiência adquirida com a realização prévia de interrupção voluntária de gravidez e o desejo de não repetir esta intervenção.

Sob o ponto de vista ético, dever-se-á atentar na essência do diagnóstico genético pré-implantatório como método de apoio a decisões eugênicas, mesmo quando é usado para evitar doenças hereditárias graves. Nos casos de mutações patogênicas ligadas ao cromossoma X, pode ser usado para determinar o sexo e sustentar a eliminação de embriões do sexo masculino de modo a evitar o nascimento de indivíduos afetados. Contudo, desta forma, metade dos embriões masculinos eliminados nem sequer são portadores da mutação patogênica. A sua utilização para escolha do sexo ou para utilizações sem justificação médica, por simples escolha dos pais, será ainda mais gravosa.

Não é infrequente o argumento de que a única atitude médica e moralmente defensável consiste na eliminação dos embriões portadores de defeitos genéticos, para prevenir o nascimento de pessoas com anomalias graves causadoras de dor e sofrimento que tornariam a sua existência em vidas que não são dignas de serem vividas (que não merecem ser vividas)! Os dados antes expressos sobre a natureza do embrião e as ponderações que decorrem dos princípios éticos poderão suportar a defesa de posições contrárias a esta visão eugênica e atentatória do respeito devido à vida humana. Assim, se há anomalias que são incompatíveis com o desenvolvimento e o parto a termo, ou que permitindo eventualmente o parto não deixam dúvidas sobre a impossibilidade de sobrevivência para além de um curto período de vida pós-natal sujeita a limitações gravíssimas pelas anomalias presentes (v.g., anencefalia, agenesia renal), outras há que, com limitações de grau diverso permitem uma sobrevivência prolongada e com vida de relação interpessoal (v.g., trissomia 21), para já não falar nas alterações genéticas de expressão tardia, em que poderão mediar dezenas de anos entre o nascimento e a manifestação de doença associada à mutação presente no embrião. Ainda que as manifestações pós-natais sejam graves e conducentes a morte, o embrião, o recém-nascido, o jovem ou o adulto não podem ser considerados doentes, por serem portadores de uma mutação genética. Sê-lo-ão, apenas, quando se expressarem os sinais e os sintomas da doença e não perderão, por isso, em dignidade. Será ainda de ter presente que a dignidade humana não pode ser considerada maior ou menor, em função da existência ou não de anomalias genéticas ou somáticas.

Um outro argumento baseia-se no direito do casal à saúde reprodutiva através do rastreio genético em embriões (ou fetos), com a consequente

eliminação dos que evidenciem uma mutação associada a doença genética ou em que haja a suspeita de estar presente uma mutação patogénica. No entanto, estando em causa um embrião e não a prevenção da sua criação, a liberdade para decidir se um embrião deve ou não ser implantado no útero por razões genéticas, nomeadamente para prevenção de doenças de expressão pós-natal, não parece ser uma questão de saúde reprodutiva! Em rigor, não se trata de cuidar da saúde do embrião, mas de seleccionar uns e de eliminar outros.

Com o peso que lhe é dado pela consideração que merecem os direitos humanos, argumentam outros que negar a um casal, por determinação legal ou por política de um país, a decisão pessoal e a escolha reprodutiva no que respeita à interrupção de uma gravidez em bases genéticas é um atentado contra os direitos humanos. Mas sê-lo-á, quando a escolha conduz a interrupção de uma gravidez por uma anomalia genética que permita vida de relação pós-natal, ou quando se verifica expressão tardia, ainda que a doença seja grave? Não será, pelo contrário, um atentado aos direitos humanos e contra a autonomia de um cidadão em potência com dezenas de anos para viver nos casos de expressão tardia?

Em síntese, a ideia subjacente ao DPI é, frequentemente, de utilitarismo relativista desenvolvido em função de pretensos direitos e interesses do embrião (ou do feto, para o DPN), mas o que está em causa é um serviço a prestar ao “bem comum” ou ao bem-estar privado dos pais. Por outro lado, quando a preocupação diz respeito ao facto de a eliminação do embrião ocorrer antes da nidação vs. após a nidação, ou nas fases precoces vs. fases tardias do desenvolvimento fetal, está em causa a construção de uma graduação artificial do valor da vida consoante a fase do desenvolvimento em que esta se encontre, ignorando a dignidade intrínseca do embrião ou do feto. Esta visão poderá levar, por extensão, a aplicar o mesmo raciocínio para o período pós-natal, com a construção de uma escala relativista da valia da vida e da sua dignidade para ser vivida, em função do desvio da “normalidade” e do grau sempre subjectivo do sofrimento que, supostamente, a anomalia genética irá provocar, da capacidade de relação, da produtividade e da “utilidade” ou “inutilidade” de uma vida. No limite, tal relativismo, mais cedo ou mais tarde, sustentará também a eutanásia, de forma a eliminar vidas que não sejam consideradas dignas de serem vividas pelos padrões “objectivos” do “normal”. Em sintonia com o raciocínio an-

terior, aos que, por seu próprio juízo, julguem não cumprir os parâmetros de “dignidade” para viver, restará reconhecerem-se como um peso para a sociedade, ou sentirem o prolongar da sua existência como um “crime” contra essa sociedade. Serão, desse modo, induzidos a perceber que o seu ciclo de vida se esgotou, ainda que pudessem encontrar felicidade num raro momento entre o seu sofrer, ou encontrassem no sofrimento a via para discernir um sentido para a vida. A subjectividade da vida e da felicidade, passaria a ter regras para poder ser vivida. E certamente que, quando o próprio fosse incompetente para o fazer, seriam terceiros a decidir se esta deveria ou não ser vivida, em nome dos poderes instituídos e no entendimento do que seria pretensamente melhor para a pessoa.

CAPÍTULO XXII

GLOSSÁRIO

- ABERRAÇÃO CROMOSSÓMICA:** Qualquer anomalia do número ou da estrutura dos cromossomas, visível por meio de microscopia de luz.
- ABERRAÇÃO CROMOSSÓMICA PRIMÁRIA:** Alteração citogenética detectada repetidamente em todas as células de um clone tumoral e pelo menos uma vez como a única alteração citogenética presente.
- ABERRAÇÃO CROMOSSÓMICA SECUNDÁRIA:** Alteração citogenética detectada repetidamente nas células de um clone tumoral, mas nunca observada como a única alteração citogenética presente nas células do clone.
- ABORTO:** Expulsão espontânea ou provocada do embrião ou do feto. No caso do feto, refere-se à sua expulsão antes de ser viável.
- ACÊNTRICO:** Fragmento cromossômico sem centrômero.
- ÁCIDOS NUCLEICOS:** Moléculas poliméricas constituídas por nucleótidos: ácido desoxirribonucleico e ácido ribonucleico (ver "DNA" e "RNA").
- ACONSELHAMENTO GENÉTICO:** Processo que permite a uma pessoa doente ou aos seus familiares em risco para uma doença, que pode ser hereditária, serem informados sobre as consequências da doença, a probabilidade de a desenvolver ou transmitir e os modos de a prevenir ou melhorar.
- ACROCÊNTRICOS:** Cromossomas cujo centrômero se encontra perto da extremidade, de modo que um dos braços é muito curto (cromossomas 13-15, 21, 22 e Y).
- ADIÇÃO (lei):** A "lei" da adição em cálculo de probabilidade decorre do facto de dois acontecimentos serem mutuamente exclusivos, como acontece com uma gravidez: o embrião ou é do sexo masculino ou é do sexo feminino. A probabilidade de ser do sexo masculino é de 1 em 2 ou seja de 1/2, e há idêntica probabilidade de ser do sexo feminino, ou seja também de 1/2. A probabilidade do descendente ser do sexo masculino ou do sexo feminino é igual a um, o que equivale à soma da probabilidade de ocorrência de cada acontecimento: $(1/2+1/2=1)$.
- ADENINA (abreviatura: A):** constitui uma das quatro bases que integram o DNA.
- ADENOVÍRUS:** Um vírus de DNA, de cadeia dupla.
- AGENESIA:** Ausência ou paragem do desenvolvimento de um órgão ou de uma parte do corpo.
- AGREGAÇÃO FAMILIAR:** Diz-se que há agregação para uma determinada doença quando o risco é maior entre os familiares de um indivíduo com essa doença do que na população controlo, ou há uma história familiar "positiva" — a proporção de casos com um familiar afectado é maior do que a proporção encontrada num grupo controlo adequado.
- ALELO:** Forma alternativa de um gene. Refere-se a um de dois ou mais alelos que podem ocorrer num mesmo *locus* de um par de cromossomas homólogos (um dos alelos é de origem

paterna, o outro de origem materna). Os alelos podem ser diferentes, por exemplo, devido ao polimorfismo de um único nucleótido.

ALFA-FETOPROTEÍNA: Proteína normalmente produzida durante o período fetal do desenvolvimento intra-uterino. A sua concentração no sangue materno, durante uma gravidez, encontra-se aumentada nos defeitos do tubo neural e diminuída nas trissomias 21, 18 e 13. O gene localiza-se em 4q11-q22.

ALOGÉNICO (enxerto): Transplantação de células, tecidos ou órgãos entre membros da mesma espécie, não idênticos geneticamente.

ALU (sequência): Uma das sequências do DNA humano, melhor conhecida, com cerca de 300 pares de bases, moderadamente repetitiva, localizada em zonas intergénicas ou intrónicas do DNA. Ocorre cerca de 600.000 vezes no genoma humano, estatisticamente, uma vez de 5 em 5 kb. É um bom marcador para identificar DNA humano (v.g., em híbridos celulares) Deve o seu nome à enzima de restrição que a cliva (endonuclease Alu I).

AMINOÁCIDOS: Unidades químicas que entram na formação dos polipeptídeos. Existem 20 aminoácidos diferentes. A sua ordem num polipeptídeo é determinada pela sequência dos codões do RNAm.

AMNIOCENTESE: Procedimento para obtenção de líquido amniótico e do seu conteúdo celular por via transabdominal, para DPN. Realiza-se, habitualmente, pela 15ª semana de gravidez. Permite detectar anomalias cromossómicas, defeitos do tubo neural, metabopatias e defeitos moleculares.

AMPLIFICAÇÃO (de DNA): Produção de múltiplas cópias de uma sequência de DNA.

ANAFASE: Estádio da mitose no qual, após clivagem do centrómero, as cromátides-irmãs se separam e migram para os pólos do fuso, por meio das fibras (microtúbulos) do fuso. Na anafase I da meiose, os cromossomas homólogos de cada par, após desaparecimento dos quiasmas, separam-se e migram cada um para um pólo do fuso. A anafase II da meiose é semelhante à da mitose.

ANEUPLOIDIA: Situação em que há um número de cromossomas que não é um múltiplo exacto do número haplóide (v.g., $2n-1$ ou $2n+1$, em que n é o número haplóide de cromossomas).

ANOMALIAS CONGÉNITAS: Alterações estruturais ou funcionais decorrentes de perturbações do desenvolvimento físico (anomalias da morfogénese) presentes ou determinadas no momento do nascimento ou *in utero*, que não sejam originadas por traumatismos durante o parto. Podem não ser diagnosticadas ao nascer, em função da localização e/ou tradução funcional.

ANTECIPAÇÃO: Traduz a tendência evidenciada por algumas doenças para se manifestarem em idade mais jovem e/ou exprimirem um aumento de severidade quando o gene com a mutação passa de pais para filhos, ao longo das gerações, o que poderá ocorrer por aumento do número de sequências repetitivas (v.g., X-frágil, coreia de Huntington, distrofia miotónica).

ANTICODÃO: Tripleto de nucleótidos do RNA de transferência que hibrida com o tripleto complementar (codão) do RNAm.

ANTIONCOGENES (também designados «genes supressores tumorais»): Genes celulares normais, de natureza recessiva, cuja perda ou inactivação de um ou dos dois alelos, pode conduzir ao desenvolvimento de uma neoplasia. Estão implicados na regulação da proliferação, da diferenciação e da senescência celulares. A função das proteínas codificadas pelos antioncogenes contrabalança o estímulo proliferativo das proteínas codificadas pelos protooncogenes.

“ANTISENSE” (“Antisentido”) (cadeia): Cadeia de DNA que, numa região da cadeia dupla, não codifica para a sequência polipeptídica, mas é complementar da sequência de DNA codificadora (cadeia “sense”) e que serve de molde para a síntese do RNAm.

“ANTISENSE” (terapêutica): procedimento terapêutico pelo qual uma sequência oligonucleotídica híbrida com uma molécula de RNAm mutada, de forma a evitar a sua expressão, ao bloquear a tradução em proteína, a nível do ribossoma. As sequências antisentido têm normalmente entre 12 e 50 nucleótidos.

APLASIA: Ausência de um órgão ou tecido por falta de proliferação celular, com origem durante o desenvolvimento intrauterino ou pós-natal.

APOPTOSE: Involução ou morte celular programada que ocorre num tecido ou órgão. Envolve a compactação do citoplasma, uma elevada condensação da cromatina, o “blebbing” da membrana e a clivagem internucleossomal do DNA genómico (formação de corpos apoptóticos) por meio de uma endonuclease. Há genes pró-apoptóticos e genes anti-apoptóticos.

A PRIORI (risco): Indica o cálculo de risco inicial para a ocorrência de uma determinada doença, sem ter em consideração o efeito dos factores modificadores (v.g., diagnóstico genético, idade de aparecimento, penetrância).

ARMS (“amplification refractory mutation system”): Forma de PCR alelo-específica, que utiliza “primers” que permitem discriminar sequências de DNA com uma única base diferente. Assim, é possível caracterizar um polimorfismo dos alelos de um *locus*, mas também uma determinada mutação pontual patogénica.

ASO (sequências alelo-específicas): Sequências de DNA com uma sequência homóloga de partes de alelos específicos, habitualmente com 18 a 20 nucleótidos. Em condições de hibridação bem determinadas e usando dois ASOs que difiram apenas numa base, é possível distinguir fragmentos de DNA que tenham apenas uma base nucleotídica diferente (v.g., heterozigotia para um *locus* devida a uma mutação pontual).

ASSOCIAÇÃO: No âmbito dos defeitos congénitos dismórficos refere-se à ocorrência concomitante, em dois ou mais indivíduos, de um grupo de malformações mais frequentemente do que seria de esperar ao acaso, sem terem a ver com uma determinada anomalia da embriogénese. A associação designa-se, frequentemente, pelo acrónimo constituído pelas primeiras letras das palavras que traduzem as anomalias observadas (v.g., CHARGE: colobomas, heart defects, atresia choanae, mental retardation, growth retardation, ear anomalies).

AUTOCRÍNIA: Produção por uma célula, de uma hormona, factor de crescimento ou outra substância, para a qual a mesma célula exprime os correspondentes receptores.

AUTÓLOGO (enxerto): Transplantação realizada com células ou tecidos do próprio indivíduo.

AUTORADIOGRAFIA: Detecção de moléculas marcadas com um radio-isótopo, por meio de um filme de raios X, após separação electroforética ou cromatográfica.

AUTOSSOMAS: Todos os cromossomas humanos, com a excepção dos cromossomas sexuais. Na espécie humana há 22 pares de autossomas.

AUTOSSÓMICO: Caracter ou doença resultante da expressão fenotípica de gene ou alteração genética com localização num dos autossomas.

AUTOSSOMOPATIA: Doença resultante de uma anomalia cromossómica localizada num dos autossomas.

BAC: (ver “Cromossoma bacteriano artificial”).

BACTERIOFAGOS: Vírus que infectam bactérias, constituídos por um revestimento proteico e DNA ou RNA como material genético. Em biologia molecular são usados como vectores, na clonagem.

BANDEAMENTO CROMOSSÓMICO (“Banding”): Processo técnico que permite observar um padrão determinado de bandas claras e escuras para cada cromossoma. O padrão de bandas depende da técnica usada e do corante (Ex.: GTG — refere-se a bandas G, obtidas por tratamento com tripsina (T), seguido de coloração com Giemsa (G).

Tipos de bandas:

- Bandas C: Bandas produzidas pela coloração da heterocromatina constitutiva.
- Bandas G: Bandas produzidas por vários métodos e coradas com Giemsa.
- Bandas N (ou bandas NOR): Bandas que englobam regiões relacionadas com organizadores nucleolares (“nucleolar organizers”), ou sejam, as “hastes” dos cromossomas acrocéntricos.
- Bandas Q: Bandas fluorescentes obtidas por coloração com quinacrina.
- Bandas R: Bandas que são o inverso das bandas G ou Q.
- Bandas T: Bandas terminais localizadas nos “topos” dos cromossomas.

BARR (Cromatina de): Cromatina sexual constituída por um corpúsculo corado intensamente, encontrada normalmente nas células somáticas femininas (derivado do cromossoma X inactivado).

- BASE (análogo): molécula química com estrutura semelhante a uma das bases que constituem o DNA e que pode ter um efeito mutagénico quando se incorpora na cadeia de DNA em lugar da base, seja por emparelhamento indevido ou por erro de localização (v.g., o bromouracil, um análogo da timina, uma vez incorporado no lugar desta, pode emparelhar com adenina, mas também com guanina após modificação tautomérica, o que origina uma mutação pontual em próxima replicação: G-C em vez de T-A).
- BASES (emparelhamento): Estabelecimento de pontes de hidrogénio entre adenina e timina (AT, duas pontes) e citosina e guanina (CG, três pontes) no DNA e entre adenina e uracilo no RNA quando em dupla cadeia (AU, duas pontes).
- BASES (nucleotídicas): moléculas que entram na constituição dos ácidos nucleicos (no DNA: adenina, timina, citosina, guanina); no RNA, a timina é substituída por uracilo).
- BAYES (teorema): operação que, em relação à ocorrência de determinado acontecimento, como ser portador de uma mutação, permite derivar a indicação de uma probabilidade ou risco posterior mais preciso, a partir de uma probabilidade conjunta obtida por combinação da probabilidade *a priori* com a probabilidade condicional decorrente do efeito dos factores modificadores (ver "*a priori*").
- BIBLIOTECA DE DNA: (ver "Livraria").
- BIOTECNOLOGIA: Metodologias assentes na utilização de organismos vivos em processos industriais.
- BIVALENTES: Figuras observadas durante a primeira divisão da meiose, resultantes da ligação, por meio de quiasmas, das duas cromátides de um cromossoma, altamente condensadas, com as duas cromátides do cromossoma homólogo (ver "Quiasmas"). Estas figuras também se designam por tétradas.
- bp ("base pair"): Par de bases complementares do DNA.
- "CAPPING": (ver "Processamento do RNAm").
- CARCINOGENO: Qualquer agente que provoque alterações numa célula, daí resultando o desenvolvimento de um fenótipo maligno.
- CARGA GENÉTICA: Conjunto de genes encontrados numa população que reduzem, em graus variados, a capacidade de sobrevivência ou de reprodução dos indivíduos em que ocorrem. Em Genética Médica, a carga refere-se ao impacto total de uma alteração ou conjunto de alterações de natureza genética sobre o doente, os membros da sua família e a sociedade.
- CARIÓTIPO: Conjunto de cromossomas de uma célula. Nome também comumente usado para a distribuição padronizada dos cromossomas metafásicos ou pré-metafásicos, tendo em conta as dimensões, a morfologia e o número (ver "Ideograma").
- CÉLULAS MULTIPOTENTES: Células que podem dar origem a diversos tecidos (v.g., células estaminais do adulto).
- CÉLULAS PLURIPOTENTES: Células do embrião que podem dar origem a um organismo completo mas não aos seus anexos (vg. células da massa celular interna).
- CÉLULAS TOTIPOTENTES: Células totalmente indiferenciadas, que podem dar origem a todas as células de um organismo e aos seus anexos embrionários (vg. zigoto, primeiros blastómeros do embrião).
- CENTIMORGAN (cM): Unidade de distância genética entre genes. Dois *loci* estão separados 1 cM se há a probabilidade de 1% de recombinação entre eles durante uma divisão meiótica. Em média, a distância genética de 1 cM é equivalente a uma megabase (1.000 kb).
- CENTRÓMERO: Constrição dos cromossomas dos seres eucariotas, constituída por heterocromatina, pela qual as cromátides estão ligadas e onde se encontra o cinetocoro.
- CHAPERONE: Proteína que participa na dobragem e na localização de outras proteínas. Liga-se a regiões hidrofóbicas que não estão normalmente expostas na proteína madura, quando as proteínas estão a ser produzidas ou parcialmente dobradas.
- CICLINAS: Proteínas envolvidas na regulação do ciclo celular, produzidas em fases específicas do ciclo e que, quando formam complexos com as «cinases dependentes de ciclinas» possibilitam que estas adquiram capacidade fosforilativa sobre determinadas proteínas alvo.
- CICLO CELULAR: Período de tempo relativo a um ciclo de multiplicação celular, que inclui a replicação do DNA e a divisão nuclear e citoplasmática. Estende-se desde o momento em que se

- conclui a mitose de uma célula (progenitora) até se completar a mitose subsequente em uma ou duas das células filhas. Divide-se nas fases G1, S, G2 e M.
- CINETOCORO:** Estrutura proteica que se associa ao centrómero, ao qual se ligam os microtúbulos do fuso.
- CIS:** Indica a localização de dois genes num mesmo cromossoma.
- CISTRÃO:** A mais pequena unidade de material genético que é responsável pela síntese de uma cadeia polipeptídica específica.
- CITOCINESE:** Divisão de uma célula em duas células-filhas.
- CITOGÉNÉTICA:** Ramo da Genética que se dedica principalmente ao estudo microscópico dos cromossomas e da sua relação com o fenótipo.
- CITOSINA** (abreviatura: C): constitui uma das quatro bases que integram o DNA.
- CLONAGEM:** Processo pelo qual se reproduzem moléculas, células ou organismos iguais entre si e a um exemplar único inicial.
- CLONAGEM EMBRIONÁRIA:** Obtenção de embriões geneticamente idênticos, por divisão das células totipotenciais de um embrião.
- CLONAGEM DE DNA** (ou clonagem molecular): Isolamento de um fragmento de DNA, seguido de produção de várias cópias (ver: "Clones"), por multiplicação num vector (plasmídeo, fago, cosmídeo, BAC, YAC) ou por PCR, para permitir a sequenciação ou estudo.
- CLONAGEM FUNCIONAL:** Metodologia de clonagem em que o conhecimento do produto de um gene e da sua função serve de base à clonagem do gene em causa (ver "Gene candidato").
- CLONAGEM POSICIONAL** (ou genética inversa): Clonagem de um gene pela sua posição no cromossoma, antes de se conhecer o produto que codifica, ao contrário do caminho seguido tradicionalmente pelo qual um gene é clonado após a identificação prévia do produto codificado. Em Genética Médica, refere-se à aplicação do mapeamento génico humano para clonar o gene responsável por uma doença e, a partir da sequência, prever a estrutura da proteína responsável pelo fenótipo alterado.
- CLONAGEM REPRODUTIVA** (humana): Obtenção de embriões humanos por clonagem somática ou embrionária e subsequente implantação intra-uterina para se desenvolverem como fetos e originarem novos indivíduos.
- CLONAGEM SOMÁTICA:** obtenção de embriões geneticamente idênticos, por transplantação do núcleo diplóide de uma célula somática de um indivíduo para o citoplasma de um ovócito ou de um ovo previamente enucleado.
- CLONAGEM TERAPÉUTICA:** Obtenção de embriões por clonagem somática ou embrionária, desenvolvidos "in vitro" até à fase de blastocisto (sem implantação intra-uterina). Da massa celular interna dos blastocistos, são colhidas células pluripotentes para fins terapêuticos, eventualmente após a indução específica da diferenciação no tipo de células ou tecidos necessários para o tratamento.
- CLONE CELULAR:** Conjunto de células geneticamente idênticas, com origem, por divisão mitótica, numa única célula-mãe.
- CLONES DE DNA:** Múltiplos fragmentos iguais, obtidos por meio de técnicas de recombinação do DNA.
- CODÃO:** Sequência de três bases consecutivas que no DNA e após a transcrição no RNAm codificam para um aminoácido.
- CODÃO INICIADOR:** É constituído pelo tripleto ATG (AUG no RNAm), que representa sempre o primeiro codão de um RNAm, nos eucariotas. Codifica para metionina.
- CODÃO DE TERMINAÇÃO** (codão "stop"): É representado por um dos três codões UAA, UAG ou UGA do RNAm. Estes codões não especificam para nenhum aminoácido, sendo a sua presença o sinal de terminação da tradução do RNAm.
- CÓDIGO GENÉTICO:** Correspondência entre tripletos de nucleótidos e a sequência de aminoácidos que determinam durante a tradução do RNAm, a nível dos ribossomas.
- CÓDIGO GENÉTICO** (Degenerescência): Traduz a possibilidade de um mesmo aminoácido ser codificado por codões diferentes (v.g., os codões CUU, CUC, CUA e CUG codificam todos para a leucina)

- CODOMINÂNCIA:** Situação em que há expressão individual dos dois alelos de um *locus*, num heterozigoto.
- COEFICIENTE DE CONSANGUINIDADE:** Proporção de alelos idênticos, herdados a partir de um ancestral comum. Designa-se habitualmente por f .
- COEFICIENTE DE ENDOCRUZAMENTO:** Proporção de *loci* para os quais pode ocorrer homozigotia em descendentes de acasalamento entre consanguíneos. Designa-se por F .
- COMPLEMENTAÇÃO (Análise de):** Método genético para testar se duas mutações que produzem um fenótipo semelhante são ou não alélicas. Quando se observa complementação, por exemplo, após hibridações celulares, este resultado indica que a mutação se localiza em genes não alélicos e, por isso, o híbrido obtido não apresenta o fenótipo provocado pelas mutações em causa.
- COMPLEMENTARIDADE (DNA):** Emparelhamento específico da adenina com a timina e da citosina com a guanina na cadeia bicatenar de DNA, por ligação covalente.
- CONCORDÂNCIA (entre gémeos):** Presença do mesmo traço nos dois membros de um par de gémeos.
- CONGÊNITO:** Caracter que está presente (ou determinado) no momento do nascimento. Não é sinónimo de genético (ver "Genético"). Pode ser de origem ambiental ou hereditária.
- CONGLUMERADOS DE GENES ("Gene clusters"):** Grupos de dois ou mais genes, estruturalmente relacionados, em ligação muito próxima. Provavelmente, tiveram origem por duplicação génica (v.g., genes do sistema HLA, genes das globinas).
- CONSANGUÍNEO (Casamento):** Casamento entre pessoas com um ou mais antepassados comuns.
- CONSANGUINIDADE:** Refere-se à situação de parentesco devida a, pelo menos, um tronco comum (até trisavô). Quando existe apenas um tronco comum, designa-se como consanguinidade simples; quando há mais do que um tronco comum, como consanguinidade múltipla. A designação de consanguinidade dupla refere-se a condições em que há dois troncos comuns em igual situação, relativamente aos indivíduos consanguíneos em questão.
- "CONSENSUS" (sequências):** Sequências de DNA relacionadas, embora não iguais. Para cada posição da sequência "consensus" indica-se o nucleótido mais frequentemente encontrado nos diversos estudos moleculares destas sequências. Em comum, podem ligar a mesma proteína reguladora dos genes.
- CONSENTIMENTO:** Acto pelo qual uma pessoa afirma o seu acordo no que respeita à realização de um diagnóstico ou tratamento, ou concorda com a sua inclusão num processo de investigação.
- CONSTITUCIONAL:** Diz-se de uma característica genética que está presente em todas as células nucleadas do organismo.
- "CONTIGS" (de DNA):** Fragmentos contíguos de DNA clonado que possuem sequências de bases em comum nos seus topos. Pela sobreposição das regiões comuns, é possível reconstituir a ordem dos fragmentos e a sequência final de nucleótidos na cadeia de DNA antes da fragmentação.
- CONVERSÃO GÉNICA:** Processo que consiste na substituição de um alelo, num *locus*, por uma cópia de outro alelo presente no mesmo cromossoma, no cromossoma homólogo ou noutra cromossoma. A conversão génica é um mecanismo genético que origina genes com sequência idêntica onde os genes não eram idênticos. Trata-se, por isso, de uma troca unidireccional de material genético.
- CORDOCENTESE:** Procedimento para obter sangue fetal directamente do cordão umbilical, por punção percutâneo, destinado a DPN ou terapêutica fetal
- COSMÍDEO:** Vectores sintéticos para clonagem de genes que replicam como um plasmídeo, e que podem inserir grandes fragmentos de DNA estranho (até 50 kb).
- CpG (ilhas):** Regiões do DNA com uma extensão habitualmente inferior a 1 kb, com elevada densidade de dinucleótidos CpG (bases citosina hipometiladas e bases guanina). Estas sequências dinucleotídicas (5'-CpG-3') encontram-se, com frequência, no topo 5' dos genes, onde são um sinal para a metilação por uma metiltransferase específica da citosina e têm uma função reguladora da expressão génica mediada pelo grau de metilação.

CRESCIMENTO EXPONENCIAL: No âmbito da multiplicação celular, traduz a proliferação clonogénica de todas as células de uma população (1, 2, 4, 8, 16, 32, ...), o que corresponde a dizer que nenhuma célula entre em quiescência (G0).

CRESCIMENTO GOMPERTZIANO: Proliferação clonogénica, traduzida por uma curva Gompertziana, em que o crescimento de uma neoplasia diminui com o tempo, tendendo para um “plateau”.

CROMÁTIDES: As duas cadeias de DNA, ligadas pelo centrómero de um cromossoma, originadas pela replicação do DNA. Na anafase, as duas cromátides separam-se e dão origem a dois cromossomas.

CROMATINA: Conjunto de ácidos nucleicos e proteínas constituintes dos cromossomas.

CROMOSSOMA BACTERIANO ARTIFICIAL: Vector para clonagem de DNA que consiste num recombinante de plasmídeo F, inserido numa bactéria. Comporta fragmentos de DNA com tamanho até 300 kb.

CROMOSSOMA EM ANEL: Cromossoma que resulta da fusão das duas extremidades de um cromossoma, após perda dos segmentos distais.

CROMOSSOMA HUMANO ARTIFICIAL: Cromossoma artificial que funciona como vector capaz de transportar um fragmento de DNA até 10 Mb. Inclui um centrómero e telómeros na sua estrutura, para permitir a integração no núcleo de células humanas e a sua replicação. A elevada capacidade poderá ser usada para a terapia génica, nos casos de genes de grandes dimensões.

CROMOSSOMA MARCADOR: Pequeno cromossoma extra, com estrutura anormal.

CROMOSSOMAS: Estruturas em que se encontram os cerca de dois metros de DNA de um genoma diplóide humano. Além do DNA, são constituídos por múltiplas proteínas histónicas e não histónicas. Nas células interfásicas dispõem-se como estruturas muito finas, abaixo do limiar de resolução da microscopia de luz. Durante a mitose os cromossomas sofrem condensação tornando-se visíveis em microscopia de luz. Os pares de cromátides visíveis durante a mitose resultam da condensação dos cromossomas duplicados durante a fase S do ciclo celular.

CROMOSSOMAS HOMÓLOGOS: Elementos de um par de cromossomas idênticos, que formam sinapse durante a meiose. Um dos cromossomas é herdado do pai e o outro é herdado da mãe.

“CROSSING-OVER” (ver “Entrecruzamento”).

DALTON: Unidade de peso igual ao peso de um ião de hidrogénio.

DALTONISMO: Diz respeito à cegueira para as cores. Os indivíduos não têm a percepção das três cores primárias — o vermelho, o verde e a azul. Podem ser monocromáticos se vêem apenas uma das cores ou dicromáticos se vêem duas cores, em oposição aos indivíduos tricromáticos nos quais há visão completa para as três cores. Na deficiência para uma das cores pode ocorrer deuteranopia ou protanopia, ambas ligadas ao cromossoma X.

DEFORMAÇÃO: Conformação ou posição anormal de uma parte do organismo, causada por forças mecânicas. Podem ser intrínsecas do feto (v.g., pé equino por miopatia) ou extrínsecas a ele (v.g., pé equino por oligoâmnios), e podem aparecer no período pré-natal ou na vida extra-uterina.

DELEÇÃO: Tipo de aberração cromossómica em que há perda de parte de um cromossoma (um braço ou uma parte intersticial ou terminal de um braço cromossómico). A nível molecular, significa a perda de um ou mais nucleótidos no DNA.

DEONTOLOGIA: Conjunto de deveres específicos e de normas de comportamento próprios do exercício de uma determinada actividade profissional, que se fundam nos usos e nas tradições da respectiva profissão.

DERIVA GENÉTICA: Fixação de alelos numa população isolada, de tal modo que alelos que ocorrem normalmente na espécie humana, numa população extensa, não fazem parte do “fundo génico” da população em causa.

DERMATOGLIFOS: Padrões ou tipos de distribuição das pregas ou sulcos das palmas e dedos das mãos e das plantas e dedos dos pés.

DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO: Ocorrência em associação, com uma frequência diferente da que seria de esperar (para mais ou para menos) se houvesse uma combinação meiótica ao acaso, de alelos localizados em *loci* diferentes (ver “Ligação” e “Equilíbrio de ligação”).

DESNATURAÇÃO: Separação das cadeias complementares de DNA e/ou RNA por acção de soluções básicas ou por elevação da temperatura.

DEUTERANOPIA: incapacidade de detectar a cor verde devido a deficiência das proteínas absorventes de luz (opsinas), em parte dos cones da retina. Estes indivíduos são dicromáticos, já que têm percepção para o azul e o vermelho.

DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ-IMPLANTATÓRIO: conjunto de procedimentos destinados a realizar estudos genéticos (cromossómicos ou génicos) em glóbulos polares colhidos do zigoto, ou em um ou dois blastómeros colhidos do embrião de 6 a 8 células. O embrião é obtido por fecundação "in vitro", estando indicada a injeção intracitoplasmática do espermatozóide.

DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL: conjunto de procedimentos que são realizados para determinar se um embrião ou feto é portador ou não de uma anomalia congénita.

DIANDRIA: condição em que o complemento de 46 cromossomas tem origem exclusivamente no progenitor do sexo masculino.

DICÊNTRICO: Cromossoma anormal, com dois centrómeros. Constitui uma estrutura típica subsequente a exposição a radiações ionizantes.

DICTIÓTENÓ (estadio): Estadio tardio da profase I que se verifica na ovogénese e corresponde à suspensão da meiose dos ovócitos primários até que os indivíduos do sexo feminino atinjam a maturidade sexual. Após a menarca, os folículos ovários maduros recrutados em cada ciclo libertam os ovócitos primários do dictióteno quando ocorre a ovulação.

DIGINIA: condição em que o complemento de 46 cromossomas tem origem exclusivamente no progenitor do sexo feminino.

DIPLOIDIA: Número normal de cromossomas nas células somáticas (2n), o que corresponde a duas cópias de cada cromossoma. Na espécie humana, $2n=23$ pares de cromossomas ou seja, 46 cromossomas (ver "Haplóide").

DISMORFOLOGIA: Parte da ciência médica que estuda o desenvolvimento físico anormal (anomalias da morfogénese).

DISCORDÂNCIA (entre gémeos): No âmbito da Genética, indica a presença de um traço apenas num dos membros de um par de gémeos.

DISPLASIA: Defeito primário que envolve uma organização anormal das células nos tecidos, ou dos tecidos numa determinada estrutura.

DISRUPÇÃO: No âmbito dos defeitos congénitos dismórficos, a disrupção é um defeito morfológico ou estrutural de um órgão, parte de um órgão ou de uma região importante do organismo, resultante de uma influência externa ou de uma interferência num processo de desenvolvimento que originalmente (intrinsecamente) era normal (v.g., focomelia por ingestão de talidomida no período embrionário, anoftalmia por irradiação). Não é hereditária, embora factores hereditários possam predispor para o seu desenvolvimento.

DISSOMIA (Uniparental): Os dois homólogos de um par cromossómico são herdados de um dos pais, com ausência do homólogo correspondente que deveria ser herdado do outro progenitor.

DISTROFIA: Processo e consequências de afecções hereditárias progressivas de células específicas num ou mais tecidos, que têm inicialmente uma função normal.

DIVISÃO EQUATORIAL: Segunda divisão da meiose, em que se separam as cromátides no complemento cromossómico haplóide.

DIVISÃO REDUCIONAL: Primeira divisão da meiose, em que o número de cromossomas se torna haplóide (separação dos cromossomas homólogos).

DIZIGÓTICOS (Gémeos): Resultam da fecundação simultânea de dois óvulos, cada um por um espermatozóide, havendo apenas isocronia. As semelhanças são idênticas às observadas entre irmãos com diferentes idades.

DNA: Ácido desoxirribonucleico. Estrutura bicatenar, formada por duas cadeias constituídas pelos desoxirribonucleótidos de adenina (A), timina (T), citosina (C) e guanina (G), enroladas em hélice e de modo que em frente a uma timina fica na cadeia complementar uma adenina e em frente a uma citosina fica na cadeia complementar uma guanina. Entre as duas cadeias, os nucleótidos estão ligados por pontes de hidrogénio (duas entre A e T e três entre C e G). Ao longo de cada cadeia os nucleótidos estão unidos por ligações diester de fosfato. A sequência de nucleótidos na cadeia de DNA representa a informação genética.

DNA-B: Estado conformacional do DNA hidratado, enrolado em dupla hélice para a direita, conforme descrito por Watson e Crick.

cDNA (DNA complementar): Sequência de DNA unicatenar, obtida a partir de RNAm, por meio da enzima transcriptase inversa. O cDNA permite estudar a sequência do RNAm (que é produzido pela célula após o "splicing").

DNA SATÉLITE: Regiões de DNA constituídas por pequenas sequências repetidas milhares de vezes, de localização maioritariamente pericentromérica. Deve o seu nome ao facto de formar pequenas bandas separadas por centrifugação em gradiente de densidade.

DNA-Z: Estado conformacional do DNA, com enrolamento para a esquerda, encontrado em condições fisiológicas em fragmentos curtos de sequências CpG (citosina guanina), com as bases citosina metiladas.

DOENÇA GENÉTICA: Condição provocada por alterações de um ou mais genes ou do número ou da estrutura dos cromossomas e que conduzem à expressão de sinais e sintomas de doença no seu todo ou em parte. As alterações podem ser herdadas (ver: "Constitucional"), ou adquiridas (presentes apenas em algumas células do organismo, por terem ocorrido após a formação do ovo ou zigoto).

DOMINANTE: Refere-se a um carácter que se exprime quando há heterozigotia para o gene que o determina. A expressão ocorre na presença de uma cópia normal do alelo.

DOMINANTE NEGATIVO: Condição em que a proteína codificada por um alelo mutado não dominante, vai inactivar em parte a proteína codificada pelo alelo normal do mesmo *locus*. Tal facto verifica-se quando os produtos génicos se organizam em oligómeros para produzirem moléculas funcionais. Nestes casos, a percentagem de moléculas funcionais é muito menor do que a percentagem de 50%:50% que à partida se observa para o monómero proteico normal e para o monómero proteico mutado.

DOMÍNIO: Unidade estrutural ou funcional de uma proteína.

DOSAGEM GÉNICA: Número de alelos para um genótipo particular, o que depende do grau de ploidia.

"DROPOUT" ALÉLICO: fenómeno que se traduz na ausência de amplificação de um dos alelos de um *locus* durante a PCR. A falta de amplificação de um dos alelos, embora presente, pode conduzir a erro de diagnóstico na ausência de controlos, uma vez que um genótipo heterozigótico aparece como homozigótico.

ECOGENÉTICA: Diz respeito ao estudo da interacção entre os genes e o meio ambiente, em particular à genética da susceptibilidade a moléculas patogénicas e a xenobióticos.

EFEITO FUNDADOR: Designação que traduz a ocorrência mais frequente (em comparação com a população geral) de determinadas alterações genéticas em populações particulares descendentes de um número relativamente restrito de ancestrais, dos quais um ou uns poucos teriam as alterações em causa.

ELECTROFORESE: Técnica que permite a separação de moléculas (v.g., fragmentos de DNA, RNA, proteínas) por meio de corrente eléctrica, de acordo com a carga, tamanho e/ou forma, variáveis que determinam a velocidade a que a molécula se move no meio de suporte (v.g., gel de agarose ou de poliacrilamida).

ELECTROFORESE (de campo pulsátil, "pulsed field gel electrophoresis"): Variante de electroforese em gel que permite separar fragmentos de DNA extensos (até 2.000 kb), por alteração do ângulo segundo o qual o campo eléctrico é aplicado.

ELECTROFORESE (de gradiente desnaturante, "denaturing gradient gel electrophoresis"): Variante de electroforese em gel com um gradiente desnaturante (v.g., temperatura), que permite detectar mutações do DNA.

EMBRIÃO: Designação do produto de concepção que, na espécie humana, se estende até à oitava semana do desenvolvimento intra-uterino.

ENDOGAMIA: Acasalamento entre indivíduos com grau de parentesco próximo (ver "Consanguinidade").

ENDONUCLEASES (ou "enzimas de restrição"): Enzimas que fragmentam o DNA através da hidrólise das ligações internas de diéster de fosfato. As endonucleases de restrição cortam o DNA

bicatenar em locais específicos. A especificidade é dada pela sequência de nucleótidos que a enzima reconhece, ocorrendo corte do DNA sempre que a encontra. O número de fragmentos de DNA e o seu tamanho dependem da extensão da sequência de reconhecimento. Quanto maior a sequência específica (habitualmente entre 4 e 8 nucleótidos), menor o número de fragmentos de DNA obtidos e maior a sua extensão, dada a menor probabilidade de se repetir ao longo da cadeia de DNA. Fazem parte do sistema de protecção das bactérias contra a invasão da célula por DNA estranho. A sua designação deriva do nome da bactéria de que foi isolada (v.g., EcoRI, de *E. coli*).

ENDOREDUPLICAÇÃO: Os cromossomas mantêm-se em metafase e ocorre um novo ciclo de replicação de DNA, aparecendo, por isso, 92 cromossomas em metafase.

ENGENHARIA GENÉTICA: Procedimentos experimentais baseados em técnicas de recombinação genética para manipular um gene ou genes, ou para produzir novas combinações de genes, de forma a modificar as características de um organismo.

ENTRECRUZAMENTO ("crossing-over): Troca de material genético, entre cromossomas homólogos, durante a profase I da meiose. Pode também ocorrer durante a mitose, embora em muito baixa frequência (ver "Quiasmas").

ENTRECRUZAMENTO ASSIMÉTRICO ("assimetric crossing-over"): Não são trocados segmentos iguais entre os cromossomas homólogos. Tem como resultado a perda de material cromossómico num dos cromossomas homólogos e o ganho de material pelo outro cromossoma homólogo.

ENZIMAS DE RESTRIÇÃO (ver "Endonucleases").

EPIDEMIOLOGIA: Estudo da distribuição das doenças, das suas causas e dos factores modificadores.

EPIGENÉTICO (Efeito): Refere-se a alterações num fenótipo que não resultam de uma modificação na sequência de DNA do genoma da célula. Podem, contudo, ser estáveis e hereditárias e serem provocadas por alterações a nível do grau de metilação do DNA, da activação da transcrição, do controlo da tradução ou de modificações pós-tradução.

EPISTASIA: Modulação da expressão de um gene por acção de outro gene localizado num *locus* diferente.

EQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO: Condição em que a frequência de associação resultante da combinação meiótica entre alelos de diferentes *loci* é a esperada, como resultado do produto da frequência de cada alelo para o seu próprio *locus* (ver "Ligação" e "Desequilíbrio de ligação").

ESPORÁDICO: Refere-se a um traço que aparece num único indivíduo, entre os descendentes de um tronco comum de uma família, que não tem base genética, pelo que não é transmitido à descendência.

ESTs ("Expressed sequence tags", marcadores de genes expressos): São sequências curtas de cDNA com algumas centenas de pares de bases, obtidas a partir de fragmentos de RNA mensageiro correspondentes a genes expressos. O seu número é superior ao número de genes. Correspondem a genes expressos em determinados tecidos. Têm sido usados para localizar genes.

ÉTICA: Área do saber que investiga sobre o que é bem no agir do homem na busca do comportamento que conduza à plena realização da pessoa, no âmbito de uma solidariedade com os outros que seja globalmente justa.

464

EUCARIOTA: Qualquer célula ou organismo em que o núcleo está envolvido por membrana nuclear (os fungos, as plantas e os animais são eucariotas).

EUCROMATINA: Regiões da cromatina que, no bandeamento cromossómico, aparecem pouco coradas e que correspondem a regiões ricas em genes.

EUFENIA: Utilização de medidas de índole ambiental, como sejam substâncias químicas ou factores de crescimento, para melhorar a eficiência de um órgão (v.g., do sistema nervoso central).

EUGENIA: Utilização de medidas de índole genética destinadas a melhorar ou aumentar, em futuras gerações, as qualidades hereditárias de uma população inteira.

EUPLOIDIA: condição em que uma célula apresenta o número normal de cromossomas para a espécie (n=46, na espécie humana).

EXÕES: Regiões de um gene que são transcritas e que são usadas para a célula produzir RNAm, por "splicing" do RNAhn.

EXONUCLEASES: Enzimas que removem os nucleótidos, sequencialmente, a partir das extremidades de uma molécula de um ácido nucleico. Hidrolizam as ligações diéster de fosfato dos nucleótidos terminais.

EXPRESSION GÉNICA: Diz respeito aos acontecimentos que conduzem à manifestação funcional de um gene, desde a quantidade de cópias e a disponibilidade para serem transcritas, à transcrição, à tradução a nível citoplasmático, à eventual modificação da molécula proteica após a tradução e mesmo à associação de moléculas entre si ou de moléculas proteicas com outro tipo de moléculas para se constituir uma molécula funcional.

EXPRESSIVIDADE: Traduz diferenças quantitativas na expressão de um gene, podendo a expressão do carácter variar de pouco acentuada a grave (grau de expressão a nível individual). A forma fruste consiste na expressão muito discreta de uma anomalia, doença ou síndrome, sendo, por isso, difícil de distinguir na linha normal da variação.

FAGO: Vírus que infecta e replica em bactérias (ver "Bacteriófago").

FAMILIAR: Qualquer condição (traço) que é mais comum em parentes de um indivíduo afectado do que na população geral. Pode não ser de natureza genética.

FAMILIAR (doença): Na doença familiar, o padrão de hereditariedade é facilmente identificado, mas a ligação a um gene específico ou a um *locus* cromossómico não foi estabelecido.

FAMÍLIAS de GENES ("Gene families"): Grupos de genes que apresentam homologia das suas sequências e que, presumivelmente, tiveram origem num gene ancestral comum. A maioria das famílias de genes está dispersa por diversos cromossomas, embora algumas se apresentem em conglomerados num mesmo cromossoma (ver "Conglomerados de genes").

FARMACOGENÉTICA: Ciência que estuda as variações entre indivíduos, controladas geneticamente, no que diz respeito à absorção, distribuição, biotransformação e eliminação de fármacos e alimentos, bem como à resposta do organismo aos fármacos.

FASE: Indica a distribuição cromossómica dos alelos de dois *loci* em ligação, (em conjugação, "coupling", quando estão no mesmo cromossoma; em repulsão, quando se encontram em cromossomas diferentes, distribuídos por cada um dos cromossomas do par de homólogos do progenitor de que foram herdados). Quando se conhece a fase, é possível saber, sem ambiguidade, se houve ou não recombinação meiótica.

FENOCÓPIA: Fenótipo devido à acção de factores ambientais, que mimetiza um carácter determinado geneticamente.

FENÓTIPO: Características físicas, bioquímicas e/ou fisiológicas observadas num indivíduo ou numa célula, resultantes da interacção do meio ambiente com um gene ou genes.

FETO: Designação do produto de concepção que, na espécie humana, abrange o período compreendido entre a oitava semana do desenvolvimento intra-uterino e o momento do nascimento.

FETOSCOPIA: Método de observação directa do feto *in utero*, por meio de endoscópio flexível introduzido através da parede abdominal. É utilizada para fazer DPN ou para tratamento do feto.

"FINGERPRINT" (Genético): Padrão de fragmentos de restrição do DNA, detectado por uma sonda que reconhece muitos *loci* altamente polimórficos, e que é único para cada indivíduo.

FISH (ver "Hibridação in situ").

"FITNESS" (aptidão): Traduz a aptidão de um indivíduo para sobreviver e se reproduzir. Pode ser explicitada pela razão entre o número de indivíduos com determinado genótipo numa população e o número de indivíduos esperado pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg.

FLANQUEADORAS (Regiões): Sequências de DNA, localizadas a montante (5'; "upstream") do local de início da transcrição e a jusante (3'; "downstream") do sinal terminador da transcrição.

FLUXO GENÉTICO: Conjunto de caracteres hereditários específico de uma população, transmissíveis no todo ou em parte, que podem evoluir no espaço e no tempo, em função das migrações ou da miscigenação populacional.

FRATRIA: Conjunto de irmãos e irmãs descendentes de um casal.

- FREQUÊNCIA:** Termo sem especificidade científica que é usado, correntemente, como sinónimo de incidência, quando se calcula o número de vezes que um gene se repete numa população.
- FUNDO GÉNICO ("Gene Pool"):** Conjunto de alelos disponíveis em todos os membros de uma população com capacidade reprodutiva, a partir do qual se constitui o conteúdo em genes dos gâmetas.
- GÂMETAS:** Células reprodutivas maduras (ovócitos e espermatozóides), com um número haplóide de cromossomas, com capacidade para originarem um ovo ou zigoto, por fecundação de um ovócito por um espermatozóide.
- GÉMEOS:** Irmãos que se desenvolvem simultaneamente durante uma gravidez.
- GÉMEOS DIZIGÓTICOS:** Irmãos que se desenvolvem simultaneamente numa mesma gravidez, a partir de dois ovos independentes. Podem ser do mesmo sexo ou de sexo diferente. Têm 50% de identidade genética entre si.
- GÉMEOS MONOZIGÓTICOS (ou gémeos verdadeiros):** Irmãos que se desenvolvem a partir de um único ovo inicial. À partida têm 100% de identidade genética. Em consequência do momento do desenvolvimento embrionário, mais precoce ou mais tardio, em que se dá a separação das células e a formação dos dois embriões, os gémeos monozigóticos podem ser dicoriónicos, monocoriónicos diamnióticos, monocoriónicos monoamnióticos ou siameses.
- GÉMEOS MONOZIGÓTICOS DICORIÓNICOS:** Cada gémeo tem a sua placenta e o seu saco coriónico. A separação celular é muito precoce.
- GÉMEOS MONOZIGÓTICOS MONOCORIÓNICOS E DIAMNIÓTICOS:** gémeos com uma placenta e um saco coriónico comuns, mas cada um com o seu saco amniótico. Têm origem na divisão das células da massa celular interna, na fase de blastocisto e são os mais frequentes.
- GÉMEOS MONOZIGÓTICOS MONOCORIÓNICOS E MONOAMNIÓTICOS:** Gémeos que partilham uma placenta e um saco amniótico comuns. A divisão das células ocorre após a primeira semana de desenvolvimento embrionário.
- GÉMEOS SIAMESES:** Gémeos monozigóticos que se encontram ligados por partes do corpo. Partilham a placenta e um mesmo saco coriónico e amniótico. Resultam de uma divisão do embrião para além das duas semanas de desenvolvimento. Quanto mais tardia for a divisão, maior a extensão das partes do corpo ligadas entre si, podendo chegar à partilha comum de órgãos.
- GENE:** Unidade de hereditariedade. Sequência da cadeia nucleotídica de DNA capaz de transmitir informação genética e de expressar essa informação por codificação de uma cadeia polipeptídica (um gene pode codificar cadeias polipeptídicas diferentes, v.g., quando ocorre "splicing" alternativo) (ver "splicing").
- GENE CANDIDATO:** Indica o gene que se considera estar associado a determinado carácter ou doença, no decorrer de estudos moleculares, face à proteína que codifica ou às suas características conhecidas.
- GENES CONSTITUTIVOS ("housekeeping genes"):** Genes que são, teoricamente, expressos em todas as células, uma vez que codificam proteínas implicadas em funções básicas necessárias para a sobrevivência de todos os tipos celulares (v.g., G6PD, genes envolvidos na divisão celular). Não diferenciam as células umas das outras. A sua expressão não depende de factores de regulação.
- GENE DE FUSÃO:** Gene resultante da combinação de dois genes ou de partes de dois genes.
- GENES HOMEÓTICOS:** Genes filogeneticamente conservados implicados na regulação do desenvolvimento embrionário, que apresentam em comum uma sequência de DNA de cerca de 60 pares de bases, designada por "homeobox". Quando mutados poderão estar na origem de malformações.
- GENES INDUZÍVEIS:** Genes cuja intensidade de expressão é influenciada por factores reguladores externos à célula.
- GENE MODIFICADOR:** Gene que influencia a expressão de outro gene.
- GENÉTICA:** Ciência que estuda as leis da hereditariedade.
- GENÉTICA HUMANA:** Ramo da Genética que estuda as variações genéticas da espécie humana.
- GENÉTICA DE POPULAÇÕES:** Ramo da Genética que estuda a frequência com que ocorrem os genes normais ou anormais numa população, estabelecendo as diferenças quantitativas da sua

frequência. Trata-se assim de uma área da Genética dedicada ao estudo da variabilidade hereditária e das formas como é influenciada ao longo das gerações e em função dos factores ambientais.

GENÉTICA MÉDICA: Ramo da Genética que estuda os mecanismos da transmissão hereditária e da expressão génica aplicados à patologia humana.

GENÉTICA MOLECULAR: Estudo da estrutura, da forma de expressão e da função dos genes, a nível molecular.

GENÉTICO: Diz respeito a uma situação ou traço que depende da expressão de um gene ou genes para se manifestar. Pode ser ou não hereditário.

GENOCÍDIO: Eliminação de todos os elementos de um grupo étnico ou de uma raça.

GENOMA: Todo o componente genético de um vírus ou de um procarionta ou, nos seres eucariotas, o componente genético haplóide ou diplóide.

GENÓTIPO: Constituição génica de um indivíduo no que diz respeito aos alelos de um *locus*.

GERMINAL (Linha): Diz respeito às células que, nas gónadas do respectivo sexo, dão origem aos gametas masculinos (espermatozóides) ou femininos (ovócitos).

GONOSSOMAS: Os dois cromossomas sexuais X e Y.

GRELHA de LEITURA ("Reading frame"): Uma das três possibilidades de leitura de uma sequência de nucleótidos, como uma série de tripletos (código genético). A grelha de leitura estabelece se um nucleótido do RNAm fica como primeiro, segundo ou terceiro nucleótido de um codão. A grelha de leitura é determinada pelo codão iniciador (AUG) e define, assim, os conjuntos de três nucleótidos que são lidos como codões.

GUANINA (abreviatura: G): constitui uma das quatro bases que integram o DNA.

HAPLOIDIA: Situação em que uma célula contém metade do número de cromossomas característico da espécie. O número normal de cromossomas nos gametas humanos é haplóide ($n=23$), correspondente a uma única cópia de cada cromossoma.

HAPLOINSUFICIÊNCIA: Situação em que os 50% de proteína codificada e produzida por um indivíduo heterozigótico para um determinado *locus* não são suficientes para manter a função em níveis normais.

HAPLÓTIPO: Conjunto de alelos em ligação muito próxima, habitualmente herdados em conjunto, como uma unidade, presentes em diferentes *loci* de um cromossoma (v.g., complexo HLA).

HARDY-WEINBERG (equilíbrio de): Estabelece que a proporção relativa dos diferentes genótipos não se altera de uma geração para a outra, dentro de determinados princípios. Permite caracterizar as relações de equilíbrio entre as frequências alélicas e as frequências genotípicas numa população.

HEMIZIGOTIA: Presença de um único alelo no genoma, condição que se verifica, normalmente, para a grande maioria dos *loci* do cromossoma X, nos indivíduos do sexo masculino. Corresponde também a condições anormais (v.g., após deleção) em que, em vez de um genótipo diplóide, se encontra uma única cópia de um alelo.

HEREDITÁRIO: Refere-se a traço ou carácter que se transmite geneticamente dos progenitores à descendência.

HEREDITARIEDADE CITOPASMÁTICA (Hereditariedade materna): Transmissão de um traço exclusivamente através dos familiares do sexo feminino.

HEREDITABILIDADE: proporção do efeito fenotípico devido à expressão dos genes envolvidos. Resulta do efeito aditivo da expressão dos genes envolvidos mais o efeito interactivo (epistasia).

HEREDOGRAMA: Representação esquemática de um conjunto de indivíduos com ligações de parentesco entre si e com ponto de partida num *propositus*. Sinónimo de árvore genealógica ("pedigree").

HERMAFRODITA: Indivíduo que possui tecido gonádico masculino e tecido gonádico feminino.

HETEROCROMATINA: Parte da cromatina que cora intensamente com o bandeamento C ou NOR, composta por sequências repetitivas de DNA e que se mantém condensada durante a interfase. Corresponde a regiões pobres em genes e replica muito tardiamente na fase S do ciclo celular.

HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA: Encontra-se junto dos centrómeros de todos os cromossomas, no braço longo do cromossoma Y e nos satélites dos cromossomas acrocêntricos. Corresponde ao DNA satélite.

HETEROCROMATINA FACULTATIVA: Corresponde a eucromatina, em condição inactiva para a transcrição (v.g., cromossoma X sujeito a lionização).

HETEROCROMOSSOMAS: Cromossomas X e Y.

HETEROCROMOSSOMOPATIA: Doença resultante de uma anomalia cromossómica localizada num dos heterocromossomas.

HETERODUPLEX (DNA): Extensão de DNA bicatenar em que não há complementaridade integral entre as sequências das duas cadeias.

HETEROGENEIDADE ALÉLICA: Condição em que um fenótipo (ou fenótipos muito semelhantes) são determinados, de um modo independente, por alelos diferentes localizados no mesmo *locus*.

HETEROGENEIDADE GENÉTICA: Condição em que um fenótipo (ou fenótipos muito semelhantes) são determinados, de um modo independente, por alelos localizados em *loci* diferentes.

HETERÓLOGO (enxerto): Transplantação de células, tecidos ou órgãos entre espécies diferentes.

HETEROMORFISMOS: Polimorfismos estruturais hereditários observáveis nos cromossomas devido a variações da quantidade de heterocromatina constitutiva.

HETEROPLASMIA: Traduz a presença de mais do que um tipo de DNA mitocondrial numa célula (v.g., DNA mutado e DNA normal).

HETEROZIGOTIA: Condição em que ocorrem dois alelos diferentes num determinado *locus* de um par de cromossomas homólogos.

HETEROZIGOTO COMPOSTO: Genótipo em que estão presentes dois alelos mutantes diferentes, no mesmo *locus* de cromossomas homólogos (v.g., um indivíduo com um alelo para a hemoglobina S e um alelo para a hemoglobina C, o que origina hemoglobina SC).

HIBRIDAÇÃO: Ligação de sequências unicatenares de ácidos nucleicos (DNA ou RNA) através da complementaridade de bases, que dá origem a uma molécula bicatenar (de dupla cadeia), que pode ser um híbrido de DNA/DNA, DNA/RNA ou RNA/RNA.

HIBRIDAÇÃO CELULAR: Fusão de duas ou mais células diferentes, acompanhada de fusão dos respectivos núcleos, com formação de um núcleo único.

HIBRIDAÇÃO "IN SITU": Método pelo qual uma sonda marcada, de DNA ou de RNA, detecta uma sequência nucleotídica por ligação complementar, em cortes de tecidos ou em esfregaços de células ou cromossomas. Quando a sonda é marcada com um fluorocromo, o procedimento designa-se FISH ("fluorescent in situ hybridization").

HIPERDIPLOIDIA: Encontram-se cromossomas adicionais em número não-múltiplo de n. O número modal será 47 ou maior (ver "Aneuploidia").

HIPERTELORISMO: Aumento da distância intercantal interna e interpupilar.

HIPODIPLOIDIA: Número de cromossomas menor que 2n, sem ser n. O número modal será 45 ou menor (ver "Aneuploidia").

HIPOPLASIA: Redução do volume de um órgão ou da quantidade de um tecido, devido a insuficiência da proliferação celular.

HIPOTELORISMO: Redução da distância intercantal interna e interpupilar.

HISTONAS: Proteínas associadas ao DNA nos cromossomas, ricas em aminoácidos básicos (lisina ou arginina), que constituem uma parte importante das nucleoproteínas dos seres eucariotas.

HLA ("human leukocyte antigen"): Sistema de histocompatibilidade determinado por um complexo de *loci* localizados no cromossoma 6, em que os antigénios se encontram na superfície de todas as células, com excepção dos glóbulos vermelhos. Está envolvido nas respostas imunológicas normais e aparece ligado à rejeição de enxertos quando não há compatibilidade entre o dador e o receptor.

HOLÂNDRICO: Caracter hereditário que ocorre apenas nos elementos do sexo masculino de uma família. É devido à presença de um gene no cromossoma Y.

"HOMEBOX": (ver "Genes homeóticos").

HOMÓLOGOS: (ver "Cromossomas homólogos").

HOMÓLOGOS (genes): Genes cujas sequências partilham frequentemente (embora nem sempre) significativas semelhanças e que representam versões actuais de um gene antigo que, em determinado momento, sofreu duplicação.

HOMOPLASMA: Traduz identidade de todas as cópias do DNA mitocondrial numa célula.

HOMOZIGOTIA: Condição em que ocorrem dois alelos idênticos num determinado *locus* de um par de cromossomas homólogos.

“HOTSPOT”: Local de um gene em que ocorrem mutações com elevada frequência.

“HOUSEKEEPING GENES” (ver “Genes constitutivos”).

HUGO (“Human genome organization”): Organização criada em 1988 para coordenar a investigação internacional no âmbito do genoma humano.

IDEOGRAMA: Disposição ordenada dos cromossomas, por grupos, a partir da microfotografia do cariótipo.

IDENTIDADE GÉNICA: Define a probabilidade de dois alelos, escolhidos ao acaso, serem idênticos por terem sido herdados de um ancestral comum.

“IMPRINTING” GENÓMICO: Um dos genes do par de alelos de um *locus* tem expressão diferente do outro gene desse *locus*, em função do sexo do progenitor de que foi herdado (origem paterna ou materna). Como consequência, o contributo paterno e materno para o genoma do zigoto (em termos funcionais) pode não ser equivalente, provavelmente devido a graus de metilação diferentes.

INCESTO: Acasalamento entre indivíduos que sejam familiares em primeiro grau (entre progenitores e descendentes e entre os membros de uma fratria).

INCIDÊNCIA: Número de casos novos que ocorrem durante um determinado período de tempo. A taxa de incidência refere-se ao número de casos que ocorrem num determinado período de tempo, numa determinada população (com especificação do número de elementos do universo considerado) (Ex.: número de casos/ano/milhar de pessoas).

INDEPENDÊNCIA: Em análise estatística, traduz a ausência de efeito entre a ocorrência de um acontecimento e a probabilidade de ocorrência de outro acontecimento (v.g., o facto de, numa primeira gravidez, o embrião ser do sexo masculino, não afecta a probabilidade de, numa segunda gravidez, o embrião ser do mesmo sexo ou do sexo oposto).

ÍNDICE MITÓTICO: Fração de uma população celular que está em divisão num determinado momento.

INICIAÇÃO ALEATÓRIA (Random priming): Utilização de pequenas sequências de seis pares de bases nucleotídicas ao acaso, como iniciadoras da replicação de DNA, para obter sequências altamente específicas de DNA marcado (ver “Nick translation”).

INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DO ESPERMATOZÓIDE (ICSI): Técnica “in vitro” de reprodução medicamente assistida, habitualmente oferecida a homens que produzem espermatozóides imóveis ou em muito pequena quantidade. A fecundação é obtida por injeção de um único espermatozóide no citoplasma de um ovócito.

INTENSIFICADORES (“Enhancers”): Sequências reguladoras da expressão do DNA, com localização *cis*, que podem promover um aumento significativo de transcrição de um gene, independentemente da sua posição ou orientação relativamente ao gene, por ligação de factores de transcrição específicos.

INTERFASE: Período do ciclo celular, metabolicamente activo, localizado entre duas mitoses. Tendo como referência a replicação dos cromossomas, a interfase divide-se nas fases G1, S e G2.

INTERGÉNICO (DNA): Sequências de DNA, localizadas entre os genes acessíveis à transcrição.

INTRÕES: Segmentos de um gene, inicialmente transcritos no RNAhn, mas removidos durante o “splicing”. Não são encontrados no RNAm.

INVERSÃO: Anomalia resultante de duas fracturas num mesmo cromossoma, seguida de rotação de 180° do fragmento resultante, correspondente ao material cromossómico localizado entre as duas fracturas.

INVERSÃO PARACÊNTRICA: O segmento cromossómico localizado entre as duas fracturas e sujeito a inversão não engloba o centrómero.

INVERSÃO PERICÊNTRICA: O segmento cromossómico sujeito a inversão, entre os dois pontos de fractura, engloba o centrómero.

ISOCROMOSSOMA: Cromossoma cujos braços têm um comprimento igual; resulta de uma divisão “transversal” do centrómero. É um cromossoma anormal com duas cópias de um braço, tendo os dois braços do cromossoma as mesmas dimensões e os mesmos *loci* numa sequência inversa (em espelho, a partir do centrómero). O outro braço é perdido.

ISODISSOMIA UNIPARENTAL: Consiste em um descendente herdar duas cópias de um dos homólogos de um par cromossômico paterno ou materno, com ausência do homólogo que deveria herdar do outro progenitor.

ISOLADO POPULACIONAL: Agrupamento endogâmico de um agregado de pessoas mais ou menos isolado do resto da população (v.g., por razões geográficas, culturais, sociais ou religiosas).

JUSANTE (“down-stream”): Direção correspondente à parte terminal 3’ de uma sequência nucleotídica.

kb (quilobase): Mil pares de bases, numa sequência de DNA.

“**KNOCKOUT**”: Diz respeito à inativação de um gene para se determinar a sua função ou participação em vias metabólicas ou no desenvolvimento de um fenótipo.

LETAL GENÉTICO: Diz-se de uma mutação que não é compatível com a reprodução dos seus portadores, independentemente de afectar ou não a sobrevivência do indivíduo. A existência de indivíduos portadores decorre de mutações “de novo”.

LIGAÇÃO GÊNICA (“Linkage”): Associação, suficientemente próxima, de genes não alélicos no mesmo cromossoma, de modo que não ocorre a sua segregação independente (ver “Equilíbrio de ligação” e “Desequilíbrio de ligação”).

LINHA: Sequência de pessoas, ao longo das gerações, pelas quais um indivíduo de uma família se “liga” ao seu consanguíneo.

LIONIZAÇÃO: Inativação ao acaso, durante a vida embrionária, de um dos cromossomas X das células somáticas femininas com um cariótipo normal (46,XX), nas regiões não homólogas relativamente ao cromossoma Y (a maior parte do cromossoma). Quando há mais de dois cromossomas X, as cópias supranumerárias também são inativadas.

LIPOSSOMA: Vesícula lipídica com dupla camada, usada como vector para mediar o transporte de DNA para dentro das células, em terapia génica.

LIVRARIA: Coleção alargada de clones recombinantes de DNA, em que fragmentos de DNA genómico ou DNA complementar foram inseridos num determinado vector. Uma livraria genómica consiste numa colecção de vectores em que os fragmentos de DNA inseridos são representativos de todo o genoma da espécie estudada (uma ou mais cópias de cada região).

LOCUS (Plural: *loci*): Determinado local de um cromossoma em que se encontra um gene.

“**LOD SCORE**”: Método estatístico para verificar se dois *loci* estão ou não em ligação. Consiste no logaritmo na base 10 da probabilidade de existir ligação, sobre a probabilidade de não existir. Considera-se um valor de +3 (possibilidade de 1.000:1) como prova de ligação génica e um valor de -2 como indicador de não ligação.

LOH (“loss of heterozigosity”): Perda do alelo responsável pela heterozigotia constitucional para um determinado *locus*, no DNA de um clone celular (v.g., células tumorais) em comparação com o DNA das restantes células do organismo (v.g., sangue periférico). Quando o alelo perdido corresponde à única cópia funcional do par de alelos de um *locus*, há perda da função do gene. Se for um *locus* antioncogénico, corresponde ao «segundo acontecimento» que antecede a tumorigénese.

MALFORMAÇÃO: No âmbito dos defeitos congénitos dismórficos, a malformação é um defeito morfológico ou estrutural primário de um órgão, parte de um órgão ou de uma região do organismo, que resulta de um processo do seu desenvolvimento intrinsecamente anormal (v.g., lábio leporino, mielomeningocelo, apêndices pré-auriculares). São frequentemente familiares. As malformações podem ser únicas (na sua maioria de natureza poligénica) ou múltiplas (de origem cromossómica, teratogénica, monogénica ou desconhecida).

MAPA GÊNICO (ou carta génica): Localização relativa dos diversos *loci* nos cromossomas.

MAPEAMENTO GÊNICO: Estudo da posição dos genes nos cromossomas.

MAPEAMENTO FÍSICO: Assinala a posição dos genes, indicando as distâncias em bp, kb ou Mb.

MAPEAMENTO GENÉTICO: Assinala a localização de genes clonados através de estudos de ligação génica em famílias. As distâncias são indicadas em unidades de recombinação ("centimorgans").

MAPEAMENTO DE RESTRIÇÃO: Indicação dos pontos de reconhecimento por enzimas de restrição, para uma determinada extensão de DNA.

MARCADORES: Sequências polimórficas, habitualmente localizadas em regiões não codificadoras do DNA (v.g., RFLPs, VNTRs, microsátélites) que estão em ligação com um determinado *locus* associado a uma doença ou carácter.

Mb (megabase): Um milhão de pares de bases.

MEIOSE: Processo de divisão celular que, nos seres eucariotas diplóides, origina gâmetas ou esporos com apenas uma cópia de cada par de cromossomas homólogos, por núcleo.

MENDELIANA (Hereditariedade): Refere-se à transmissão de um carácter, independentemente do sexo, através de um único gene. Também se designa por hereditariedade unifactorial.

METACÊNTRICO: Cromossoma cujo centrómero está no meio do cromossoma, de tal modo que os braços têm um comprimento quase igual (cromossomas 1,3,16, 19 e 20).

METAFASE: Estádio da mitose em que cada par de cromátides-irmãs, no máximo de condensação e apenas ligadas entre si pelo centrómero, se dispõem na placa equatorial do fuso (placa metafásica). Na metafase I da meiose, são os pares de cromossomas homólogos (bivalentes), ligados entre si pelos quiasmas, que se dispõem no plano equatorial do fuso. A metafase II da meiose é semelhante à da mitose.

METÁSTASE: Localização tumoral secundária resultante da fixação de células tumorais após deslocação a partir do foco tumoral primitivo.

METILAÇÃO (do DNA): Ligação covalente de um grupo metil ao DNA. Nos eucariotas, a citosina é a base mais frequentemente metilada, originando-se 5-metilcitosina. O grau de metilação está associado ao estado funcional dos genes: quanto mais metilado estiver um gene, menor será o seu nível de expressão (transcrição).

"MICROCHIP" DE DNA ("DNA microarray"): Processo de rastreio genético que envolve a distribuição, de forma ordenada, de centenas ou milhares de sequências diferentes de DNA num suporte sólido (v.g., lâmina de microscópio). As sequências aderidas ao suporte sólido podem corresponder a sequências mutadas que sejam patogénicas para o homem, ou a sequências correspondentes a alelos normais que se deseje identificar (v.g., alelos do sistema de histocompatibilidade HLA). Quando se hibrida o DNA de um indivíduo contra o "microchip", vão-se detectar, em simultâneo, as diversas mutações presentes nesse indivíduo (ou os alelos que se deseje caracterizar), pela sua ligação complementar às sequências aderidas.

MICROCROMOSSOMAS (dmin, "double minutes"): Fragmentos cromossómicos muito pequenos, com ou sem centrómero, que são a expressão citogenética de amplificação génica somática e que têm sido relacionados com fenómenos de resistência à quimioterapia em células neoplásicas (ver "Regiões de coloração homogénea").

MICRODELEÇÃO: Perda de material cromossómico, com uma extensão que não permite a sua visualização por microscopia de luz (menor do que 4×10^6 bp).

MICRONÚCLEOS: Pequenos núcleos separados que contêm alguns cromossomas ou fragmentos de cromossomas e que não participam na mitose normal.

MICROSSATÉLITES (ver VNTRs): Ao contrário dos VNTRs, a sequência de bases é mais curta, podendo ser constituída por apenas duas bases. Estas sequências podem variar bastante de comprimento, de um alelo para outro, o que as torna altamente informativas para estudos de ligação génica.

MINISSATÉLITES: (O mesmo que "VNTRs").

"MISMATCH" (erro de emparelhamento): Condição em que, numa determinada posição da dupla cadeia de DNA, não se verifica a complementaridade de bases nucleotídicas (A-T; C-G).

MITOCONDRIAL (hereditariedade): Hereditariedade que tem por base os genes localizados nas mitocôndrias e que são transmitidos exclusivamente por via materna.

MITOSE: Processo pelo qual as células eucariotas se dividem com manutenção do número normal de cromossomas.

MONOCLONAL (tumor): Consiste num tumor em que as células constituintes têm origem numa única célula inicial. A caracterização pode ser feita pela detecção da mesma alteração citogenética em todas as células do tumor.

MONOGÉNICO: Caracter ou afecção causada por um só alelo ou um só par de alelos situados num determinado *locus*.

MONÓMERO: Unidade constituinte de uma molécula polimérica (ver "Oligómero").

MONOSSOMIA: Presença, nas células, de uma única cópia de um par cromossómico, em vez de duas.

MONOSSOMIA PARCIAL: Condição em que falta parte de um cromossoma, pelo que existe apenas uma cópia da extensão cromossómica em causa, num indivíduo.

MONOZIGÓTICOS (Gémeos): Gémeos provenientes do mesmo zigoto, resultante da fecundação de um único óvulo por um único espermatozóide; gémeos geneticamente idênticos.

MONTANTE (Sequências de) ("upstream"): Sequências de DNA localizadas a montante de um determinado gene (direcção 5', oposta à da transcrição), envolvidas na regulação da sua expressão. Em sentido oposto, ficam as sequências de jusante ("downstream").

MOSAICISMO: Presença no mesmo indivíduo de duas ou mais linhas celulares provenientes de um único zigoto (mosaico), mas com genótipo ou cariótipo diferente, resultantes de mutação ou não-disjunção cromossómica (ver "Quimera").

MOSAICISMO FISIOLÓGICO: (ver "Lionização").

MOSAICISMO GERMINAL (ou mosaicismo gonadal): Presença de duas ou mais populações celulares da linha germinal, geneticamente diferentes.

MULTIFACTORIAL (Hereditariedade): Caracter ou doença dependente da interacção de factores ambientais múltiplos, com vários genes localizados em diferentes *loci* (não confundir com "poligenia"). Os traços multifactoriais podem ser descontínuos e contínuos.

MULTIPLICAÇÃO (lei): A lei da multiplicação em cálculo de probabilidade decorre do facto de dois acontecimentos serem independentes como acontece em relação ao risco de doença para dois descendentes de um doente com uma condição mendeliana autossómica dominante, em duas gravidezes sucessivas. Os acontecimentos que, na primeira gravidez, levam à segregação do alelo normal ou do alelo mutado não afectam o que acontece numa gravidez subsequente, já que são factos independentes. Assim, se numa primeira gravidez, o risco de transmitir o alelo mutado e de ter um filho doente é de 1/2, tal probabilidade de 1/2 mantém-se numa segunda gravidez. A probabilidade de ter os dois filhos doentes é igual ao produto da probabilidade presente em cada uma das gravidezes, ou seja de 1/4 ($1/2 \times 1/2 = 1/4$).

MUTAÇÃO: Toda a alteração permanente do genoma de uma célula em relação a uma sequência de DNA de referência, transmissível às células filhas. Pode dizer respeito a um único nucleótido (ver "Mutação pontual") ou ser mais extensa. Uma muta o que ocorre nos gâmetas   hereditária; uma muta o que ocorre nas células somáticas não   hereditária.

MUTAÇÃO (Taxa de): Número de muta es que ocorre num *locus* determinado, expresso por gene e por gera o.

MUTAÇÃO "DE NOVO": Muta o que aparece pela primeira vez num elemento de uma família, por altera o ocorrida no DNA da célula germinal de um dos progenitores.

MUTAÇÃO "FRAMESHIFT": Altera o da sequência de bases de um gene, por dele o ou inser o, que conduz a modifica o da grelha de leitura (a reorganiza o da sequência de bases origina uma nova sequência de codões). Habitualmente provoca o aparecimento prematuro de um codão "stop".

MUTAÇÃO "MISSENSE": Muta o num codão, de que resulta a codifica o para um aminoácido diferente do inicial, dando origem   substitui o de um aminoácido na cadeia polipeptídica.

MUTAÇÃO LETAL: Muta o que não permite a sobrevivência de uma célula ou organismo.

MUTAÇÃO "NONSENSE": Qualquer muta o, seja por substitui o de uma base ou por altera o do agrupamento dos nucleótidos em tripletos, que origine um codão de termina o (ver "Codão de termina o"). A designa o "nonsense" resulta do facto de não codificar para qualquer aminoácido.

MUTAÇÃO PONTUAL: Substituição de um nucleótido por outro.

MUTAÇÃO SINÓNIMA: Mutação que se traduz pela substituição de uma base num codão, sem alterar o aminoácido que codifica, o que se deve à degenerescência do código genético (ver "Código genético").

MUTAÇÃO SOMÁTICA: Alteração do material genético numa célula somática. Não é hereditária, embora se transmita a todas as células-filhas.

MUTAÇÕES DINÂMICAS: Dizem respeito à alteração do número de tripletos repetitivos que se encontram em determinadas regiões do genoma. O aumento do número de tripletos ocorre ao longo de gerações sucessivas. Quando o número de tripletos repetitivos ultrapassa um limiar crítico, variável para diferentes condições, a mutação torna-se patogénico e há manifestações de doença. Ultrapassado o número limite patogénico, a severidade da doença pode aumentar em função do aumento do número de unidades repetitivas e a idade de aparecimento da doença pode ser mais precoce.

MUTAGÉNEO: Agente físico, químico ou biológico capaz de aumentar a taxa de mutação, devido às alterações que provoca a nível do DNA.

NÃO-DISJUNÇÃO: Situação em que as duas cromátides de um cromossoma metafásico não se separam pelo centrómero, de modo a migrarem cada uma para o pólo respectivo do fuso. O mesmo pode ocorrer com os cromossomas homólogos durante a meiose. Origina alterações numéricas dos cromossomas.

"NICK TRANSLATION": Método que permite a substituição de nucleótidos numa dupla cadeia de DNA, pelos mesmos nucleótidos, mas marcados (v.g., radioisótopo, biotina, fluoresceína), durante a reparação com polimerase do DNA, após actuação da desoxirribonuclease. As duas cadeias são marcadas por este processo.

"NORTHERN BLOT": Método utilizado para transferir fragmentos de RNA de um gel de agarose para um suporte sólido (nitrocelulose ou outro), para posterior hibridação.

NUCLEASES (ver "Endonucleases"): Enzimas que cortam a cadeia nucleotídica de DNA (designadas como DNAses) ou de RNA (designadas como RNAses).

NUCLEÓSIDOS: Unidades constituídas por um açúcar (ribose ou desoxirribose) e uma base azotada (púrica ou pirimídica).

NUCLEOSSOMA: Unidade base da cromatina, constituída por quatro pares de proteínas histónicas e uma extensão de 146 pares de bases da cadeia de DNA enrolados à volta das histonas. O grau de compactação do DNA linear devido ao enrolamento da cadeia nos nucleossomas é de seis vezes.

NUCLEÓTIDOS: Moléculas constituídas por um nucleósido e um grupo fosfato, cuja polimerização dá origem à cadeia de DNA (açúcar: desoxirribose) ou de RNA (açúcar: ribose).

NULISSOMIA: Ausência dos dois membros de um par de cromossomas homólogos.

OLIGONUCLEÓTIDOS: Moléculas monocatenares de DNA que consistem numa sequência curta de nucleótidos (a maioria das vezes com 20-30 nucleótidos). São habitualmente usados para PCR, sequenciação e como sondas.

OLIGÓMERO: polímero constituído por um número reduzido de unidades (monómeros).

ONCOGENES: Sequências de DNA resultantes da alteração quantitativa ou qualitativa de protooncogenes, implicadas, de um modo dominante, na indução e/ou manutenção da transformação celular.

ORF ("open reading frame") (ver "Grelha de leitura"): Consiste na sequência de nucleótidos localizados entre o codão iniciador e o codão «terminador» de um gene, capaz de codificar uma cadeia polipeptídica. A definição exacta do nucleótido em que se inicia a tradução do RNAm é essencial para definir a sequência de codões que irá determinar a ordem dos aminoácidos no polipéptido.

ORTÓLOGOS (genes): Dois genes homólogos de diferentes organismos que derivam de um gene inicial, por especiação (são ramos da evolução filogenética).

p: Braço curto de um cromossoma.

PALÍNDROMA: Extensões de DNA que contêm a mesma sequência 5'→3' nas duas cadeias

complementares (v.g., 5' GAATTC 3' / 3' CTTAAG 5'). Constituem locais de reconhecimento das enzimas de restrição tipo II.

PANMIXIA: Uniões (ou casamentos) feitos ao acaso.

PARACRINIA: Produção por uma célula, de hormonas, factores de crescimento ou outras substâncias cujas células alvo se encontram na sua vizinhança.

PARÁLOGOS (genes): membros de uma família de genes presentes num mesmo organismo, que derivam de um gene inicial por duplicação, seguida de divergência.

PARENTESCO (grau de): Forma de indicar a proximidade genética entre dois indivíduos, pela proporção de genes idênticos que possuem, herdados de um mesmo ancestral (v.g., os familiares em primeiro grau têm 50% dos genes idênticos (pais/filhos e irmãos), enquanto que os familiares em segundo grau (tios/sobrinhos) têm 25% dos genes idênticos).

PARTENOGÉNESE: Segmentação do ovócito em blastómeros, sem fecundação prévia.

PASSO: Nos cálculos de consanguinidade, um passo representa uma geração. Entre duas pessoas consecutivas da linha que liga dois indivíduos consanguíneos conta-se um passo.

PCR ("Polymerase Chain Reaction"): Reacção de polimerização em cadeia utilizada para amplificar determinadas sequências de DNA. São usadas duas sequências oligonucleotídicas de DNA flangeadoras, como iniciadoras da replicação ("primers") e recorrendo a uma polimerase do DNA fazem-se replicações sucessivas da sequência de DNA inicial.

PENETRÂNCIA: Traduz a frequência da expressão fenotípica de um determinado gene numa população. É quantificada em percentagem (razão percentual entre o número de indivíduos que exprime o gene e o número de indivíduos da população que efectivamente o transporta no seu genoma). A ausência de penetrância é a ausência de expressão do gene no fenótipo, embora o gene exista no genoma. Há penetrância completa (100%) quando o gene se manifesta sempre que está presente. A penetrância incompleta pode ser elevada ou baixa. Nos casos de baixa penetrância poderão estar em causa variações subtis da sequência de DNA ou polimorfismos que concedem um aumento pequeno ou moderado do risco relativo para o carácter ou doença em causa.

PIRIMIDINAS: Bases azotadas dos ácidos nucleicos: timina no DNA; uracilo no RNA; citosina no DNA e no RNA.

PLACA EQUATORIAL: Região que durante a mitose corresponde à zona média do fuso, em que se dispõem os cromossomas durante a metafase.

PLASMÍDEO: Molécula de DNA circular, bicatenar, com capacidade de replicação autónoma no citoplasma de uma bactéria específica. Usado como vector para a clonagem do DNA.

PLEIOTROPISMO: Situação em que um único gene influencia vários aspectos do fenótipo, aparentemente não correlacionados.

PLOIDIA: Número de cromossomas numa célula (ver "Haploidia", "Euploidia", "Aneuploidia" e "Poliploidia").

POLIADENILAÇÃO: (ver "Processamento do RNAm").

POLIALELIA: Existência de vários alelos numa população, que «concorrem» para um único *locus*. O genótipo de cada indivíduo consiste num dos pares de alelos resultantes das combinações possíveis entre o total de alelos.

POLICLONAL (tumor): Consiste num tumor em que as células constituintes têm origem em mais do que uma célula inicial. A caracterização pode ser feita pela detecção de diferentes alterações citogenéticas, em células pertencentes ao mesmo tumor.

POLIGENIA: Situação em que um carácter ou doença é determinado por vários genes localizados em *loci* diferentes, com efeitos aditivos (ver "Multifactorial").

POLIMERASES (do DNA): Enzimas que, a partir de uma sequência de iniciação ("primer"), sintetizam DNA, a partir de um molde ("template") de DNA, por incorporação de nucleótidos na extremidade 3' da nova cadeia de DNA.

POLIMERASES (do RNA): Enzimas que catalisam a produção de RNA, a partir de um modelo de DNA.

POLIMORFISMO (genético): Ocorrência simultânea, numa mesma população, de duas ou mais formas alternativas de um gene ou de uma sequência de DNA não codificador, em tais frequências que o mais raro não pode ser mantido apenas por mutação. Nenhum dos alelos é raro, ocorrendo com uma frequência de, pelo menos, 0,01 (1%). Os polimorfismos instalam-se

- por selecção dos portadores, face à vantagem que concedem em determinadas condições ambientais. Num determinado momento, pela diversidade que concedem, podem ser recursos para a sobrevivência das espécies vivas, na sua adaptação a alterações ambientais.
- POLIMORFISMO INFORMATIVO:** Diz-se de um marcador polimórfico que apresenta heterozigotia. A heterozigotia permite distinguir os dois alelos e seguir o trajecto de um gene ou doença hereditária numa determinada família. Quando os dois membros de um casal são heterozigóticos para um determinado *locus*, o marcador polimórfico é inteiramente informativo.
- POLIMORFISMO EQUILIBRADO:** Polimorfismo que é mantido pela vantagem selectiva concedida pela condição heterozigótica em comparação com as condições homozigóticas (para a forma normal ou mutada do gene) e a aptidão mais reduzida dos indivíduos homozigóticos para sobreviverem e se reproduzirem (v.g., nas regiões estabilizadas para a endemia de malária, a forma alélica para a hemoglobina S (HbS, responsável pela anemia de células falciformes) tem uma elevada frequência, devido à protecção que concede contra a malária nos heterozigotos).
- POLIMORFISMO NEUTRO:** Polimorfismo genético que não afecta a aptidão para a sobrevivência ou a reprodução.
- POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO (SNP):** Polimorfismo devido à substituição de um único nucleótido.
- POLIMORFISMO TRANSITÓRIO:** Condição em que a frequência de um alelo polimórfico se altera, sendo substituído por outro alelo que dá vantagem biológica superior (v.g., em populações em que a malária deixou de existir, a frequência do alelo que codifica HbS tem vindo a diminuir, assumindo, nestas condições ambientais, o comportamento de um polimorfismo transitório).
- POLIPLOIDIA:** Presença de um número de cromossomas múltiplo do número haplóide de cromossomas, mas diferente de dois; por ex.: 3n, 4n, ou seja, 69, 92, etc.
- POLISSOMIA:** Situação em que numa célula ou células de um organismo diplóide existem mais do que dois homólogos de um par de cromossomas, mantendo-se normalmente a diploidia para os restantes pares de homólogos (ver "Trissomia").
- POPULAÇÃO:** Grupo de organismos de uma mesma espécie que vivem num determinado espaço.
- PORTADOR ("Carrier"):** Indivíduo saudável que possui um gene mutado na forma heterozigótica, ou uma translocação ou inversão cromossómica equilibrada.
- PORTADOR OBRIGATÓRIO:** Indivíduo saudável sobre o qual se pode afirmar que é portador de determinado alelo mutado (uma vez excluídas as relações extra-conjugais), face aos elementos da família que expressam a doença ou carácter associado a essa forma alélica (v.g., a mãe e as filhas de um homem com uma doença recessiva ligada ao cromossoma X, como a hemofilia; a mãe e as filhas são heterozigóticas obrigatórias).
- PREDISPOSIÇÃO GENÉTICA:** Factor ou conjunto de factores de natureza genética que predispõe para uma determinada patologia ou patologias ou que, pelo contrário, protege o seu portador de determinada patologia ou patologias.
- PREVALÊNCIA:** Número total de casos de uma doença ou carácter existente numa população num determinado momento. A taxa de prevalência refere-se ao número total de casos por mil indivíduos.
- PRÉ-MUTAÇÃO:** Uma alteração num gene, clinicamente insignificante, que predispõe para uma subsequente mutação completa.
- PRIÃO:** Pequena partícula infecciosa, de natureza proteica, que resiste à inactivação pelos processos que modificam os ácidos nucleicos.
- PRIMEIRO GRAU (Familiares em):** Os familiares mais próximos (v.g., pais, filhos e irmãos), com uma identidade génica de 50%.
- PRIMER" (SEQUÊNCIA DE INICIAÇÃO):** Oligonucleótido curto de DNA ou de RNA, complementar para o início duma sequência nucleotídica e que serve de ponto de partida para esta ser copiada por uma polimerase de DNA. Na medida em que no genoma humano, uma sequência com 17 ou mais bases nucleotídicas tem a probabilidade de apenas surgir uma vez, para «primers» curtos com um número de nucleótidos superior a 17, é de esperar uma hibridação com especificidade para a sequência de DNA que se deseja.

- PROBABILIDADE:** Proporção de vezes que, numa série de ensaios, se espera que ocorra um determinado acontecimento.
- PROBANDO:** O mesmo que caso "index", "propositus" ou consultando. Indivíduo que procura a consulta de Genética para aconselhamento e que, pela primeira vez, chama a atenção para uma família. O heredograma é feito a partir do probando.
- PRÓ-CARCINOGENO:** Molécula que requer metabolismo prévio para se transformar em carcinogénico.
- PROCARIOTA:** Organismo unicelular que não tem membrana nuclear. As bactérias e as arqueobactérias são procariotas.
- PROCESSAMENTO (do RNAhn):** Processo de maturação do transcrito primário de RNA constituído pelo "capping", "splicing" e "poliadenilação".
O "capping" consiste na adição de guanosina metilada ao terminal 5' da cadeia de RNAm. É reconhecido pelos ribossomas como o sinal de iniciação para a síntese proteica.
O "splicing" consiste na remoção intranuclear das sequências de intrões do RNAhn de modo a formar o RNAm, por junção dos exões. Quando se verifica "splicing" alternativo, ocorre selecção de diferentes sequências de exões a partir do mesmo RNAhn, o que origina diferentes RNAm que codificam polipeptídeos diferentes, a partir do mesmo gene.
A "poliadenilação" consiste na adição de uma sequência de nucleótidos de adenina (20-200) ao terminal 3' do RNAm.
- PROFASE:** Estádio inicial da mitose em que a cromatina inicia a sua condensação, dando origem aos cromossomas já visíveis no final da profase, altura em que a membrana nuclear se fragmenta. Formam-se as estruturas do fuso. Na profase I da meiose, constituída pelos estádios leptóteno, zigóteno, paquíteno, diplóteno e diacinese, formam-se os cromossomas divalentes por emparelhamento dos cromossomas homólogos (cada um com duas cromátides), condensação e estabelecimento dos quiasmas.
- PROMOTOR (da transcrição):** Sequência de DNA a que se liga a polimerase do RNA, para ter início a transcrição. Encontra-se a montante do local de início da transcrição do gene, em posição muito próxima (v.g., a sequência promotora identificada como TATA box esta localizada a uma distância de 10 bp). A posição das sequências promotoras determina onde começa a transcrição e qual a cadeia de DNA que é escolhida como modelo.
- PROPOSITUS (fem.: proposita):** Indivíduo que chama a atenção de um médico para o estudo da família e a partir do qual é elaborado o heredograma.
- PROTANOPIA:** Incapacidade de detectar a cor vermelha devido a deficiência das proteínas absorventes de luz (opsinas), por uma parte dos cones da retina. Estes indivíduos são dicromáticos já que têm percepção para o verde e o azul.
- PROTEOMA:** Total de proteínas codificadas pelo genoma.
- PROTOONCOGENES:** Genes celulares normais implicados na regulação da proliferação e da diferenciação celular, altamente conservados durante a evolução filogenética. Embora em número elevado, podem ser agrupados funcionalmente em quatro grupos, de acordo com a acção desempenhada pelas moléculas que codificam: factores de crescimento; receptores para os factores de crescimento; transdutores de sinais; factores de transcrição.
- PROVÍRUS:** Sequência de DNA capaz de se integrar no genoma de uma célula, resultante da transcrição inversa do genoma de um retrovírus durante a fase de infecção e replicação. É transcrito em RNA viral e também em RNAm que codifica as proteínas oncogénicas e as proteínas do vírus.
- PSEUDOAUTOSSÓMICAS:** Regiões do cromossoma X e do cromossoma Y que contêm genes homólogos e emparelham e sofrem recombinação durante a meiose.
- PSEUDODIPLOIDIA:** O número de cromossomas é diplóide, mas há anomalias a nível do cariótipo, devidas a rearranjos cromossómicos ou perda de cromossomas e duplicação de outros.
- PSEUDOGENES:** Formas inactivadas de genes que terão sido funcionais durante a evolução filogenética, mas que, devido a uma ou mais mutações ou a perda da sequência promotora, não são passíveis de expressão. Têm uma elevada semelhança com genes conhecidos.

PSEUDO-HERMAFRODITA: Indivíduo que apenas possui um tipo de tecido gonádico, masculino ou feminino. Um pseudo-hermafrodita masculino possui testículos e um fenótipo “feminino”. Um pseudo-hermafrodita feminino possui ovários e um fenótipo “masculino”.

PURINAS: Bases azotadas dos ácidos nucleicos: adenina e guanina no DNA e no RNA.

q: Braço longo de um cromossoma.

QTLs: (“quantitative trait *loci*”): *Loci* subjacentes a traços multifactoriais complexos (ver “Traço quantitativo”).

QUIASMAS: Locais pelos quais as cromátides de cada par de cromossomas homólogos se mantêm em contacto nas figuras bivalentes, apesar de estarem separadas noutras regiões, e onde ocorre a troca de partes homólogas, entre as cromátides de cada um dos cromossomas homólogos (ver “Entrecruzamento”).

QUIMERA: Indivíduo que possui células provenientes de dois zigotos diferentes.

RASTREIO (genético): Estudo em larga escala para despitagem dos elementos de uma população de forma a identificar os que estão em risco de desenvolver ou de transmitir uma doença.

RECESSIVO: Gene ou carácter que só se manifesta em homozigotia ou em hemizigotia.

RECOMBINAÇÃO: Troca de material genético entre regiões homólogas de um par de cromossomas homólogos, durante a divisão celular (mitose ou meiose).

RECOMBINANTE (de DNA): Resulta da inserção artificial, para efeito de clonagem génica, de uma sequência de DNA de um organismo no genoma de outro (vector).

RECORRÊNCIA: repetição de uma condição.

REGIÕES DE COLORAÇÃO HOMOGÉNEA (hsr, “Homogeneous staining regions”): Expressão citogenética de amplificação génica somática, traduzida em extensões anormais de um cromossoma com a mesma intensidade de coloração. Têm sido relacionadas com fenómenos de aquisição de resistência à quimioterapia, em células neoplásicas (ver “Microcromossomas”).

RECORRÊNCIA (risco): Probabilidade de se repetir em próxima gestação, uma condição já observada num ou mais descendentes de um casal.

REPLICAÇÃO (de DNA): Produção de duas cadeias duplas de DNA, a partir de uma cadeia dupla inicial, por complementaridade de bases.

RETROTRANSPOSIÇÃO: Molécula de DNA que se pode transpor de um local do genoma para outro local desse mesmo genoma, mediante transcrição inicial em RNA, a que se segue a formação de cDNA e a recombinação deste com o DNA genómico. Um retrotransposição tem uma existência unicamente intracelular. Codifica transcriptase inversa.

RETROVÍRUS: Vírus de RNA, capaz de codificar uma transcriptase inversa. Replica através de uma fase intermédia com produção de DNA complementar e inserção deste no DNA da célula hospedeira.

RETROVÍRUS DE TRANSFORMAÇÃO AGUDA (“Acute transforming retrovirus”): Vírus que integrou no seu genoma sequências originárias de um genoma hospedeiro (sequências virais oncogénicas) e que lhe permitem provocar a formação rápida de tumores ou a transformação de células em cultura.

RFLPs (“Restriction Fragment Length Polymorphism”): Variação, entre indivíduos, do comprimento dos fragmentos de DNA obtidos com enzimas de restrição. Resulta de alterações da sequência de nucleótidos do DNA, que ocorrem, normalmente, cerca de uma vez em cada cem pares de bases e que podem alterar o sítio de restrição identificado pela nuclease utilizada. É uma condição herdada de forma mendeliana, que pode ser usada nos estudos de ligação génica.

RIBOZIMA: Pequena molécula de RNA com actividade enzimática, capaz de clivar alvos específicos de uma sequência de RNA, por destruição da ligação fosfodiéster.

RISCO: Probabilidade de ocorrência de um acontecimento particular.

RISCO ABSOLUTO: Traduz a probabilidade dos consulentes virem a ter uma determinada doença num determinado período de tempo, por acção de um determinado factor de risco específico.

RISCO EMPÍRICO: No âmbito da Genética, traduz o risco de recorrência para alterações de natureza poligénica ou multifactorial baseado nos dados colhidos da experiência prática nos membros de uma população, e não em cálculos assentes em princípios teóricos gerais.

RISCO RELATIVO (características monogénicas): risco dado pelo quociente entre a probabilidade de ocorrência de determinada doença ou carácter devido à presença de um genótipo predisponente e a probabilidade de ocorrência da mesma condição nos indivíduos da população sem aquele genótipo.

RNA: Ácido ribonucleico. Estrutura unicatenar constituída pela sequência dos ribonucleótidos de adenina (A), guanina (G), citosina (C) e uracilo (U), unidos por ligações diéster de fosfato. Há três grupos principais de RNA: RNA mensageiro (RNAm) que corresponde a 5% do RNA celular e em que a ordem dos codões assegura a sequência de aminoácidos para a síntese de uma cadeia polipeptídica; RNA de transferência (RNAt) que assegura a correspondência entre os codões e os aminoácidos e corresponde a 15% do RNA celular; RNA ribossómico (RNAr) que representa 80% do RNA celular e participa na constituição dos ribossomas. Para além destes tipos de RNA, há ainda pequenas moléculas de RNA nuclear que participam na junção dos exões de RNA e pequenas moléculas de RNA citoplásmico que participam na sinalização de proteínas sintetizadas.

Logo após a transcrição, ainda dentro do núcleo, o RNA designa-se por RNA heterogéneo (RNAhn), sendo constituído por sequências resultantes da transcrição dos exões e dos intrões. O RNAhn, após processamento, origina o RNAm.

SATÉLITES: Pequenos segmentos de cromatina em posição distal em relação à contração secundária, localizados nos braços curtos dos cromossomas acrocêntricos.

SCE ("Sister Chromatid Exchange"): Troca recíproca de material cromossómico entre cromátides-irmãs (as duas cromátides resultantes da replicação do DNA, na fase S do ciclo celular).

SEGREGAÇÃO: Em Genética, significa separação dos dois alelos de um *locus* durante a meiose. Uma vez que um par de alelos ocupa as duas posições de um *locus* (uma posição em cada cromossoma homólogo), cada alelo passa para um gâmeta diferente.

SELECÇÃO NATURAL: Processo evolutivo assente em genótipos que criam vantagem reprodutiva para os seus portadores e, conseqüentemente, um maior número de descendentes.

SELVAGEM (gene; "wild type gene"): Forma do gene que se encontra habitualmente na natureza.

"SENSE" (cadeia) (ver "Antisense"): Cadeia do DNA que num gene apresenta a mesma sequência nucleotídica do RNAm (neste, com substituição da base timina por uracilo) e que corresponde à sequência codificadora.

SEQUÊNCIA: No âmbito dos defeitos congénitos dismórficos, refere-se ao conjunto de alterações funcionais ou defeitos estruturais que ocorrem como consequência de uma única anomalia inicial, seja uma malformação, uma disrupção ou uma deformação (v.g., sequência de Potter: a agenesia renal ou obstrução uretral origina oligoâmios que provoca deformações fetais secundárias e hipoplasia pulmonar com dificuldade respiratória).

SEQUENCIAÇÃO DE DNA: Determinação da ordem pela qual se encontram as bases púricas e pirimídicas num fragmento de DNA.

SEXO (Influenciado pelo): Designa as situações em que a expressão de determinados traços autossómicos ocorre mais frequentemente num sexo que no outro (v.g., gota e calvície no sexo masculino).

SEXO (Ligado ao): Designação que se refere aos traços ou caracteres determinados por genes localizados nos cromossomas sexuais (X ou Y) (v.g., DMD e hemofilia no cromossoma X).

SEXO (Limitado ao): Situações raras em que determinados traços genéticos autossómicos se verificam apenas num sexo (v.g., hidrometrocolpos, no sexo feminino).

SILENCIADORES ("silencers"): Sequências de DNA que, por ligação de factores de transcrição específicos, reduzem ou anulam a expressão de um gene (elementos reguladores negativos).

SÍNDROMA: Conjunto de sinais e sintomas, mas também de alterações funcionais ou bioquímicas que ocorrem em associação uns com os outros. A caracterização de uma síndrome pode não identificar a causa, mas reduz o número de possibilidades. Numa síndrome há um espectro fenotípico, ou seja o total de anomalias que a caracterizam. Habitualmente, não estão presentes todas as manifestações fenotípicas da síndrome, num mesmo indivíduo, sendo também frequente observar variação da intensidade da expressão de uma ou mais das manifestações.

SÍNDROMA POLIMALFORMATIVA: Grupo de anomalias primárias que ocorrem num indivíduo, que constituem um padrão que se repete em diversos indivíduos e que se pensa estarem relacionadas patogenicamente.

SINTÉNICOS (Genes): Genes cujos *loci* se encontram no mesmo cromossoma, podendo ou não estar em ligação.

SÍTIO FRÁGIL (“Fragile site”): Região cromossômica com tendência para sofrer fracturas. Apresenta-se como um hiato que não cora e que envolve habitualmente as duas cromátides, é sempre precisamente o mesmo em todas as células de um indivíduo ou na sua descendência, é herdado de um modo mendeliano codominante e é detectável em condições apropriadas de cultura “in vitro” (meio pobre em ácido fólico), pela produção de fragmentos acêntricos, cromossomas com deleções e figuras multirradiais.

SNPs (ver “Polimorfismo de nucleotídeo único”).

SOMÁTICO: Diz respeito às células, estruturas e processos encontrados num indivíduo, excluídas as células germinais.

SONDA (“Probe”): Sequência de ácidos nucleicos (DNA ou RNA) marcada por radioactividade, peroxidase ou luminescência, que serve para localizar determinadas sequências de DNA, por complementaridade (hibridação). Há sondas genómicas, de cDNA, de RNA e oligonucleotídicas (obtidas por síntese de DNA). A designação de uma sonda obedece na sua nomenclatura à indicação do grupo de cromossomas e do cromossoma específico a que se destina, bem como do *locus* com que hibrida (v.g., D15S10: sonda destinada ao *locus* 10, do cromossoma 15).

“SOUTHERN BLOT”: Método descrito pela primeira vez por E. Southern, utilizado para transferir fragmentos de DNA de um gel de agarose ou poliacrilamida, para um suporte sólido (nitrocelulose ou outro), permitindo a posterior hibridação.

“SPLICING”: (ver “Processamento do RNAhn”).

“SPLICING” ALTERNATIVO: (ver “Processamento do RNAhn”).

SSCP (“single strand conformation polymorphism”): Polimorfismo devido a variação da sequência de uma cadeia única de DNA que origina alteração conformacional secundária e altera a velocidade de migração por electroforese em gel não desnaturante.

STRs (“short tandem repeats”): Curtas sequências nucleotídicas repetitivas (microsatélites ou minissatélites) que se encontram no DNA. Os STRs são bons marcadores polimórficos para estudos de ligação génica, devido ao seu elevado polimorfismo.

STSs (“sequence tagged sites”): Regiões únicas de DNA, de pequena extensão, para as quais estão disponíveis pares de “primers” para fazer PCR, que podem ser usadas como marcadores para o mapeamento do DNA ou para a localização de genes, particularmente na clonagem posicional.

SUBMETACÊNTRICO: Cromossoma cujo centrómero se situa entre o meio do cromossoma e uma das extremidades, embora distante desta (variante entre acrocêntrico e metacêntrico) (cromossomas 2, 4-12, 17, 18 e X).

SUPERGENE: Refere-se a uma série de genes que controla, habitualmente, aspectos relacionados de um fenótipo, que estão em ligação próxima num mesmo cromossoma e que conferem vantagem biológica quando herdados em conjunto. Pode, contudo, ocorrer “crossing-over” ocasional.

“TANDEM REPEAT” (unidade repetitiva): Pequena sequência de DNA que se repete como múltiplas cópias adjacentes, com a mesma orientação, na cadeia de DNA.

TAUTOMERISMO: Modificação espontânea do isómero estrutural de uma molécula (v.g., uma base nucleotídica) para outro isómero devido à mudança reversível da posição de um protão. Ao poder alterar a especificidade do emparelhamento entre as bases, pode-se constituir em mecanismo mutagénico do DNA.

TELOCÊNTRICO: Cromossoma com centrómero numa das extremidades. Não existe normalmente na espécie humana.

TELOFASE: Estádio da mitose em que as cromátides (23 pares de cromátides homólogas para cada pólo) atingem os pólos do fuso e começam a descondensar, a membrana nuclear é restabelecida e começa a citocinese. Na telofase I da meiose, encontra-se em cada pólo do

fuso um número haplóide de cromossomas, cada um com duas cromátides. A telofase da meiose II é semelhante à da mitose.

TELÓMEROS: Extremidades dos cromossomas. A sua estrutura apresenta uma sequência semelhante em todos os cromossomas (TTAGGG) que se repete milhares de vezes. A sua função é facilitar a replicação do DNA nas extremidades dos cromossomas e manter a estabilidade dos cromossomas. Em cada ciclo de replicação do DNA, os telómeros sofrem um encurtamento. O acumular dos sucessivos encurtamentos funciona como “relógio biológico” que determina o momento em que uma célula normal deixa de se dividir.

TEMPO DE DUPLICAÇÃO (de uma população celular ou tumor): Tempo que uma população celular ou tumor demora para duplicar o seu número e a sua massa.

TEMPO DE GERAÇÃO CELULAR (“Cell generation time”): Intervalo entre a divisão de uma célula e a divisão das células-filhas.

TERAPIA GÉNICA: Procedimento destinado a curar uma doença de natureza genética, por integração, em células do organismo, de uma cópia normal de um gene mutado ou em falta, ou por modulação da expressão génica. A terapia génica somática atinge apenas as células somáticas. A terapia génica germinal altera o genoma das células germinais.

TERATOGÉNICO: Agente ou factor que pode causar anomalias de forma e função (defeitos congénitos) num embrião ou feto que esteja exposto à sua acção, por perturbação do seu desenvolvimento normal.

TESTE GENÉTICO: Procedimento analítico dirigido para a caracterização de um gene específico, do produto que codifica ou da sua função, ou para o estudo de outro tipo de DNA ou cromossomas, em qualquer dos casos destinado a detectar ou excluir a presença de uma alteração associada a doença ou anomalia de natureza genética, que pode ser transmitida à descendência.

TESTE GENÉTICO (pré-sintomático ou predizente): Estudo genético feito em indivíduos sem manifestações de doença (sem sinais, nem sintomas). Permite identificar os portadores de uma forma mutada de um gene que, com grande probabilidade, seja patogénica em idade posterior ao momento de realização do teste, ou para os descendentes.

TIMINA (abreviatura: T): constitui uma das quatro bases que integram o DNA.

TRADUÇÃO: Síntese de uma proteína, a nível ribossómico, a partir da sequência de RNAm.

TRAÇO: Qualquer característica determinada por um gene.

TRAÇO QUANTITATIVO: Característica que pode ser medida numa escala contínua (v.g., altura, peso). Resulta da acção combinada de vários genes e de factores ambientais.

TRANS: Refere-se a genes localizados em cromossomas opostos de um par, ou a uma acção num cromossoma que é exercida por um factor. O cromossoma em que se exerce o efeito *trans* difere daquele em que se encontra o *locus* que codifica o factor em causa.

TRANSCRIÇÃO (do DNA): Produção de RNAm a partir da cadeia “anti-sense” do gene, pela polimerase do RNA.

TRANSCRIÇÃO (factores): Proteínas envolvidas na regulação da transcrição do RNAm.

TRANSCRIPTASE INVERSA: Enzima capaz de utilizar RNA como molde para sintetizar DNA (cDNA). A transcriptase inversa é uma polimerase de DNA.

TRANSCRIPTOMA: Total de RNAm transcrito a partir de um genoma.

TRANSDUÇÃO: Aquisição e transferência de sequências celulares eucariotas por um retrovírus, de modo a que passem de uma célula para outra.

TRANSFEÇÃO (de células eucariotas): Transferência de DNA estranho para células eucariotas, por meios físicos ou virusais, com a finalidade de ser integrado no seu genoma.

TRANSFORMAÇÃO BACTERIANA: Aquisição de novos marcadores genéticos por bactérias, devido à incorporação de DNA adicional.

TRANSFORMAÇÃO CELULAR: Processo subjacente à conversão de uma célula normal, numa célula imortalizada com capacidade tumorigénica. Geralmente, a transformação celular resulta da cooperação entre produtos oncogénicos que funcionam como factores de crescimento e produtos oncogénicos pertencentes aos outros grupos (ver “Protooncogenes”).

TRANSGÉNICO (animal): Animal em que todas as células são portadoras de material genético estranho à espécie, passível de transmissão à descendência por se encontrar também nas células germinais.

TRANSIÇÃO: Mutação que consiste na substitui o de uma base púrica por outra base púrica ou de uma pirimídica por outra pirimídica.

TRANSLOCA O: Mecanismo de rearranjo cromoss mico, pelo qual uma parte de um cromossoma se muda para outro cromossoma.

TRANSLOCA O EQUILIBRADA: Tipo de transloca o em que não há perda ou ganho de material cromoss mico no portador. O portador de uma transloca o equilibrada não evidencia altera es fenotípicas associadas   anomalia cromoss mica, embora possa ter descendentes afectados.

TRANSLOCA O RECÍPROCA: Designa a condi o em que há troca de fragmentos entre dois cromossomas não homólogos.

TRANSLOCA O ROBERTSONIANA: Ocorre entre dois cromossomas acrocêntricos por fusão dos braços longos pelo centr mero e perda dos braços curtos.

TRANSPOSI ES (ou "Jumping genes"): são sequências de DNA capazes de se replicarem, de se auto-excisarem e de se inserirem numa posi o cromoss mica diferente.

TRANSVERSÃO: Muta o que consiste na substitui o de uma base púrica por uma base pirimídica ou vice-versa.

TRIPLETO: Sequência de três bases da molécula de DNA ou de RNA que codifica para um aminoácido específico.

TRIPLOIDIA: Condi o em que, na espécie humana, estão presentes 69 cromossomas (3n) devido   existência de um conjunto haplóide (n) supranumerário de cromossomas, em vez do número diplóide (2n) (ver "Diplóide" e "Haplóide").

TRISSOMIA: Presença de um cromossoma supranumerário, numa célula ou células de um organismo diplóide. O número de cromossomas   de $2n+1$.

TRISSOMIA PARCIAL: Presença supranumerária de uma determinada extensão de um cromossoma, para a qual se encontram três cópias num indivíduo.

TRONCO COMUM: Pessoa de quem descendem dois indivíduos consanguíneos.

UNIDADES REPETITIVAS ("Tandem repeats"): Série de múltiplas cópias de uma mesma sequência de DNA, dispostas umas a seguir às outras no mesmo cromossoma.

VALOR PREDITIVO (teste genético): O valor preditivo explicita a propor o de indivíduos com doença entre os que têm um resultado positivo para um determinado teste.

VECTOR: Um plasmídeo, fago, cosmídeo, BAC ou YAC, no qual   possível inserir sequências de DNA estranho, para proceder   sua clonagem.

VILOSIDADES (biópsia das): Processo para obten o de células das vilosidades cori nicas destinadas   realiza o de DPN precoce, ou seja entre as 9 e as 12 semanas de gravidez.

VNTRs ("Variable Number of Tandem Repeats"): Polimorfismos de comprimento resultantes do número variável de vezes que uma sequência de DNA se repete. São sequências curtas, com cerca de 20 bp, que se repetem uma a seguir   outra. O comprimento das sequências repetitivas pode variar entre os indivíduos, pelo que, sendo uma condi o herdada de uma forma mendeliana, pode ser usada nos estudos de liga o g nica.

"WESTERN BLOT": Técnica utilizada para transferir proteínas de um gel para um suporte sólido, para detectar proteínas habitualmente por métodos imunológicos.

YAC ("Yeast artificial chromosome"): Cromossoma artificial construido com regiões centroméricas e teloméricas dos cromossomas da levedura, por forma a permitir a inser o de grandes fragmentos de DNA heterólogo (maiores do que 100 kb), mantendo a sua capacidade de replica o.

ZIGOTO: Célula diplóide resultante da fecunda o de um gâmeta feminino haplóide por um gâmeta masculino também haplóide, seguida de fusão dos pr -núcleos.

"ZINC-FINGER" (proteínas): Proteínas implicadas na regula o da transcri o que se ligam ao DNA, por meio de estruturas semelhantes a dedos e que ligam um átomo de zinco.

“ZOO BLOT”: Metodologia usada para identificar sequências de DNA que se tenham conservado ao longo da evolução filogenética. Uma sequência de DNA humano, por exemplo, é utilizada como sonda e posta em condições de hibridação com amostras de DNA de outras espécies animais.

BIBLIOGRAFIA

A. EM LIVRO

- Bhatnagar SM, Kothari ML, Mehta LA. Essentials of Human Genetics, 3ª ed. Bombay: Orient Longman, 1995.
- Bradley J, Johnson D, Rubenstein D. Molecular Medicine, 2ª ed. Oxford: Blackwell Science, 2001.
- Bridge PJ. The Calculation of Genetic Risks, 2ª ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1997.
- Brock DJH. Molecular Genetics for the Clinician. Cambridge: Cambridge University Press, 1993.
- Brown, TA. Genetics, a Molecular Approach, 3ª ed. Cheltenham: Stanley Thornes, 1998.
- Carlson BM. Human Embryology and Developmental Biology. St Louis: Mosby, 1994.
- Carrera JM. Diagnóstico Prenatal. Barcelona: Salvat, 1987.
- Cohen MM. The Child with Multiple Birth Defects, 2ª ed. New York: Oxford University Press, 1997.
- Connor JM, Ferguson-Smith MA. Essential Medical Genetics, 4ª ed. London: Blackwell Scientific, 1993.
- Connor JM, Ferguson-Smith MA. Essential Medical Genetics, 5ª ed. Oxford: Blackwell Science, 1997.
- Cook LM, Callow RS. Genetic and Evolutionary Diversity, 2ª ed. Cheltenham: Stanley Thornes, 1999.
- Cowell JK. Molecular Genetics of Cancer, 2ª ed. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 2001.
- Cox TM, Sinclair J. Molecular Biology in Medicine. Oxford: Blackwell Science, 1997.
- Cummings M. Human Heredity, 5ª ed. Pacific Grove: Brooks/Cole, 2000.
- Darryl M. Ethics and Prenatal Diagnosis. *In*: Genetic Disorders and the Fetus, 4th ed. Milunsky A (ed). Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1998.

- Donnai D, Winter RM. Congenital Malformation Syndromes. London: Chapman & Hall Medical, 1995.
- Elles RA, Ponder BAJ, Easton DF, Horwich A. Genetic Predisposition to Cancer. London: Chapman & Hall Medical, 1996.
- Emery AEH, Rimoin DL. Principles and Practice of Medical Genetics, 3^a ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1996.
- Freireich EJ, Stass SA. Molecular Basis of Oncology. Cambridge: Blackwell Science, 1995.
- Friedman JM, Dill FJ, Hayden MR, McGillivray BC. Genetics. Baltimore: Williams & Wilkins, 1992.
- Gardner RJM, Sutherland GR. Chromosome Abnormalities and Genetic Counselling, 2^a ed. New York: Oxford University Press, 1996.
- Grandjean P. Ecogenetics. London: Chapman & Hall, 1991.
- Harper PS. Practical Medical Counselling, 3^a ed. London: Butterworth-Heinemann, 1993.
- Harper PS. Practical Genetic Counselling, 5^a ed. London: Arnold, 2001.
- Hartl DL, Jones EW. Essential Genetics, 2^a ed. Boston: Jones & Bartlett Publishers, 1999.
- Heim S, Mitelman F. Cancer Cytogenetics, 2^a ed. New York: Wiley-Liss, 1995.
- Horwitz M. Basic Concepts in Medical Genetics. New York: McGraw-Hill, 2000.
- Jameson JL. Principles of Molecular Medicine. Totowa: Humana Press, 1998.
- Jones HL. Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation, 4^a ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1988.
- Jorde LB, Carey JC, Bamshad MJ, White RL. Medical Genetics, 2^a ed. St. Louis: Mosby, 2000.
- L'Héritier P. Dicionário de Genética. Rio de Janeiro: Masson, 1981.
- Lewin B. Genes VI. New York: Oxford University Press, 1997.
- Lewis R. Human Genetics, 5^a ed. Boston: McGraw-Hill, 2003.
- Miesfeld RL. Applied Molecular Genetics. New York: Wiley-Liss, 1999.
- Moore KL, Persaud TVN, Shiota K. Clinical Embryology, 2^a ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2000.
- Mueller RF, Young ID. Emery's Elements of Medical Genetics, 10^a ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1998.
- Muller H, Scott RJ, Weber W. Hereditary Cancer. Basel: Karger, 1996.
- Offit K. Clinical Cancer Genetics. New York: Wiley-Liss, 1998.
- Passarge E. Color Atlas of Genetics, 2^a ed. New York: Thieme, 2001.
- Read A. Medical Genetics, an Illustrated Outline. Philadelphia: Lippincott, 1989.
- Rédei GP. Genetics Manual. Singapore: World Scientific, 1998.
- Regateiro FJ, Silva HA, Lemos MC. Genética e Cancro Ginecológico e da Mama. Coimbra: Serviço de Ginecologia dos HUC, 2002.
- Rieger R, Michaelis A, Green MM. Glossary of Genetics, 5^a ed. Berlin: Springer-Verlag, 1991.
- Robinson A, Linden MG. Clinical Genetics Handbook, 2^a ed. Boston: Blackwell Scientific, 1993.
- Sanders RC. Structural Fetal Abnormalities. St. Louis: Mosby, 1996.

- Saraiva J. Identificação de Factores de Risco e Prevenção das Anomalias Congénitas. Coimbra: Maternidade Bissaya Barreto, 1998.
- Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 7ª ed. New York: McGraw-Hill, 1995.
- Serrão D, Nunes R. Ética em Cuidados de Saúde. Porto: Porto Editora, 1998.
- Shepard TH. Catalog of Teratogenic Agents, 9ª ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1997.
- Solari AJ. Genética Humana. Buenos Aires: Panamericana, 1996.
- Strachan T, Read AP. Human Molecular Genetics, 2ª ed. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1999.
- Tamarin RH. Principles of Genetics, 7ª ed. New York: McGraw-Hill, 2002.
- Thompson JS, Thompson MW. Genética Médica, 3ª ed. Barcelona: Salvat, 1985.
- Tomkins S. Heredity and Human Diversity, 3ª ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1993.
- Trent RJ. Molecular Medicine. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1993.
- Vogel F, Motulsky AG. Human Genetics, 3ª ed. Berlim: Springer-Verlag, 1997.
- Weber W, Laffer U, Durig M. Hereditary Cancer and Preventive Surgery. Basel: Karger, 1990.
- Wiedmann HR, Kunze J. Clinical Syndromes, 3ª ed. Mosby-Wolfe, 1997.
- Yarnold JR, Stratton M, McMillan TJ. Molecular Biology for Oncologists. London: Chapman & Hall, 1996.
- Young ID. Introduction to Risk Calculation in Genetic Counselling. Oxford: Oxford University Press, 1991.

B. EM REVISTAS

- Akli S, Caillaud C, Vigne E, *et al.* Transfer of a foreign gene into the brain using adenovirus vectors. *Nature Genet* 1993, 3: 224-228.
- Albrechtsen N, Dornreiter I, Grosse F, *et al.* Maintenance of genomic integrity by *TP53*: complementary roles for activated and non-activated *TP53*. *Oncogene* 1999, 18: 7706-7717.
- Almeida LM. Alguns métodos de Genética Clínica. *J Médico* 1972, 78: 415.
- Anderson WF. Gene Therapy. *Sci Am* 1995 (September): 96-98B.
- Archer L. Primeira transferência de um gene bacteriano para seres humanos. *Brotéria Genética* 1990, XI (LXXXVI): 5-8.
- Askari FK, McDonnell M. Antisense-oligonucleotide therapy. *N Engl J Med*, 334: 316-318.
- Baltimore D. Our genome unveiled. *Nature* 2001, 409: 814-816.
- Bennett R. Antenatal genetic testing and the right to remain in ignorance. *Theor Med* 2001, 22: 461-471.
- Bork P, Copley R. Filling in the gaps. *Nature* 2001, 409: 818-820.
- Bouvet M, Ellis LM, Nishizaki M, *et al.* Adenovirus-mediated wild-type *TP53* gene transfer down-regulates vascular endothelial growth factor expression and inhibits angiogenesis in human colon cancer. *Cancer Res* 1998, 58: 2288-2292.

- Brigham KL, Stecenko AA. Gene Therapy for acute lung injury. *Intensive Care Med* 2000, 26 (Suppl 1): S119-123.
- Brun RB. Cloning humans? Current Science, current views, and a perspective from Christianity. *Differentiation* 2002, 69: 184-187.
- Calabretta B, Skorski T, Ratajczak MZ, *et al.* Antisense strategies in the treatment of leukemias. *Sem Oncol* 1996, 23: 78-87.
- Caplen NJ, Alton EFWF, Middleton PG, *et al.* Liposome-mediated CFTR gene transfer to the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis. *Nature Med* 1995, 1: 39-46.
- Chakravarti A. To a future of genetic medicine. *Nature* 2001, 409: 822-823.
- Doroana M. Infecções teratogénicas. *Revista Fac Med Lisboa* 2002, III (7): 91-95.
- Freeman SM, Whartenby KA, Freeman JL, *et al.* In situ use of suicide genes for cancer therapy. *Sem Oncol* 1996, 23: 31-45.
- Friend SH, Bernards R, Rogeli S, *et al.* A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature* 1986; 323: 643-646.
- Griesenbach U, Chonn A, Cassady R, *et al.* Comparison between intratracheal and intravenous administration of liposome-DNA complexes for cystic fibrosis lung therapy. *Gene Therapy* 1998, 5: 181-188.
- International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001, 409: 860-921.
- Jaffe A, Bush A, Geddes DM, *et al.* Prospects for gene therapy in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1999, 80: 286-289.
- Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 1999, 21: 163-167.
- Kavanakis E, Traeger-Synodinos J. Preimplantation genetic diagnosis in clinical practice. *J Med Genet* 2002, 39: 6-11.
- Knudson AG. Hereditary cancer, oncogenes, and antioncogenes. *Cancer Research* 1985, 45: 849-858.
- Knudson AG. Mutation and Cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971, 68: 820-823.
- Komarova EA, Diatchenko L, Rokhlin OW, *et al.* Stress-induced secretion of growth inhibitors: a novel tumor suppressor function of *TP53*. *Oncogene* 1998, 17: 1089-1096.
- Mulvihill JJ, Stadler MP. Breast cancer risk analysis and counseling. *Clin Obst Gynecol* 1996, 39: 851-859.
- Sacks J. Ethical issues at the start of life. *Clin Med* 2001, 1: 401-406.
- Saraiva J. Etiologia e recorrência das anomalias congénitas. *Bol Centro Estudos Perinatais* 1990, 2: 17-21.
- Saraiva J. Aconselhamento Genético. *Bol Centro Estudos Perinatais* 1995, 7: 7-10.
- Schmitt FC, Reis Filho JS, Milanezi F, *et al.* Pathologie du cancer héréditaire du sein. *Le Sein* 2001, 11: 296-302.
- Solé MT, Solé F. Estado actual de las técnicas citogenéticas aplicadas al diagnóstico prenatal. *Progr Diagnóstico Prenatal* 1998, 10: 407-413.
- Swisher SG, Roth JA, Nemunaitis J, *et al.* Adenovirus-mediated *TP53* gene transfer in advanced non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999, 91: 763-771.
- Tupler R, Perini G, Green MR. Expressing the human genome. *Nature* 2001, 409: 832-833.

Wells D, Delhanty DA. Preimplantation genetic diagnosis: applications for molecular medicine. *Trends Mol Med* 2001, 7: 23-30.

Wolfsberg TG, McEntyre J, Schuler GD. Guide to the draft human genome. *Nature* 2001, 409: 824-826.

Working Party of the Clinical Genetics Society. The genetic testing of children. *J Med Genet* 1995, 31: 785-797.

Zhang YA, Nemunaitis J, Tong AW. Generation of a ribozyme-adenoviral vector against K-ras mutant human lung cancer cells. *Mol Biotech* 2000, 15: 39-49.

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM™. McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD) and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, MD), 2000. World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>

(Página deixada propositadamente em branco)

ÍNDICE REMISSIVO

- Acatalásia, 219
Acetiltransferases, 216
Ácido fólico, 228
Ácido retinóico, 346
Aconselhamento genético, 290, 417
– etapas, 418
– indicações, 418
– regras básicas, 419
– pré-concepcional, 424
– pré-implantatório, 425
– pré-matrimonial, 423
– pré-natal, 427, 428
Adenosina desaminase (défice), 412
Adenovírus, 407
Aductos, 364
 α -fetoproteína, 293
 α 1-antitripsina (deficiência), 228
Agregação familiar, 109, 141
Alcaptonúria, 204
Álcool, 222, 346
Alcoolismo, 147, 222
Aminoglicosídeos, 211
Amniocentese, 290, 427
Amplificação gênica, 31, 356
Anafase, 236
Androgêneos, 346
Anemia de Fanconi, 65
Aneuploidia, 265
Antiepiléticos (gravidez), 349
– *major*, 338
– *minor*, 338
Anomalia congênita, 337
Antioncogenes, 357
Apoptose, 369
Associação, 340
Ataxia telangiectasia, 65, 367, 391
Atraso mental, 148
Atrofia muscular espinhobulbar, 162
Autonomia, 432
Autossoma, 244
BACs, 82
Bandas, 249
– C, 251
– G, 251
– N, 251
– Q, 251
– R, 251
– T, 251
Bases nucleotídicas, 14
Beneficência, 434
Benzo(a)pireno, 213
 β -hCG livre, 293
Blastocisto, 310
Blastómeros, 310
Braço curto, 245
Braço longo, 245
Brometo de etídio, 85
Bromodeoxiuridina, 235
(CA)n, 46, 74
Cadeia “antisense”, 24

Cadeia "sense", 24
Cadeias de DNA, 16
Cálculo de probabilidades, 192
Calvície, 135
Canais de Müller, 328
Canais de Wolff, 327
Cancro, 149, 377
– da mama hereditário, 390, 392
– do cólon, 146, 387, 393
– doença de genes, 371
– hereditário, 383
– e susceptibilidade individual, 379
Capacidade informacional, 10
Carcinogéneo, 214
Cariótipo, 246
– indicações, 248
Células de Leydig, 327
Células multipotentes, 317
Células neoplásicas, 378
Células pluripotentes, 316
Células totipotentes, 316
Centimorgan, 77
Centrómero, 245
CHARGE, 340
Ciclinas, 238, 361, 366
Ciclo celular, 232, 368
Citogenética, 243, 253
Citomegalovírus, 346
Clonagem, 323
– de DNA, 80
– embrionária, 323
– funcional, 78
– posicional, 78
– reprodutiva, 325
– somática, 323, 438
– terapêutica, 325
Cloroquina, 346
Cocaína, 346
Codão, 27
Código genético, 27
Co-dominância, 112
Coeficiente de consanguinidade, 174
Coeficiente de endocruzamento, 175
Colagéneo, 39
Colchicina, 249
Colesterol, 40
Confidencialidade, 435
Congênito, 107
Conjugação bacteriana, 12
Consanguinidade, 168, 180, 181, 193
Consentimento informado, 386
Consulta de Genética Tumoral, 381
– seguimento de doentes, 384
Cor da pele, 137
Coreia de Huntington, 162
Cosmídeos, 82
Critérios de Amesterdão, 394
Critérios de Bethesda, 394
Cromatina, 36
– de Barr, 321
Cromossoma, 18
– acrocêntrico, 245
– em anel, 259, 272
– Filadélfia, 255, 357
– metacêntrico, 245
– submetacêntrico, 245
Cromossomopatias, 281
"Crossing-over", 42, 240
Curva bimodal, 137
Curva de Gauss, 138
Curva trimodal, 137
CYP450, 213
Debrisoquina hidroxilase, 214
Debrisoquina, 211
Defeitos do tubo neural, 227
Deficiência em G6PD, 119
Deformação, 341
Deleção, 270
– intersticial, 259
– terminal, 260, 271
Deriva genética, 173
Desnaturação do DNA, 17
Diabetes *mellitus*, 149, 345
diacinese, 241
Diagnóstico genético, 422
– pré-implantatório, 425
– pré-natal, 427
Diandria, 264
Dicêntrico, 260
Dietilstilbestrol, 346
Diferenciação,
– gonadal, 326
– sexual masculina, 326
– sexual feminina, 328
Digenismo, 160

Diidrotestosterona, 328
 Diploidia, 264
 Diplóteno, 240
 Dispermia, 264
 Displasia, 342
 Disrupção, 341
 Dissomia uniparental, 161, 265
 Distância genética, 76
 Distrofia miotónica tipo 1, 162
 Distrofia muscular de Duchenne, 122
 – mosaicismo, 195
 Diversidade humana, 41
 DNA, 14
 – B, 17
 – metilação, 35, 321, 359
 – Z, 17
 Doença,
 – bipolar, 152
 – cardíaca coronária, 151
 – das “vacas loucas”, 14
 – de Alzheimer, 150
 – de Charcot-Marie-Tooth, 128
 – de Creutzfeld-Jakob, 13, 133
 – de Gaucher, 209
 – de Machado-Joseph, 162
 – de Tay-Sachs, 424
 – grave, 443
 – multifactorial, 140, 196
 Doenças (distribuição), 105
 Doenças genéticas (características), 106
 Dominância negativa, 59
 Dosagem génica, 58, 263
 Drepanocitose, 171
 Duas mutações (hipótese), 361
 Duplicação, 260, 273

 Ecogenética, 220
 Ecografia fetal, 428
 Embrião, 308, 311
 Embrioblasto, 310
 Emparelhamento assimétrico, 53
 Encefalopatia espongiiforme, 13
 Endocruzamento, 175
 Endogomia, 174
 Endonuclease, 61
 Enzima de restrição, 71, 80
 Epistasia, 134
 Erros inatos do metabolismo, 204

 Espermatócito tipo I, 266
 Espermatogénese, 319
 Esquizofrenia, 153
 Estenose hipertrófica do piloro, 145
 Estreptomina, 346
 Estriol, 293
 ESTs, 90
 Estudos de adopção, 141
 Estudos de associação, 68
 Estudos de famílias, 141
 Estudos populacionais, 140
 Ética, 431
 – médica, 431
 Eucromatina, 18
 Eugenia, 441
 Euploidia, 264
 Exame objectivo, 97
 Exão, 20
 Excisão, 61
 – de bases (BER), 61
 – de nucleótidos (NER), 61, 62
 Expressão génica, 31
 Expressão tardia, 107
 Expressividade variável, 132

 Factores de transcrição, 34, 354
 Familiar, 107
 Farmacogenética, 210
 Favismo, 224
 FCU, 128, 345
 Fenformina, 211
 Fenilalanina hidroxilase, 206
 Fenilalanina, 206
 Fenilalaninémia, 345
 Fenilcetonúria, 206
 Fenobarbital, 211
 Fenocópia, 135
 Fenótipo, 203
 Feto, 308
 Fibrose quística, 117, 178, 413
 FISH, 252, 253
 Fitohemaglutinina, 248
 Fluconazol, 346
 Fosfodiesterase, 61
 Fosforilação, 39, 361, 366
 Fotoliase, 60
 Fracção de recombinação, 76
 Fragmentos de Okazaki, 22

- Frequência alélica, 169, 176
 Frequência genotípica, 177
 Frutose, 225
 Fumo do tabaco, 347
- G6PD (deficiência), 217, 224
 Galactosémia, 226
 Gastrulação, 312
 Gémeos, 321
 – dizigóticos, 142, 322
 – monozigóticos, 142, 322
 – siameses, 322
 Gene(s), 20
 – APC, 387
 – AR, 133
 – BRCA1, 132, 391
 – BRCA2, 391
 – da globina, 49
 – DAX-1, 330
 – de metabolismo, 365
 – de reparação do DNA, 364
 – ERBB2, 353
 – FGFR2, 133
 – FMR1, 163, 421
 – híbridos, 53
 – homeóticos, 314
 – HOX, 315
 – MDM, 361, 368
 – MYC, 355
 – NF1, 20
 – ortólogos, 90
 – parálogos, 90
 – PRNP, 133
 – PTEN, 364
 – RAS, 353
 – RB, 360
 – SHH, 316
 – SOX9, 330
 – SRY, 4, 327, 328
 – suicidas, 414
 – TP53, 31, 59, 362
 – WT1, 36, 37
 Genética de populações, 167
 Genética, 1
 Genoma, 19
 – haplóide, 19, 68
 – humano, 19
 – mitocondrial, 21
 – sequenciação, 5, 87
 Glutaciona S-transferases, 215
 Gonadotrofina coriônica humana, 311
 Grelha de leitura, 24
 Grupos sanguíneos, 44, 134
 Guthrie, 208
- Halotano, 211
 Haplo-insuficiência, 58
 Hardy-Weinberg (equilíbrio), 170, 178
 Hayflick (limite), 371
 Helicase, 22
 Hemizigotia, 108
 Hemocromatose, 227
 Hemofilia A, 179, 200
 Hemoglobina S, 171
 Hereditabilidade, 142, 143
 Hereditariedade, 107
 – autossômica dominante, 111
 – autossômica recessiva, 114
 – dominante ligada ao X, 123
 – ligada ao cromossoma Y, 124
 – mitocondrial, 155, 196
 – multifactorial, 138
 – multifactorial (critérios), 144
 – poligénica, 137
 – recessiva ligada ao X, 119
 Heredograma, 98
 – simbologia, 100
 Hermafroditismo verdadeiro, 332
 Herpes simplex, 347
 Herpes zoster, 347
 Heterocromatina, 18
 Heterocromossomas, 244
 Heterogeneidade alélica, 133
 Heterogeneidade génica, 128
 Heteromorfismos, 244
 Heteroplasma, 155, 196, 323
 Heterozigotia, 108
 – constitucional, 358
 Hibridação, 468
 – de células somáticas, 89
 – genómica comparativa, 254
 – in situ, 89, 251
 Hidantoína, 347
 Hipercolesterolemia familiar, 223, 415
 Hiperplasia congénita da suprarrenal,

Hipertensão arterial, 153
 Hipertermia, 347
 – maligna, 218
 Hipotireoidismo congênito, 208
 História clínica, 94
 – familiar, 93, 96
 – obstétrica, 95
 HLA-B27, 69
 HNPCC, 65, 393
 – prevenção, 395
 – vigilância, 394
 Holoprosencefalia, 297
 Homeobox, 314
 Homocistinúria, 130
 Homoplasma, 155
 Homozigotia, 108

Impressões digitais, 137
 “Imprinting”, 157
 – materno, 157, 158, 159
 – paterno, 157, 159
 Incontinência pigmenti, 126, 199
 Influência do sexo, 135
 Informatividade, 76
 Inibina A, 293
 Inserção, 260
 Insônia familiar mortal, 134
 Instabilidade de microssatélites, 64
 Interação gênica, 133
 Intolerância, 225
 Intrão, 20, 37
 Inversão, 275
 – paracêntrica, 261, 275
 – pericêntrica, 261, 275
 Isocromossoma, 261, 274
 Isodissomia uniparental, 161
 Isolado populacional, 173
 Isoniazida, 211, 218

Justiça, 435

“Knock-out”, 20
 Kuru humano, 14

Lábio leporino/fenda palatina, 146
 Lactase, 225
 “Lagging”, 266
 LDLs, 223

Leptina, 154
 Leptóteno, 239
 Letal genético, 57
 Leucemia linfoblástica aguda, 75
 Leucemia mieloblástica aguda, 255
 Leucemia mielóide crônica, 53, 357
 Ligação gênica, 70, 75
 Limitação ao sexo, 135
 Linfócitos (TILs), 414
 Linfoma folicular, 357
 Linguagem da vida, 28
 Linha, 168
 Lionização, 319
 – assimétrica, 320
 Lipossomas, 404
 Livraria de DNA, 83
 Locus, 108
 Longevidade, 371

Malformação congênita, 342
 – de causa cromossômica, 344
 – de causa materna, 345
 – de causa monogênica, 343
 – de causa multifatorial, 342
 – de causa teratogênica, 345
 Mapeamento físico, 89
 Mapeamento genético, 77
 Meiose, 42, 231, 239, 241
 Melanina, 137
 Mendel, 2
 Mendeliano, 110
 Metafase, 235
 5-metilcitosina, 35
 “Microarray”, 91
 Microcefalia, 135
 Microcromossomas, 356
 Microssatélites, 45
 Migração, 171
 Minissatélites, 45
 “Mismatch repair”, 63
 Mitose, 231, 235, 241
 Mola hidatiforme, 317
 – parcial, 318
 Molécula informacional, 9
 Monossomia, 265
 Morfogênese, 312
 Mosaicismo, 289
 – gonadal, 127, 195

Mosaico, 264
 Mutação, 49, 171
 – “de novo”, 56, 126, 194
 – dinâmica, 52, 162
 – dominante, 57
 – “frameshift”, 52
 – letal, 125
 – letal in útero, 199
 – “missense”, 50
 – nomenclatura, 54
 – “nonsense”, 50
 – patogenicidade, 55
 – pontual, 50, 356
 – por fusão de genes, 53
 – recessiva, 58
 – sinónima, 50
 Mutagénico, 48

 Não-disjunção, 266, 282
 Não-maleficência, 434
 Necrose celular, 369
 “Nested” PCR, 84
 Neurofibromatose tipo I, 130
 Neuropatia óptica hereditária de Leber, 155
 Nidação, 310
 Nitrofurantoína, 211
 Nobel, 7
 Normalidade, 442
 Nortriptilina, 211
 Nucleína, 4
 Nucleossoma, 18

 Obesidade, 154
 “Odds ratio”, 69
 Oligómero, 39
 OMIM, 6
 Oncodemes, 380
 Oncogenes, 355
 Ontogenia, 308
 “Open reading frame”, 24
 Organismo geneticamente modificado, 6
 Osteogenesis imperfecta, 126, 128
 Ovelha “Dolly”, 324
 Ovo, 310

 Paludismo, 172
 Panmixia, 170
 Paquíteno, 240

 Paratíbio, 229
 Passo, 168
 Paternidade extraconjugal, 136
 PCR, 84
 – aplicações, 86
 – vantagem, 86
 – in situ, 254
 Penetrância, 29
 – incompleta, 131, 197, 202
 Perda de heterozigotia, 359
 Peróxido de hidrogénico, 211
 Plasmídeo, 82
 Pleiotropismo, 130
 Polialelismo, 43, 127
 Poligenia, 41
 Polimerase da poli (ADP-ribose), 66
 Polimerase do DNA, 29, 60
 Polimorfismos de DNA, 44
 Polipose cólica familiar, 387, 389
 Poliploidia, 265
 Pontes de hidrogénio, 17
 Porfíria aguda intermitente, 130, 131,
 212, 219
 Pós-tradução, 38
 Prião, 13
 Primaquina, 211, 217
 “Primers”, 84
 Pró-carcinogénico, 214
 Processamento do RNAhn, 36
 Profase, 235
 Progeria, 374
 Projecto do Genoma Humano, 5
 Pruliferação celular, 366
 Promotor, 33
 Proteína(s),
 – G, 39
 – histónicas, 18
 – PrP, 13
 – p105RB, 361, 366
 – p21, 354
 – p34^{CDK}, 238
 Protooncogenes, 352
 Pseudogene, 20
 Pseudo-hermafroditismo feminino, 333
 Pseudo-hermafroditismo masculino, 335
 Pteridium coli, 299
 Puberdade, 331
 Punnett, 112

Quebra cromossômica, 269
 Quimera, 265
 Quimeroplastia, 411

Radiações ionizantes, 347
 Receptor CCR5, 56
 Recombinação de DNA, 78
 – homóloga, 235, 411
 Regiões de coloração homogênea, 356
 Regulação da expressão gênica, 32
 Regulação epigenética, 35
 Reparação do DNA, 60
 Replicação do DNA, 22
 Retinoblastoma, 115, 360
 Retrorregulação, 40
 Retrotransposições, 270
 Retrovírus, 404
 RFLPs, 45, 71
 Ribozima, 25
 Risco, 477
 – absoluto, 188
 – de recorrência, 188, 197, 344
 – de recorrência (Down), 289
 – empírico, 189
 – genético, 187, 190
 – relativo, 188
 RNA, 24
 – heterogêneo, 20
 Rubéola, 347

Segregação independente, 2
 Seleção, 171
 Senescência, 371
 Sequência, 340
 – “antisense”, 409
 – de Potter, 341
 – intensificadora, 33
 – palindrômica, 81
 – promotora, 33
 – silenciadora, 35
 Sexo,
 – cromossômico, 319, 331
 – determinação, 318, 330
 – diferenciação, 327
 – genital, 331
 – gonádico, 331
 – legal, 332
 – psicológico, 331
 – social, 332
 – somático, 331
 Shakespeare, 1
 SIDA, 56
 Sífilis, 347
 Síndrome, 478
 – de Angelman, 271
 – de Apert, 344
 – de Bloom, 65
 – de Cowden, 391
 – de Crouzon, 344
 – de Di George, 316
 – de feminização testicular completa,
 329, 335
 – de feminização testicular incompleta, 336
 – de Hutchinson-Gilford, 374
 – de Klinefelter, 302
 – de Li-Fraumeni, 391
 – de Lynch tipo II, 393
 – de Marfan, 114, 130
 – de Meckel, 344
 – de Muir-Torré, 391
 – de Peutz-Jeghers, 391
 – polimalformativa, 340
 – de Prader-Willi, 271
 – de Turner, 121, 298
 – de Werner, 375
 – do “miar do gato”, 271, 284
 – do “olho do gato”, 272
 – do X-frágil, 163
 – neoplásica mama/ovário, 391
 “Sister chromatid exchange”, 235, 236
 Sítio frágil, 261
 SNPs, 45, 46, 220
 “Southern blotting”, 71
 “Splicing”, 25
 – alternativo”, 36
 “Stem cells”, 401
 STRs, 46, 74
 STS, 90
 Succinilcolina, 211, 217
 Sulfonamidas, 211
 Surdez, 128, 132
 Surfactante, 314

Talidomida, 347
 Talmude, 1
 TATA box, 33

Taxa de mutação, 47
Telocêntrico, 245
Telofase, 237
Telomerase, 373
Telômeros, 245, 372
Teorema de Bays, 200
Terapia gênica, 397, 444
– ex vivo, 401
– in situ, 402
– in vivo, 403
– germinal, 401
– somática, 400
Teratogêneos, 136, 345, 346
Teste de Paigen, 226
Testes genéticos, 446
– e cancro, 383
– em crianças, 450
– predizentes, 447
– pré-implantatórios, 451
– pré-natais, 451
Testosterona, 328
Tetraciclina, 347
Tetrassomia, 265
Toxoplasmose, 347
Tradução do RNAm, 26, 38
Transcrição, 32
– do DNA, 24, 32
Transcriptase inversa, 24
Transdução, 12
Transfeção, 12
Transformação bacteriana, 11
Translocação, 276
– equilibrada, 277
– insercional, 278
– recíproca, 261, 277
– robertsoniana, 262, 277, 289
Transplantação, 75
Triploidia, 265
Trissomia, 265
– 13, 284, 296
– 18, 284, 294
– 21, 283, 284
– livre, 290
– XXX, 305
– XYY, 305
Trofoblasto, 310
Tronco, 168
Tumores hereditários, 383

Valproato de sódio, 347
Varfarina, 347
Variações raras, 44
Varicela, 347
VATER, 340
Vectores, 82
Vírus adeno-associados, 408
Vírus de RNA, 24
Vírus herpes, 408
Vírus HIV, 56
VNTRs, 45, 74

Xeroderma pigmentosum, 62, 65
YACs, 82

Zigóteno, 239
Zigoto, 310

(Página deixada propositadamente em branco)

Série
Ensino

•

Imprensa da Universidade de Coimbra
Coimbra University Press

2007

