

HERANÇAS LIGADAS AO SEXO E MITOCONDRIAL

O capítulo anterior tratou dos genes de doenças localizados nos 22 autossomos. Neste capítulo discutimos os genes de doenças localizados nos cromossomos sexuais e nas mitocôndrias. O cromossomo X humano é um cromossomo grande, contendo cerca de 5% do DNA do genoma nuclear (aproximadamente 160 milhões de pares de bases, ou 160 Mb). Mais de 700 genes codificantes foram localizados no cromossomo X. Doenças causadas por genes desse cromossomo são ditas **ligadas ao X**. A maioria das doenças ligadas ao X é recessiva, embora existam poucas doenças ligadas ao X dominantes. Em contraste com o cromossomo X, o cromossomo Y é muito pequeno (70 Mb) e contém muito poucos genes. Mais de uma dúzia de doenças são agora sabidamente causadas por mutações no DNA mitocondrial; elas são discutidas no final deste capítulo.

INATIVAÇÃO DO X

Já se sabe há muito tempo que nos seres humanos o sexo feminino possui dois cromossomos X, enquanto o sexo masculino possui apenas um. Também já se sabe há muito tempo que o cromossomo X contém muitos genes codificantes de proteínas importantes. Portanto, as mulheres possuem duas cópias de cada gene ligado ao X, enquanto os homens possuem apenas uma. Entretanto, homens e mulheres não diferem em termos dos produtos (p. ex., níveis de enzima) codificados pela maioria desses genes. O que seria responsável por isso?

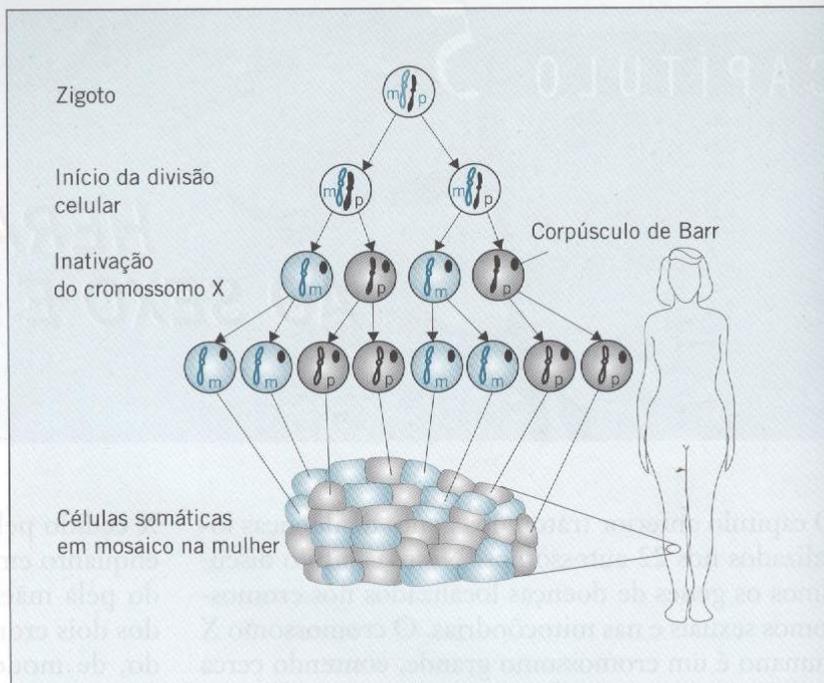
No início da década de 1960, Mary Lyon formulou a hipótese de que um cromossomo X em cada célula somática de uma fêmea é inativado. Isso resultaria em **compensação de dose**, uma equalização dos produtos gênicos ligados ao X em homens e mulheres. A **hipótese de Lyon** estabeleceu que a inativação do X ocorre muito cedo no desenvolvimento embrionário da fêmea, e que o cromossomo

X cedido pelo pai é inativado em algumas células, enquanto em outras células o cromossomo X cedido pela mãe é inativado. Cada célula escolhe um dos dois cromossomos X ao acaso para ser inativado, de modo que os cromossomos X de origem materna e paterna irão cada um ser inativado em cerca de metade das células do embrião. Assim, a inativação, da mesma forma que a transmissão de gametas, é análoga a um experimento de lançamento de moeda. Uma vez que o cromossomo X é inativado na célula, ele permanecerá inativo em todas as células descendentes dela. Diz-se que a inativação do X é, desse modo, determinada ao acaso, mas *fixa*. Como resultado da inativação do X, todas as mulheres normais possuem duas populações distintas de células. Uma população possui um cromossomo X de origem paterna ativo e outra possui um cromossomo X de origem materna ativo. (A Fig. 5.1 mostra um resumo desse processo.) Com duas populações de células, as mulheres são mosaicos (veja o Capítulo 4) para o cromossomo X. Os homens, possuindo apenas uma cópia do cromossomo X, não são mosaicos, mas são **hemizigotos** para o cromossomo X (*heme* = “metade”).

■ A hipótese de Lyon estabelece que um cromossomo X em cada célula é inativado ao acaso, no início do desenvolvimento embrionário das fêmeas. Isso garante que as fêmeas, que possuem duas cópias do cromossomo X, vão fabricar produtos gênicos ligados ao X em quantidades aproximadamente semelhantes àsquelas produzidas nos machos (compensação de dose).

A hipótese de Lyon contou com vários fragmentos de evidências, a maioria das quais foi derivada de estudos em animais. Primeiramente, já era conhecido que as fêmeas são tipicamente mosaicos para algumas características ligadas ao X, enquanto os machos não são. Por exemplo, os camundongos fêmeas que são heterozigotos para certos genes de cor do pêlo liga-

FIGURA 5.1 ■ O processo de inativação do X. Os cromossomos X materno (m) e paterno (p) são ambos ativos no zigoto e nas primeiras células embrionárias. A inativação do X então ocorre, resultando em células que possuem ou o cromossomo X paterno ativo ou o cromossomo X materno ativo. As mulheres são, portanto, mosaicos cromossômicos para X, como mostrado na amostra de tecido na parte inferior da figura.



dos ao X exibem um pêlo malhado, enquanto os camundongos machos não. Um exemplo semelhante é dado pelas “gatas calico”. Essas fêmeas possuem manchas alternadas pretas e alaranjadas no pêlo que correspondem a duas populações de células: uma que contém cromossomos X, nos quais o alelo “alaranjado” é ativo, e outra que contém cromossomos X nos quais o alelo “preto” está ativo. Os machos dessa raça não exibem cores alternadas. Um exemplo final, visto em humanos, é o albinismo ocular ligado ao X. Essa é uma condição recessiva ligada ao X caracterizada pela ausência da produção de melanina na retina e por problemas oculares, tais como nistagmo (movimentos rápidos e involuntários dos olhos) e acuidade visual diminuída. Os homens que herdam a mutação mostram uma ausência uniforme de melanina em suas retinas, enquanto as mulheres heretozigotas exibem placas alternadas de tecido pigmentado e não-pigmentado (veja a Prancha Colorida 3).

A hipótese de Lyon também foi sustentada por evidências bioquímicas. A enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) é codificada por um gene no cromossomo X e está presente em iguais quantidades em homens e mulheres (compensação de dose). Em mulheres que são heterozigotas para dois alelos G6PD comuns (denominados *A* e *B*), algumas células da pele produzem apenas a variante *A* da enzima, e outras produzem apenas a variante *B*. Isso é uma prova adicional do mosaicismo do cromossomo X nas mulheres.

Finalmente, estudos citogenéticos na década de 1940 mostraram que células de gatas em interfase freqüentemente continham uma massa de cromati-

na densamente corada em seus núcleos (Fig. 5.2). Essas massas nunca tinham sido vistas nos machos. Elas foram chamadas **corpúsculos de Barr**, em alusão a Murray Barr, um dos cientistas que a descreveram. Barr e seu colega, Ewart Bertram, formularam a hipótese de que o corpúsculo de Barr representava um cromossomo X altamente condensado. Hoje se sabe que Barr e Bertram estavam corretos, e que o cromossomo X inativo é observável como um corpúsculo de Barr nas células somáticas das fêmeas normais. Seu estado condensado reflete o fato de que seu DNA se replica mais tardiamente na fase S do que aquele dos outros cromossomos.

■ A hipótese de Lyon é sustentada por evidências citogenéticas: os corpúsculos de Barr, que são cromossomos X inativos, são vistos apenas em células com dois ou mais cromossomos X. Ela também é apoiada em estudos bioquímicos e em animais que revelaram o mosaicismo das características ligadas ao X em fêmeas heterozigotas.

Estudos posteriores confirmaram amplamente a hipótese de Lyon. O RNA mensageiro (mRNA) é transcrito a partir de somente um cromossomo X em cada célula somática de uma fêmea normal. O processo de inativação ocorre dentro de aproximadamente sete a 10 dias após a fertilização, quando a massa de células embrionárias contém não mais do que poucas dezenas de células. A inativação é iniciada em uma única região de 1 Mb no braço longo do cromossomo X, denominada **centro de inativação do X**, e então se estende ao longo do cromossomo. Embora a inativação seja ao acaso entre as células

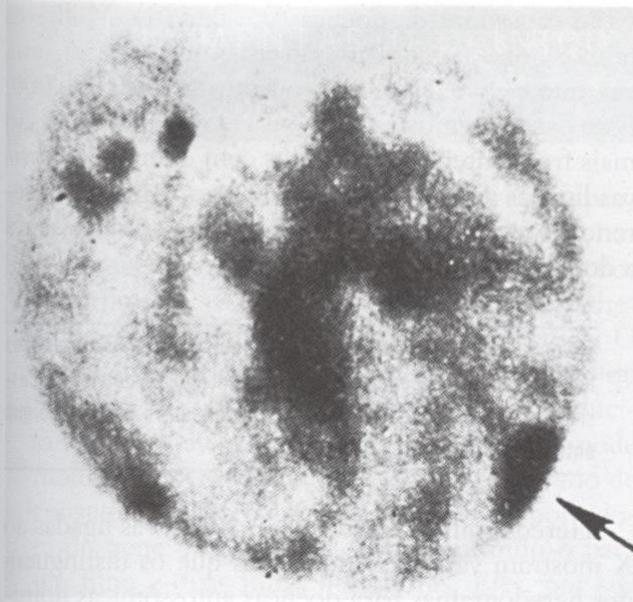


FIGURA 5.2 ■ Um corpúsculo de Barr, que corresponde ao cromossomo X inativo, é visível como uma massa de cromatina densamente corada no núcleo de interfase de uma célula somática de uma mulher normal. Ferramentas baseadas no DNA suplantaram hoje em dia os testes de corpúsculo de Barr como um recurso de determinação do sexo.

que compõem o embrião em si, apenas o cromossomo X de origem paterna é inativado nas células que se tornarão tecidos extra-embriônicos (p. ex., a placenta). A inativação do X é permanente para todas as células somáticas na mulher, mas o cromossomo X inativo deve vir a ser reativado nas células germinativas da mulher, de modo que cada óvulo receba uma cópia ativa do cromossomo.

Uma implicação importante da hipótese de Lyon é que o número de corpúsculos de Barr em células somáticas é sempre um a menos do que o número de cromossomos X. Mulheres normais possuem um corpúsculo de Barr em cada célula somática, enquanto homens normais não possuem nenhum. Mulheres com síndrome de Turner (veja o Capítulo 6), possuindo apenas um cromossomo X, não têm corpúsculos de Barr. Homens com síndrome de Klinefelter (dois cromossomos X e um cromossomo Y) possuem um corpúsculo de Barr em suas células somáticas, e mulheres que possuem três cromossomos X por célula têm dois corpúsculos de Barr em cada célula somática. Esse padrão leva a um outro questionamento: se os cromossomos X extras são inativados, porque as pessoas com um cromossomo X extra (ou ausente) não são fenotipicamente normais?

A resposta para essa questão é que a inativação do X é *incompleta*. Algumas regiões do cromossomo X permanecem ativas em todas as cópias. Particularmente, as pontas dos braços curtos e longos do cromossomo X não sofrem inativação. A ponta do

braço curto do cromossomo X é altamente homóloga ao braço curto distal do cromossomo Y (veja o Capítulo 6). Outras regiões que escapam à inativação incluem aquelas que contêm os genes para a esteróide sulfatase, o grupo sanguíneo Xg e a síndrome de Kallman (um distúrbio que causa hipogonadismo e incapacidade de perceber odores). Estudos recentes indicam que cerca de 15% dos genes do cromossomo X podem escapar à inativação: relativamente, escapam à inativação do X mais genes no braço curto do que no braço longo. Alguns dos genes ligados ao X que escapam à inativação possuem homologia no cromossomo Y, preservando a dosagem gênica igual em homens e mulheres. Assim, possuir cópias extras (ou ausentes) de porções ativas do cromossomo X contribui para anomalia fenotípica.

■ A inativação do X é, ao acaso, fixa e incompleta. O último fato ajuda a explicar por que, apesar da inativação do X, a maioria dos indivíduos com números anormais de cromossomos sexuais não é fenotipicamente normal.

O centro de inativação do X contém pelo menos um gene necessário para a inativação, o *XIST*. Como esperado, o *XIST* é transcrito apenas no cromossomo X inativo, e seus transcritos de mRNA de 17 kb são detectados em mulheres normais, mas não em homens normais. O transcrito de RNA, entretanto, não é traduzido em uma proteína. Em vez disso, ele permanece no núcleo e cobre o cromossomo X inativo. Esse processo de cobertura pode agir como um sinal que leva a outros aspectos da inativação, incluindo a posterior replicação e a condensação do cromossomo X inativo.

Metilação e desacetilação da histona são características do cromossomo X inativo. Muitos dinucleotídeos CG nas regiões 5' dos genes no X inativo são maciçamente metilados, e a administração de agentes desmetilantes, tais como 5-azacitidina, pode reativar parcialmente um cromossomo X inativo *in vitro*. Entretanto, a metilação não parece estar envolvida na disseminação do sinal de inativação a partir do centro de inativação para o restante do cromossomo X. É mais provável que ela seja responsável pela manutenção da inativação de um cromossomo X específico em uma célula e todas as suas descendentes.

■ Um gene *XIST* está localizado no centro de inativação do X e é necessário para a inativação do X. Ele codifica um produto de RNA que cobre o cromossomo X inativo. A inativação do X está também associada à metilação do cromossomo X inativo, um processo que pode ajudar a assegurar a estabilidade da inativação no longo prazo.

HERANÇA LIGADA AO SEXO

Genes ligados ao sexo são aqueles que estão localizados tanto no cromossomo X quanto no cromossomo Y. Como são conhecidas apenas poucas dezenas de genes localizados no cromossomo Y humano, nossa atenção será focalizada principalmente nas doenças ligadas ao X.

Herança Recessiva Ligada ao X

Várias doenças e características bem conhecidas são causadas por genes recessivos ligados ao X. Estas incluem hemofilia A (Comentário Clínico 5.1), distrofia muscular Duchenne (Comentário Clínico 5.2) e daltonismo vermelho-verde (Quadro 5.1). Os padrões de herança e os riscos de recorrência para doenças recessivas ligadas ao X diferem substancialmente daqueles para doenças causadas por genes autosômicos.

Como as mulheres herdam duas cópias do cromossomo X, elas podem ser homozigotas para um alelo de doença em um dado locus, heterozigotas ou homozigotas para o alelo normal no locus. Nas mulheres, uma característica recessiva ligada ao X se comporta muito como uma característica autosômica recessiva. Entretanto, apenas um cromossomo X é ativo em cada célula somática individualmente. Isso significa que cerca de metade das células em uma mulher heterozigota expressará o alelo da doença, e metade expressará o alelo normal. Dessa forma, assim como nas características autosômicas recessivas, a heterozigota produzirá cerca de 50% do nível normal do produto gênico. Geralmente isso é suficiente para um fenótipo normal. A situação é diferente para os homens, que são hemizigotos para o cromossomo X. Se um homem herda um gene de doença recessiva no cromossomo X, ele será afetado pela doença porque o cromossomo Y não porta um alelo normal para compensar os efeitos do gene de doença.

Uma doença recessiva ligada ao X com frequência gênica q será vista em uma proporção q de homens. Isso é porque um homem, possuindo apenas um cromossomo X, manifestará a doença se o seu cromossomo X contiver a mutação causadora da doença. As mulheres, necessitando duas cópias do alelo mutante para expressar a doença, terão uma frequência de doença de apenas q^2 , como nas doenças autosômicas recessivas. Por exemplo, a hemofilia A (hemofilia “clássica”; veja o Comentário Clínico 5.1) é vista em cerca de um a cada 10.000 homens. Assim, em um conjunto de 10.000 cromossomos X masculinos, um cromossomo conterá a mu-

tação causadora de doença ($q = 0,0001$). Mulheres homozigotas afetadas não são vistas quase nunca, uma vez que $q^2 = 0,00000001$, ou um em 100.000.000. Esse exemplo mostra que, em geral, os homens são mais frequentemente afetados com doenças recessivas ligadas ao X do que as mulheres, com essa diferença se tornando mais pronunciada quanto mais rara a doença.

■ Como as mulheres possuem duas cópias do cromossomo X e os homens possuem apenas uma cópia (hemizigose), doenças recessivas ligadas ao X são muito mais comuns entre homens do que entre mulheres.

Heredogramas para doenças recessivas ligadas ao X mostram várias características que os distinguem dos heredogramas para doenças autossômicas dominantes e recessivas (Fig. 5.5). Como previamente mencionado, a característica é vista muito mais frequentemente em homens do que em mulheres. Uma vez que o pai pode transmitir apenas o cromossomo Y para seu filho, os genes ligados ao X não são passados de pai para filho. (Em contraste, a transmissão pai-filho pode ser observada para os genes de doenças autossômicas.) Um alelo de doença ligado ao X pode ser transmitido através de uma série de mulheres heterozigotas fenotipicamente normais, causando a aparência de “salto” de gerações. O gene é passado de um pai afetado para todas as suas filhas, que, como portadoras, transmitem-no para aproximadamente metade de seus filhos homens, que são afetados.

■ A herança recessiva ligada ao X é caracterizada por uma ausência de transmissão pai-filho, “salto” de gerações quando os genes são passados através de mulheres portadoras, e uma preponderância de homens afetados.

O tipo mais comum de casamento envolvendo genes recessivos ligados ao X é a combinação de uma mulher portadora e um homem normal. A mulher portadora transmitirá o gene da doença para metade de seus filhos e metade de suas filhas. Como mostra a Fig. 5.6, metade das filhas de tal casamento será portadora, enquanto metade será normal (em média). Metade dos filhos será normal, enquanto metade, em média, terá a doença.

Um outro tipo de casamento comum é um pai afetado e uma mãe normal (Fig. 5.7). Aqui, todos os filhos homens devem ser normais, uma vez que o pai pode transmitir apenas seu cromossomo Y para eles. Como todas as filhas devem receber o cromossomo X do pai, elas serão todas portadoras heterozigotas. Nenhuma das crianças manifestará a doença, entre-