

em genes seriam letais. Síndromes de genes contíguos, semelhantes às descritas para o X, são muito menos comuns com autossomos em função do equilíbrio fornecido pelo cromossomo normal (Figura 13.21B). A síndrome de Langer-Giedon (síndrome tricorriofalangeana, tipo II; OMIM 150230) é um exemplo raro.

- **Síndromes de aneuploidia segmentar** são um tipo especial de síndrome de genes contíguos, a qual regularmente ocorre com um fenótipo bem conhecido. Os exemplos incluem as síndromes Williams-Beuren (OMIM 194050), Prader-Willi (OMIM 176270), Angelman (OMIM 105830), Smith-Magenis (OMIM 182290) e DiGeorge/velocardiofacial (OMIM 188400/192430) (ver Tabela 13.2). Todas essas síndromes possuem deleções produzidas por NAHR entre repetições com baixo número de cópias que flanqueiam a região em questão. A NAHR também irá produzir duplicações dessas regiões, embora essas possam não ser patogênicas. O exemplo das síndromes de Prader-Willi e Angelman (ver Figura 11.20, p. 367) envolve uma região de *imprinting*, o que complica o fenótipo, mas o mesmo mecanismo produz as outras síndromes mencionadas. Assim como em outras síndromes de genes contíguos, o fenótipo depende de efeitos de dose de mais de um gene e não é visto nas pessoas com mutação de ponto em apenas um dos genes. A síndrome de Williams-Beuren é um exemplo típico. Os pacientes são heterozigotos para a deleção de 1,5 Mb no cromossomo 7q11.23 que remove cerca de 20 genes. Foram descritos casos apresentando deleções menores, mas não foi encontrado nenhum caso típico com apenas um gene deletado ou mutado.

Algumas outras síndromes recorrentes são produzidas por deleções terminais aleatórias em cromossomos nos quais um gene sensível à dose se localiza próximo aos telômeros. São exemplos as síndromes de Wolf-Hirschhorn (OMIM 194190) e *Cri-du-chat* (OMIM 123450). Na síndrome de Miller-Dieker (Lisencefalia; OMIM 247200), deleções terminais aleatórias no braço curto do cromossomo 17p podem remover um ou mais genes sensíveis à dose, produzindo uma síndrome de deleção de genes contíguos.

### 13.4 PATOLOGIA MOLECULAR: ENTENDENDO O EFEITO DAS VARIANTES

Para o aconselhamento genético e para análise de *pedigree*, os alelos são simplesmente designados como *A* e *a*, com a letra maiúscula indicando o alelo cujo efeito é dominante. Este é o nível apropriado de descrição para tais propósitos. No entanto, para patologia molecular, precisa-se olhar mais atentamente. Quando se descreve o genótipo de um portador de fibrose cística como *Aa*, representa-se como *a* qualquer sequência do gene *CFTR* que seja mutada de modo que não produza um canal de cloro funcional. Mais de 1.500 alelos distintos foram descritos com esse perfil. De modo similar, *A* significa qualquer sequência que funcione suficientemente bem de modo a não causar uma doença – ela não precisa funcionar perfeitamente, apenas bem o suficiente para evitar problemas visíveis. A real sequência de DNA dos alelos *A* em pessoas não relacionadas não necessariamente será 100% idêntica.

#### A grande distinção na patologia molecular ocorre entre as mudanças de perda e de ganho de função

Para a patologia molecular, o que importa não é a sequência de um mutante, mas seu efeito. Conhecer a sequência de um alelo mutante é importante para testes genéticos, mas para a patologia molecular precisa-se saber o que o alelo faz ou deixa de fazer. Um gene mutado pode apresentar todos os tipos de efeitos sutis sobre o organismo, mas uma questão inicial valiosa é se ele produz perda ou ganho de função:

- Nas **mutações de perda de função** o produto apresenta função reduzida ou ausente.
- Nas **mutações de ganho de função** o produto realiza algo positivamente anormal.

Inevitavelmente, algumas mutações não podem ser facilmente classificadas em nenhuma das categorias. Um canal de íon permanentemente aberto perdeu a função de fechamento ou ganhou a função de abertura inapropriada? O produto de um gene mutante que interfere na função do alelo normal em um heterozigoto não só perdeu sua função normal, como também ganhou uma nova função danosa. Uma mutação pode alterar o balanço entre diversas funções ou produtos de um gene. No entanto, a distinção entre perda ou ganho de função é a primeira ferramenta essencial quando se pensa em patologia molecular.

O modo de herança fornece uma pista da patologia molecular subjacente. Se existe um ganho de função, a presença de um gene normal não deve prevenir o comportamen-

to anormal do alelo mutante. A função anormal seria vista em uma pessoa heterozigota e seria esperado, portanto, que o fenótipo fosse dominante. Por exemplo, tanto a doença de Huntington como a distrofia miotônica são dominantes. Para fenótipos de perda de função, o quadro é menos evidente. Para a maioria dos produtos gênicos a quantidade exata não é crucial, de modo que se pode manter a função com apenas metade da quantidade normal.

Portanto, a maioria das mutações de perda de função produz fenótipos recessivos. Por exemplo, a maior parte dos erros inatos do metabolismo é recessiva. No entanto, condições de perda de função podem ser dominantes se houver uma haploinsuficiência ou um efeito dominante negativo, conforme descrito a seguir.

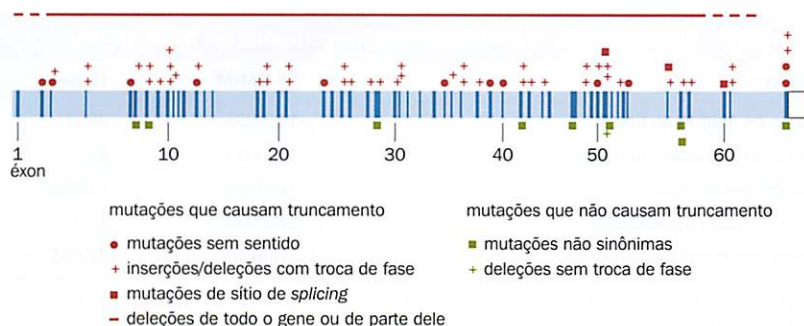
### Heterogeneidade alélica é uma característica comum em fenótipos de perda de função

Existem várias maneiras de reduzir ou eliminar a função de um produto gênico. Quando um fenótipo clínico resulta da perda de função de um gene, seria esperada *qualquer* mudança que inativasse o produto gênico, produzindo o mesmo resultado clínico. O ganho de função, por outro lado, é um fenômeno bastante específico. Provavelmente apenas uma mudança muito específica em um gene pode causar o ganho de função. Portanto, a queda da heterogeneidade alélica é outro forte indicativo da patologia molecular subjacente, ainda que esteja longe de ser infalível. Por exemplo, entre as doenças causadas por repetições instáveis de trinucleotídeos (ver Tabela 13.1), a síndrome do X frágil (OMIM 300624) e a ataxia de Friedreich (OMIM 229300) são ocasionalmente causadas por outros tipos de mutações nos seus respectivos genes, apontando para a perda de função, enquanto a doença de Huntington e a distrofia miotônica nunca são vistas com outro tipo de mutação, sugerindo o ganho de função.

Quando um fenótipo clínico resulta da perda de função de um gene, deveria-se ser capazes de encontrar mutações de ponto que possuam o mesmo efeito como deleção ou ruptura do gene. Por exemplo, o gene mutado na ataxia-telangiectasia (*ATM*), no cromossomo 11q23, codifica uma proteína com 3.056 aminoácidos de comprimento, a qual é envolvida na detecção de DNA danificado. Quando o dano é detectado, a *ATM* fosforila proteínas a jusante, o que aciona o processo de reparo. Pacientes com ataxia-telangiectasia são deficientes na reparação de dano ao DNA. Pacientes diferentes apresentam uma ampla variedade de mutações do gene *ATM*. Na maioria dos casos, são pequenas inserções/deleções com troca de fase de leitura, mas também ocorrem mutações sem sentido, mutações de sítio de *splicing*, algumas mutações não sinônimas e ocasionais deleções de grande porte (Figura 13.22). Claramente, a causa da ataxia-telangiectasia é a perda da função de ambas as cópias do gene *ATM*.

### Mutações de perda de função produzem fenótipos dominantes quando há haploinsuficiência

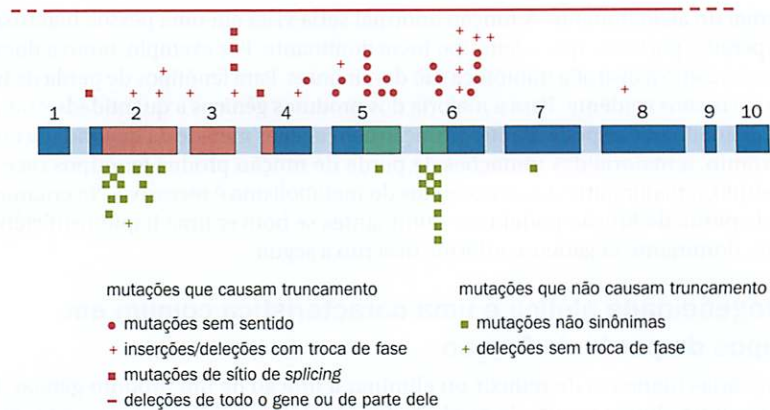
Conforme mencionado, para a maioria dos produtos gênicos a quantidade precisa não é crucial. A maioria das mutações de perda de função produzem fenótipos recessivos, o que significa que uma pessoa que possui apenas uma cópia funcional do gene será fenotipicamente normal. Em alguns casos, no entanto, 50% dos níveis normais não são suficientes para a função normal. Pessoas heterozigotas para uma mutação de perda de função apresentam um fenótipo herdado como um traço dominante. Isso é chamado **haploinsuficiência**. A síndrome de Waardenburg do tipo I (OMIM 193500: perda de audição e anomalias de pigmentação) fornece um exemplo. Conforme a Figura 13.23 apresenta, mutações



**Figura 13.22** O espectro de mutações no gene *ATM* em pacientes com ataxia-telangiectasia. A grande variedade de mutações, cuja maioria produziria um produto gênico truncado, mostra que esta doença recessiva é causada pela perda de função do gene *ATM*. [Dados relatados em Li A & Swift M (2000) *Am. J. Med. Genet.* 92, 170-177. Com a permissão de Wiley-Liss, Inc, uma subsidiária de John Wiley & Sons, Inc.; e de Esembl e OMIM.]

**Figura 13.23** Mutações de perda de função no gene *PAX3* em pacientes com a síndrome de Waardenburg do tipo I.

Um amplo espectro de mutações que causam e que não causam truncamento é identificado, de modo similar aos dados apresentados para o gene *ATM* na Figura 13.21. Trocas não sinônimas são concentradas nas duas áreas sombreadas que codificam importantes domínios funcionais de ligação ao DNA (laranja, domínio pareado; verde, homodomínio) da proteína *PAX3*. Embora a doença seja dominante, os dados na figura indicam que a causa deve ser a perda de função do gene *PAX3*. Isto é, portanto, um exemplo de haploinsuficiência.



causais no gene *PAX3* incluem substituições de aminoácidos, trocas de fase, mutações de *splicing* e, em alguns pacientes, deleção completa do gene. Como todos esses eventos produzem o mesmo resultado clínico, sua causa deve ser uma perda de função do gene *PAX3*. No entanto, a síndrome de Waardenburg é dominante, ou seja, é um exemplo de haploinsuficiência. A Tabela 13.3 enumera alguns outros exemplos.

Seria razoável perguntar por que deveria haver haploinsuficiência para *qualquer* produto gênico. Por que a seleção natural não gerenciou isso de uma maneira melhor? Se um gene é expresso de modo que duas cópias fazem apenas a quantidade necessária do produto, a seleção por variantes com níveis mais elevados de expressão deveria levar à evolução de um organismo mais robusto, sem nenhum custo evidente a ser pago por isso. A resposta é que na maioria dos casos isso de fato aconteceu – o que explica por que relativamente poucos genes são sensíveis a efeitos de dose. Existem alguns casos nos quais a célula com apenas uma cópia funcional do gene não pode suprir a demanda de um produto gênico que é necessário em grandes quantidades. Um exemplo pode ser a elastina. Em pessoas heterozigotas para uma deleção ou mutações de perda de função do gene da elastina, tecidos que necessitam apenas moderadas quantidades de elastina (p. ex., pele e pulmões) não são afetados, mas a aorta, onde muito mais elastina é requerida, geralmente apresenta uma anormalidade, a estenose aórtica supravaricular (OMIM 185500). Contudo, certas funções gênicas são inerentemente sensíveis a efeitos de dose. Estas incluem:

- produtos gênicos que são parte de um sistema de sinalização quantitativo cuja função depende da ocupação de um receptor ou de um sítio de ligação ao DNA, por exemplo;
- produtos gênicos que competem entre si para determinar uma mudança no desenvolvimento ou no metabolismo;
- produtos gênicos que cooperam em interações com estequiometria fixa (tal como as  $\alpha$ - e  $\beta$ -globinas ou muitas proteínas estruturais).

Em cada caso, o produto gênico é titulado contra algo mais na célula. O que importa não é o nível absoluto do produto gênico, mas o correto nível relativo dos produtos que interagem. Os efeitos são sensíveis a mudanças em todos os parceiros envolvidos; portanto, estas condições dominantes frequentemente apresentam expressão altamente variável. Genes cujos produtos atuam essencialmente sozinhos, tal como muitas enzimas solúveis do metabolismo, raramente apresentam efeitos de dose.

**TABELA 13.3** Exemplos de fenótipos provavelmente causados por haploinsuficiência

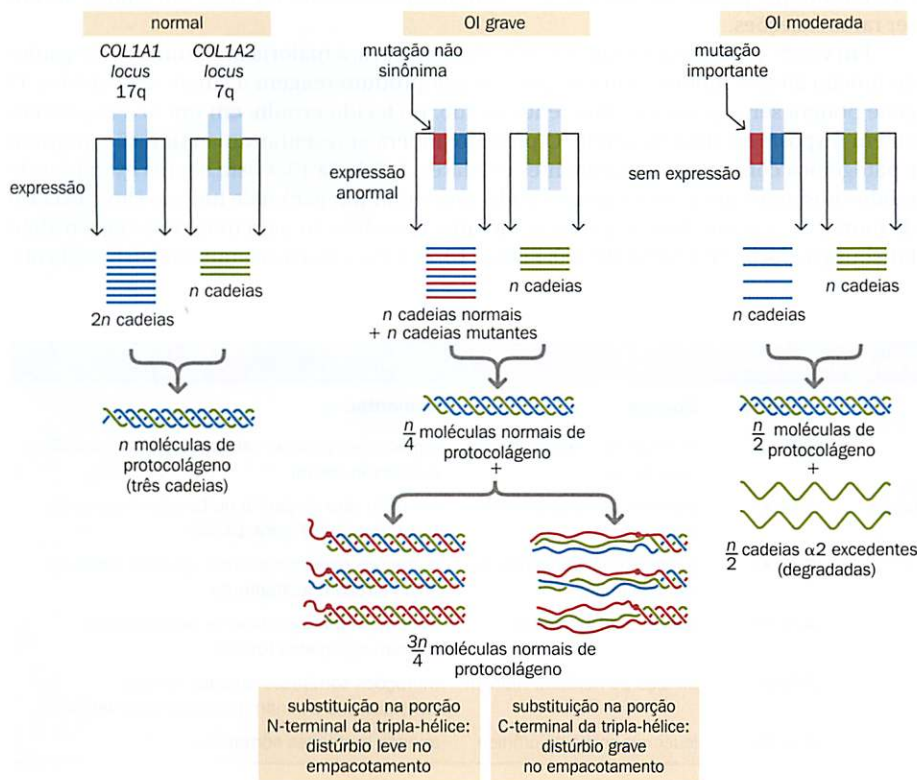
Condição	Nº OMIM	Gene <sup>a</sup>
Síndrome de Alagille do tipo 1	118450	<i>JAG1</i>
Síndrome da exostose múltipla do tipo 1	133700	<i>EXT1</i>
Neuropatia tomaculosa	162500	<i>PMP22</i>
Estenose aórtica supravaricular	185500	<i>ELN</i>
Síndrome tricorriñofalangiana tipo 1	190350	<i>TRPS1</i>

<sup>a</sup> Indivíduos com um alelo de perda de função são afetados, pois o produto de uma única cópia funcional não é suficiente para o funcionamento ou desenvolvimento normais.

### O efeito dominante negativo ocorre quando um produto gênico mutado interfere na função do produto normal

Efeitos dominantes negativos fornecem outra razão pela qual algumas mutações de perda de função produzem fenótipos dominantes. Efeitos dominantes negativos são vistos apenas em heterozigotos, nos quais causam efeitos mais graves que simples alelos nulos do mesmo gene. Uma pessoa heterozigota para todas as mutações nulas de um gene ainda terá 50% do nível normal de função, pois ainda possui um alelo normal. Contudo, se o produto do alelo mutado, além de ser não funcional, também interferir com a função do alelo normal, existirá uma atividade residual inferior a 50%. O mecanismo NMD (*nonsense-mediated decay*; ver p. 418) provavelmente evoluiu como uma proteção contra possíveis efeitos dominantes negativos de proteínas truncadas anormais: pode ser melhor não possuir o produto de um gene mutado do que possuir um produto anormal. Proteínas que constituem estruturas multiméricas são particularmente vulneráveis a efeitos dominantes negativos. O colágeno fornece um exemplo clássico.

Colágenos fibrilares, as principais proteínas estruturais do tecido conectivo, são formados por uma tripla-hélice de cadeias polipeptídicas, podendo ser homotrímeros ou heterotrímeros, as quais são montadas em arranjos cruzados fortemente empacotados, formando fibras rígidas. Nas cadeias polipeptídicas recém-sintetizadas (pré-pró-colágeno), pró-peptídeos N- e C-terminais flanqueiam uma sequência regular repetitiva (Gly-X-Y)<sub>n</sub>, em que X e Y são aminoácidos variáveis, sendo que pelo menos um deles frequentemente é uma prolina. Três cadeias de pré-pró-colágeno associam-se para formar uma tripla-hélice sob controle do pró-peptídeo C-terminal. Após a formação da tripla-hélice, os pró-peptídeos N- e C-terminais são removidos. Mutações que substituem a glicina por qualquer outro aminoácido normalmente apresentam forte efeito dominante negativo por desfazerem o empacotamento da tripla-hélice. As mutações não sinônimas (*missense*) no colágeno tipo I são responsáveis pelas formas mais graves de osteogênese imperfeita (*brittle bone disease* ou *osteogenesis imperfecta* tipo IIA; OMIM 166210), em função destes efeitos dominantes negativos. Nos heterozigotos, os polipeptídeos mutados de colágeno associam-se a cadeias normais, mas acabam impedindo a formação da tripla-hélice. Isso pode reduzir para menos de 50% a disponibilidade de colágeno funcional. Seria de se esperar que mutações nulas no mesmo gene causassem efeitos mais graves, mas na verdade causam uma doença mais branda. A simples ausência de um colágeno é menos danosa que a presença de cadeias anormais (Figura 13.24).



**Figura 13.24 Efeito dominante negativo de mutações no gene do colágeno.** Fibras de colágeno são construídas por arranjos cruzados de unidades da tripla-hélice de protocógeno. O protocógeno do tipo I compreende duas cadeias codificadas pelo gene *COL1A1*, e uma codificada pelo gene *COL1A2*. Na tripla-hélice, cada cadeia polipeptídica consiste em unidades repetidas (Gly-X-Y)<sub>n</sub>. Na *osteogenesis imperfecta* do tipo IIA (OI; OMIM 166210), mutações que substituem a glicina por qualquer outro aminoácido normalmente apresentam forte efeito dominante negativo, uma vez que elas atrapalham o empacotamento. A hélice é montada iniciando pela extremidade C-terminal, e substituições de glicinas próximas a esta extremidade apresentam um efeito mais grave do que substituições de glicinas próximas à extremidade N-terminal. Mutações nulas em qualquer dos genes resultam na redução da formação de hélices, embora elas sejam normais (simples haploinsuficiência) e o fenótipo clínico seja menos grave.

Proteínas não estruturais que dimerizam ou oligomerizam também apresentam efeito dominante negativo. Os fatores de transcrição da família bHLH-Zip, por exemplo, ligam-se ao DNA na forma de dímeros. Mutantes que não formam dímeros em geral causam fenótipos recessivos, mas mutantes capazes de converter moléculas funcionais em moléculas que não formam dímeros apresentam fenótipo dominante. Os canais de íon na membrana celular fornecem outro exemplo de estruturas multiméricas que são sensíveis a efeito dominante negativo. A conexina 26 fornece um exemplo. Seis moléculas da proteína conexina 26 associam-se para formar um *connexon*, a metade de uma junção *gap* que permite que pequenos íons se movam entre as células. A **Figura 13.15** apresentou um exemplo de uma mutação nula no gene que codifica a conexina 26. Pessoas homocigotas para essa mutação não podem produzir conexina 26; elas não possuem junções *gap* em sua orelha interna, os íons de potássio não conseguem recircular como deveriam, e os pacientes são surdos. Heterocigotos são fenotipicamente normais (isto é um problema se você deseja identificar casais com risco de terem filhos surdos). No entanto, certas mutações não sinônimas produzem moléculas estruturalmente anormais de conexina 26. Estas interferem na função dos *connexons*, mesmo que algumas das seis moléculas de conexina sejam normais; os heterocigotos têm perda auditiva, e o fenótipo é dominante.

### Mutações de ganho de função afetam a forma pela qual um gene ou seu produto reagem a sinais regulatórios

É improvável que uma mutação forneça uma função radicalmente nova para um produto gênico. O único mecanismo que garantidamente gera novas funções é quando um rearranjo cromossômico cria um novo gene quimérico reunindo éxons de dois genes distintos. Embaralhamentos de éxons deste tipo têm sido importantes para a evolução, mas não em doenças hereditárias. As translocações ou inversões cromossômicas que produzem estes genes quiméricos podem propagar-se através de divisões mitóticas sucessivas, quando cada cromossomo se comporta de maneira independente. No entanto, cromossomos homólogos pareiam e recombina durante a meiose. Conforme visto no Capítulo 2, em portadores de rearranjos cromossômicos, o pareamento envolve conformações cromossômicas complicadas, as quais podem resultar em segregação incorreta; em alguns casos, a replicação irá produzir duplicações e deleções. Como resultado, genes quiméricos são frequentemente vistos em tumores, os quais dependem unicamente da mitose – muitos exemplos são descritos no Capítulo 17 – mas não em condições hereditárias, nas quais eles teriam que passar por meiose. Os exemplos evolutivamente bem-sucedidos devem ser raras exceções.

Em vez de produzir uma função radicalmente nova, a maioria das mutações de ganho de função afeta o modo como um gene ou seu produto reagem a sinais regulatórios. O gene poderá ser expresso no momento errado, no tecido errado, em um nível incorreto ou em resposta ao sinal incorreto. O produto poderá apresentar uma interação anormal e patogênica com outros componentes celulares. A **Tabela 13.4** lista alguns exemplos de modos nos quais um produto gênico pode apresentar um ganho de função. Um caso raro de mutação de ponto herdada conferindo uma nova função para uma proteína é o alelo Pittsburg no locus *PI* (OMIM 107400; **Figura 13.25**). Uma troca de aminoácido no sítio ati-

**TABELA 13.4** Mecanismos das mutações de ganho de função

Defeito	Gene	Nº OMIM	Doença	Comentários
Superexpressão	NROB1	300018	reversão de sexo de macho para fêmea	duplicações gênicas causam a superexpressão e a reversão sexual
Adquire um novo substrato	<i>PI</i> (alelo de Pittsburgh)	107400	distúrbio de sangramento letal	um alelo raro de ganho de função do gene da $\alpha_1$ -antitripsina (Figura 13.25)
Canal de íon aberto de maneira imprópria	SCN4A	168300	paramiotonia congênita de von Eulenburg	mutações específicas neste gene de canal de sódio atrasa o fechamento
Agregação proteica	HD	143100	doença de Huntington	proteínas com expansão de poliglutamina formam agregados tóxicos
Receptor permanentemente ativado	GNAS1	174800	doença de McCune-Albright	mutações somáticas apenas; formas constitucionais seriam provavelmente letais
Gene quimérico	BCR-ABL	151410	leucemia mieloide crônica	apenas mutações somáticas

vo converte um inibidor de elastase em um novo inibidor de trombina constitutivamente ativo, resultando em uma coagulopatia letal.

### Desordens causadas pelo ganho de função de receptores de hormônio associados à proteína G

Os receptores de hormônio associados à proteína G fornecem bons exemplos de mutações ativadoras. Muitos hormônios exercem seus efeitos sobre as células-alvo por meio da ligação a domínios extracelulares de receptores transmembrana. A associação de um ligante ao receptor motiva a cauda citoplasmática do receptor a catalisar a conversão de uma proteína G inativa (ligada a GDP) em sua forma ativa (ligada a GTP), o que leva o sinal adiante por meio da estimulação de canais de íons ou enzimas como a adenilil ciclase. Alguns receptores mutados são constitutivamente ativos: eles disparam (sinalizam para efetores subjacentes) mesmo na ausência do ligante:

- A puberdade precoce masculina familiar (OMIM 176410: início da puberdade aos 4 anos em meninos afetados) é encontrada com um receptor de hormônio luteinizante ativo constitutivamente.
- A hiperplasia autossômica dominante da tireoide pode ser causada por uma mutação ativadora no receptor do hormônio estimulador da tireoide (ver OMIM 275200).
- O distúrbio ósseo conhecido como condrodisplasia metafisária tipo Jansen (OMIM 156400) pode ser causado por um receptor hormonal da paratireoide, constitutivamente ativo.

### A homogeneidade alélica não é sempre dada pelo ganho de função

Foi apresentado anteriormente que a heterogeneidade alélica é normalmente uma marca característica dos fenótipos de perda de função. No entanto, não é seguro assumir que qualquer condição que apresente homogeneidade alélica seja causada por ganho de função. Existem outras explicações possíveis:

- Em alguns casos, o fenótipo é diretamente associado ao próprio produto gênico, em vez de ser uma consequência mais remota da mudança genética. A doença pode então ser definida em termos de uma variante particular do produto, como na anemia falciforme.
- Alguns mecanismos moleculares específicos podem ocasionar uma certa mudança na sequência de um gene com uma probabilidade maior do que qualquer outra mudança – por exemplo, a expansão (CGG)<sub>n</sub> na síndrome do X frágil.
- Pode haver um **efeito fundador**. Por exemplo, algumas mutações patogênicas são comuns entre judeus asquenazi. Os judeus asquenazi da atualidade descendem de um número bastante reduzido de fundadores. Se um dos fundadores carregava um alelo recessivo, é possível que este alelo seja encontrado em alta frequência na atual população asquenazi.
- A seleção em favor do heterozigoto acentua o efeito fundador e geralmente resulta em uma, ou algumas poucas, mutações específicas que são comuns em uma população.

### Mutações de ganho e de perda de função em um mesmo gene irão causar fenótipos distintos

Inicia-se esta seção sobre patologia molecular enfatizando a distinção entre mutações de perda e de ganho de função. Contudo, é possível ver ambos os tipos de mutação no mesmo gene. Quando isso acontece, os fenótipos resultantes são frequentemente muito distintos.

Conforme descrito, mutações de perda de função no gene *PAX3* causam o defeito de desenvolvimento conhecido como síndrome de Waardenburg do tipo I (ver Figura 13.23). Um fenótipo totalmente diferente é visto quando uma translocação cromossômica cria um novo gene quimérico, fusionando o gene *PAX3* com outro gene de fator de transcrição, o *FKHR*, em células somáticas. O ganho de função deste fator de transcrição híbrido causa o desenvolvimento de um tumor, o rabdomiossarcoma (OMIM 268220). Outro exemplo marcante diz respeito ao gene *RET*. Este gene codifica um receptor transmembrana do tipo tirosina quinase. A associação do ligante (GDNF, do inglês *glial cell line-derived neurotrophic factor*) ao domínio extracelular induz a dimerização dos receptores. Isso ativa módulos de tirosina quinase no domínio citoplasmático, os quais transmitem o sinal para a célula (ver Figura 4.15, p. 110).



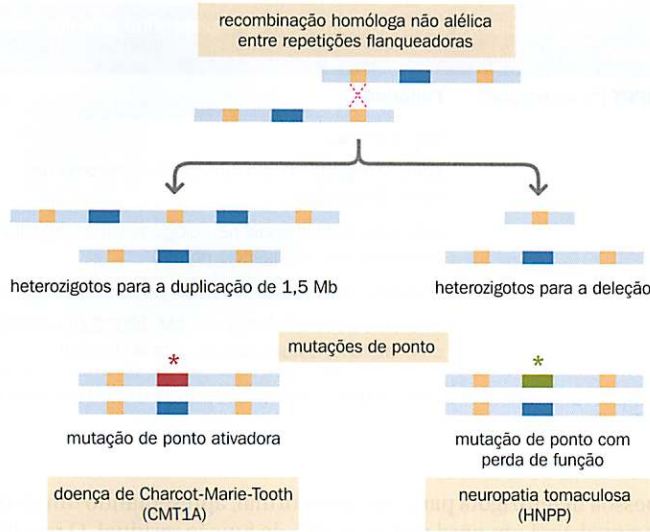
**Figura 13.25** Uma mutação que causa ganho de função na molécula de  $\alpha_1$ -antitripsina. A  $\alpha_1$ -antitripsina é um inativador de proteases específicas. A protease cliva a ligação peptídica entre os resíduos 358 e 359 na molécula de  $\alpha_1$ -antitripsina. Como resultado, os dois resíduos (apresentados como esferas em verde) estão afastados cerca de 65 Å, conforme indicado pelas setas. A mudança conformacional inativa a protease. No alelo selvagem, os resíduos 358 e 359 são uma metionina e uma serina, respectivamente. Isto cria um substrato para a elastase; portanto, a  $\alpha_1$ -antitripsina tipo selvagem atua como um agente antielastase. Na variante Pittsburgh, uma mutação não sinônima (p.M358R) substitui a metionina por uma arginina. A estrutura e o efeito de clivagem da ligação peptídica entre os resíduos 358 e 359 não são alterados, mas a especificidade agora é pela trombina e não mais pela elastase. Portanto, a variante Pittsburgh não possui efeito antielastase, tendo se convertido em um poderoso agente antitrombina. O resultado é uma coagulopatia letal. Azul e amarelo indicam as partes a C-terminal e a N-terminal do sítio de clivagem da molécula de  $\alpha_1$ -antitripsina; resíduos de carboidrato são representados em cinza. [Imagem S3D00427 do University of Geneva ExPASy molecular biology Web server, <http://www.expasy.ch/>]

Uma variedade de mutações de perda de função no gene *RET* corresponde a uma das causas da doença de Hirschsprung (OMIM 142623; ausência de gânglios entéricos no intestino). Estas mutações incluem trocas de fase, mutações sem sentido e substituições de aminoácidos que interferem na maturação pós-traducional da proteína *RET*. Algumas mutações não sinônimas muito específicas no gene *RET* são vistas em um conjunto totalmente diferente de doenças, como no carcinoma medular de tireoide familiar (OMIM 155240) e a patologia relacionada (mais extensa) conhecida como neoplasia endócrina múltipla tipo II (OMIM 162300 e 171400). Essas são mutações de ganho de função, produzindo moléculas de receptores que reagem extensivamente ao ligante ou que são constitutivamente ativas e dimerizam mesmo na ausência do ligante. Curiosamente, algumas pessoas com mutações não sinônimas que afetam as cisteínas 618 ou 620, importantes para a dimerização do receptor, sofrem tanto de câncer da tireoide como da doença de Hirschsprung – ganho e perda de função simultâneos. Isso nos lembra de que perda e ganho de função nem sempre são simples quantidades escalares: as mutações podem ter efeitos distintos nos diferentes tipos celulares nos quais o gene é expresso.

A **Tabela 13.5** lista vários casos nos quais mutações de perda e ganho de função afetando um único gene resultam em doenças distintas. Normalmente, o mutante de ganho de função produz uma proteína qualitativamente anormal, mas simples efeitos de dose podem ocasionalmente ser patogênicos em ambas as direções: doses aumentadas e reduzidas da expressão do gene são patogênicas, mas causam doenças distintas. O gene da proteína da mielina periférica (*PMP22*) é um exemplo. *Crossover* desigual entre sequências repetidas no cromossomo 17p11 criam duplicações ou deleções de uma região de 1,5 Mb que contém o gene *PMP22* (**Figura 13.26**). Portadores heterozigotos da deleção ou da duplicação possuem uma ou três cópias do gene, respectivamente. Pessoas com apenas uma cópia do gene sofrem de neuropatia hereditária com suscetibilidade a paralisia por pressão (HNPP) ou neuropatia tomaculosa (OMIM 162500), enquanto pessoas com três cópias apresentam uma neuropatia clinicamente diferente, a doença de Charcot-Marie-Tooth 1A (CMT1A; OMIM 118220). Essas duas doenças também podem ser causadas por mutações de ponto no gene *PMP22*. Apesar dos eventos moleculares, a causa da patologia é a mudança da atividade desse gene.

**TABELA 13.5** Exemplos de genes nos quais mutações de perda e de ganho de função causam doenças distintas

Gene	Localização	Perda (–) ou ganho (+)	Doenças	Símbolo	Nº OMIM
PAX3	2q35	–	Síndrome de Waardenburg do tipo 1	WS1	193500
		+	Rabdomiossarcoma alveolar	RMS2	268220
RET	10q11.2	+	Neoplasia endócrina múltipla tipo IIA	MEN2A	171400
		+	Neoplasia endócrina múltipla tipo IIB	MEN2B	162300
		+	Carcinoma medular de tireoide familiar	FMTC	155240
PMP22	17p11.2	–	Doença de Hirschsprung	HSCR	142623
		–	Neuropatia de Charcot-Marie-Tooth tipo 1A	CMT14	118220
GNAS1	20q13.2	+	Neuropatia tomaculosa	HNPP	162500
		–	Osteodistrofia hereditária de Albright	PHP1A	103580
AR	Xq12	+	Síndrome McCune-Albright	MAS	174800
		–	Síndrome de feminilização testicular	TFM	300068
		+	Atrofia muscular espinobulbar	SBMA	313200



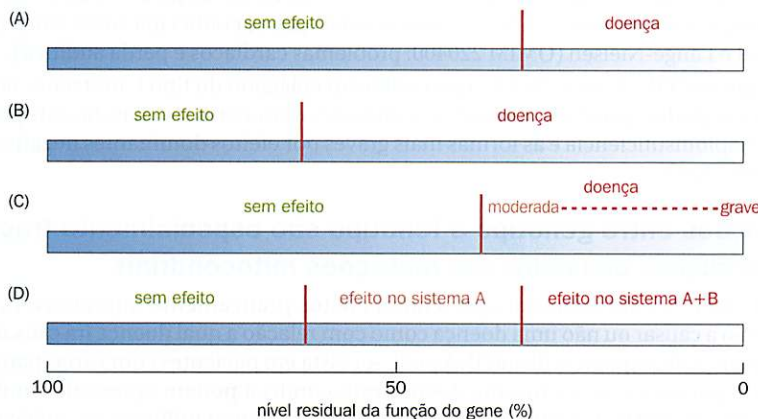
**Figura 13.26** Tanto o aumento como a redução de dose do gene *PMP22* são patogênicos, mas causam patologias distintas. O crossover desigual entre repetições flanqueadoras (quadros amarelos) gera duplicações ou deleções de 1,5 Mb da região contendo o gene *PMP22* (quadro azul). A duplicação causa a doença de Charcot-Marie-Tooth; a deleção causa a neuropatia tomaculosa. As mesmas duas doenças podem resultar de mutações de ponto que aumentam ou reduzem a atividade do gene *PMP22* ou que o inativam.

### 13.5 A BUSCA POR CORRELAÇÕES ENTRE GENÓTIPO E FENÓTIPO

Dada a complexidade das interações genéticas, não é surpreendente que a patologia molecular seja uma ciência bastante imperfeita. O maior sucesso até agora se deu na compreensão do câncer e das hemoglobinopatias: no caso do câncer, o fenótipo para ser explicado – proliferação celular descontrolada – é relativamente simples, enquanto as hemoglobinopatias são um resultado direto de anormalidades em uma proteína abundante e de fácil acesso. Para a maioria das doenças genéticas, os aspectos clínicos são os resultados finais de uma longa cadeia causal, e o santo graal da patologia molecular – a correlação entre genótipo e fenótipo será sempre elusiva. Na realidade, mesmo simples doenças mendelianas não são nem um pouco simples. As revisões neste tópico realizadas por Scriver & Waters e por Weatherall são fortemente recomendadas (ver Leituras adicionais).

#### O efeito fenotípico das mutações de perda de função depende do nível residual da função gênica

Mudanças na sequência de DNA podem causar graus variáveis de perda de função. Muitas substituições de aminoácidos apresentam efeito reduzido ou mesmo inexistente, enquanto algumas mutações eliminam completamente a função. Uma mutação pode estar presente em uma ou nas duas cópias de um gene. Pessoas com condições autossômicas recessivas geralmente são **heterozigotos compostos** – ou seja, eles têm mutações diferentes em cada alelo. Se ambas as mutações causam uma perda de função, mas com graus distintos, o alelo menos severo irá determinar o nível residual da função. A **Figura 13.27** representa quatro possíveis relações entre o nível residual da função gênica e o fenótipo



**Figura 13.27** Quatro possíveis relações entre a perda da função gênica e o fenótipo clínico. As barras indicam o nível geral de função produzido pelo efeito combinado de dois alelos do gene. (A) Essa condição, com 50% da função residual do gene sem causar efeitos, será um recessivo simples. (B) Essa condição será dominante em função da haploinsuficiência; a perda de 50% da função do gene causa a doença. (C) Essa condição é recessiva, mas a gravidade depende do nível da função residual, de modo que existe uma correlação entre genótipo e fenótipo. (D) Se as consequências clínicas são muito diferentes, dependendo do grau da função residual, os resultados podem ser descritos como síndromes distintas (A e A + B), e elas podem ter modos distintos de herança, como aqui. Exemplos específicos são discutidos no texto.



**TABELA 13.6** Consequências da redução na função da hipoxantina guanina fosforribosil transferase (HPRT)

Atividade da HPRT (% do normal)	Fenótipo
> 60	sem doença
8-60	gota; sem problemas neurológicos (síndrome de Kelley-Seegmiller)
1,6-8	gota associada a sinais neurológicos variáveis (falta de jeito, coreoatetose); inteligência normal
1,4-1,6	síndrome de Lesch-Nyhan, mas com inteligência normal
< 1,4	síndrome de Lesch-Nyhan (OMIM 300322); espasticidade, coreoatetose, automutilação, retardo mental

A HPRT é codificada por um gene ligado ao X (OMIM 308000); o fenótipo nos homens reflete diretamente a atividade de seu único gene *HPRT*.

clínico. Uma pessoa heterozigota para um alelo normal, apresentando um alelo completamente não funcional, terá um nível global de 50% de função residual. O resultado poderia ser tanto uma condição recessiva (Figura 13.27A) como dominante (Figura 13.27B), dependendo se 50% da atividade forem suficientes para a função normal.

Mutações no gene da distrofina (ligado ao X) fornecem um bom exemplo da situação apresentada na Figura 13.27C, na qual a severidade da doença se correlaciona bem com a amplitude da atividade residual. Perda completa da função gênica em machos afetados causa a distrofia muscular de Duchenne grave (DMD; OMIM 310200), enquanto um grau menor de perda causa uma condição mais branda, a distrofia muscular de Becker (BMD, OMIM 300376). Apesar de seus nomes distintos, ambas as condições possuem a mesma causa e a mesma patologia; elas diferem apenas quanto à gravidade. A razão para esta diferença foi apresentada na Figura 13.16 Mutações no gene da hipoxantina guanina fosforribosil transferase (*HPRT*), também ligado ao X, apresenta uma série similar, mas clinicamente mais evidente (Tabela 13.6). Portanto, nestes casos, existe uma clara correlação genótipo-fenótipo.

Às vezes, quantidades distintas de função gênica residual podem originar condições clínicas diferentes, as quais podem inclusive apresentar modos diversos de herança (Figura 13.27D), por exemplo:

- Mutações no gene do transportador de sulfato (*DTDST*), que provocam diferentes graus de perda de função, causam displasias esqueléticas autossômicas recessivas, as quais receberam nomes distintos de acordo com a severidade: displasia diastrófica (OMIM 226600), displasia epifisária múltipla do tipo 4 (OMIM 226900), atelosteogênese do tipo II (OMIM 256050) e acondrogênese tipo 1B (OMIM 600972). A matriz extracelular é rica em proteoglicanos sulfatados, como o heparan sulfato e o condroitina sulfato. Defeitos no transporte de sulfato interferem no desenvolvimento esquelético.
- Mutações simples de perda de função no canal de potássio ( $K^+$ ) *KVLQT1* não têm efeito em heterozigotos. Todavia, uma mutação dominante negativa no mesmo gene reduz a função geral para cerca de 20% do normal, produzindo uma condição de herança dominante conhecida como síndrome de Romano-Ward (OMIM 192500: arritmia cardíaca). A perda total de função em pessoas heterozigotas para mutações de perda de função causam uma condição recessiva mais grave, conhecida como síndrome de Jervell e Lange-Nielsen (OMIM 220400: problemas cardíacos e perda auditiva).
- Nos genes *COL1A1* ou *COL1A2*, que codificam colágeno do tipo I, mutações no mesmo gene podem produzir outras duas condições dominantes, a mais branda por simples haploinsuficiência e as formas mais graves por efeitos dominantes negativos (ver Figura 13.24).

### Correlações entre genótipo e fenótipo são especialmente fracas para condições causadas por mutações mitocondriais

Mutações no DNA mitocondrial apresentam efeitos praticamente imprevisíveis, tanto com relação a causar ou não uma doença como com relação a qual doença irá causar. Uma dada mudança de sequência de mtDNA pode ser vista em pacientes com várias patologias distintas, e pacientes com a mesma doença mitocondrial podem apresentar mutações distintas em seu mtDNA. Além disso, como as células contêm milhares de moléculas de

mtDNA, elas podem ser *homoplásmicas* (todas as moléculas de mtDNA são idênticas) ou *heteroplásmicas* (uma população mista de mtDNA normal e mutante). Diferentemente do mosaicismo, a heteroplasmia pode ser transmitida da mãe para o filho por meio de um óvulo heteroplásmico. O óvulo contém mais de 10 mil mitocôndrias, de modo que todos os filhos de uma mulher infectada irão herdar pelo menos algumas das mitocôndrias mutantes, mesmo se a mãe for heteroplásmica. No entanto, doenças mitocondriais frequentemente apresentam baixa penetrância (ver Figura 3.10, p. 68).

A neuropatia óptica de Leber (OMIM 535000: perda de visão súbita e irreversível) ilustra alguns dos problemas. Dezoito diferentes mutações de ponto no mtDNA foram associadas com essa condição; cinco delas apresentam efeitos suficientemente graves para, sozinhas, causarem a doença. Outras treze apresentam efeitos que contribuem para o quadro. Cinquenta por cento das pessoas afetadas apresentam a substituição g.11778GA. A maioria destes pacientes é homoplásmico, mas cerca de 14%, apresentando o mesmo grau de severidade, são heteroplásmicos. Mesmo nas famílias homoplásmicas a condição é bastante variável; a penetrância geral é de 33-60%, e 82% dos indivíduos afetados são homens.

Existem diversas razões possíveis para essa fraca correlação:

- O DNA mitocondrial é muito mais variável que o DNA nuclear e algumas síndromes podem depender da combinação da mutação reportada com outras variantes ainda não identificadas.
- Algumas doenças mitocondriais parecem ser de uma natureza quantitativa: pequenas mudanças mutacionais acumulam-se, reduzindo a capacidade mitocondrial de gerar energia e, em um dado limite, surgem os sintomas clínicos.
- A heteroplasmia pode ser tecido-específica, e o tecido examinado (normalmente sangue ou músculo) pode não ser crítico na patogênese.
- Precocemente no desenvolvimento da linhagem germinativa, as células passam por um estágio no qual elas contêm apenas um número reduzido de mitocôndrias (o gargalo mitocondrial). Por um erro aleatório de amostragem neste estágio, em uma mãe heteroplásmica a proporção de mitocôndrias normais e mutantes pode ser significativamente distinta após esse gargalo. Assim sendo, o grau de heteroplasmia pode variar amplamente entre a mãe e o filho.
- Duplicações e deleções no genoma mitocondrial frequentemente evoluem com o passar dos anos em um único indivíduo afetado; de modo similar, a proporção de mitocôndrias mutadas em pessoas heteroplásmicas pode variar ao longo do tempo.
- Muitas funções mitocondriais são codificadas por genes nucleares, de modo que uma variação nuclear pode ser uma causa importante ou um modificador de um fenótipo mitocondrial.

O *MITOMAP database of mitochondrial mutations* (<http://www.mitomap.org>) possui uma boa discussão geral, além de extensas tabelas de dados mostrando a dimensão do desafio de se prever fenótipos mitocondriais.

### A variabilidade dentro das famílias é uma evidência da atuação de genes modificadores e de eventos do acaso

Muitas condições mendelianas são clinicamente variáveis mesmo entre membros afetados de uma mesma família, os quais carregam exatamente a mesma mutação. A variabilidade intrafamiliar deve ser causada por alguma combinação dos efeitos de outros genes não ligados (genes modificadores) e efeitos ambientais (incluindo eventos do acaso). Humanos são uma população natural típica, que apresentam maior diversidade genética e uma variedade de ambientes muito mais ampla que os animais de laboratório, de modo que não é surpreendente que correlações entre genótipo e fenótipo sejam muito mais fracas em humanos do que em camundongos de laboratório. Fenótipos dependentes de haploinsuficiência são especialmente sensíveis aos efeitos dos modificadores. A síndrome de Waardenburg é um exemplo típico: A **Figura 13.23** apresenta a prova de que esta condição dominante é causada por haploinsuficiência, e a **Figura 13.17** apresenta a variação intrafamiliar típica.

Correlações entre genótipo e fenótipo passariam a ser significativamente mais precisas se os genótipos considerassem os modificadores tanto quanto as mutações primárias. No entanto, a identificação e a caracterização de genes modificadores em humanos é extremamente desafiadora. Dados os limites inevitáveis da análise genética em humanos, uma abordagem mais produtiva poderá vir com a identificação de todos os componentes das rotas bioquímicas envolvidas em uma doença.

## CONCLUSÃO

Neste capítulo foram descritas as muitas formas pelas quais os genomas de dois humanos podem diferir. Isso pode ocorrer principalmente por meio de polimorfismos de nucleotídeo único, números variáveis de mutações em *tandem* e variações em larga escala do número de cópias. Estudos sobre estas diferenças são diretamente aplicáveis à compreensão de diversas características das populações humanas. A estrutura das populações em termos de endogamia e isolamento reprodutivo, as relações entre populações distintas, assim como as origens históricas e geográficas das populações – todos esses aspectos são esclarecidos por estudos de variabilidade genética.

Quando se volta para estudos de saúde e doença, no entanto, não é tão simples. Conectar variações de sequência com saúde e doença requer abordar a questão por ambos os lados. Foi visto como é possível tentar decidir se uma variante particular pode ou não ser patogênica. Em alguns casos a resposta é clara, mas muitas vezes a simples verificação da sequência de DNA não fornece uma resposta clara. Mesmo quando se pode ter confiança de que uma mudança de sequência será patogênica, raramente se pode prever especificamente os sintomas clínicos que ela irá produzir. Para relacionar DNA com doença também precisa-se iniciar pelo lado “doença” dessa relação. O estudo de doenças genéticas nos permite identificar as variantes patogênicas subjacentes. Esta abordagem tem tido amplo sucesso com doenças mendelianas, conforme apresentado nos próximos capítulos. Havendo famílias adequadas, é relativamente fácil identificar a localização cromossômica de um gene que carrega um caractere mendeliano (Capítulo 14), o que geralmente permite que os pesquisadores continuem até a identificação do gene relevante (Capítulo 16). Frequentemente permanece enigmático porque uma disfunção em um gene particular deveria causar um determinado conjunto de sintomas, mas pelo menos as variantes patogênicas podem normalmente ser identificadas com precisão.

Muitas variantes genéticas não causam condições mendelianas, mas podem, mesmo assim, apresentar influência sobre a saúde. Fatores de suscetibilidade genética são determinantes importantes de muitas doenças comuns, embora não sejam os únicos. Relacionar variantes específicas com determinadas suscetibilidades a doenças tem sido um desafio difícil, ainda muito distante de ser concluído. Os Capítulos 15 e 16 revisarão o progresso nessa área. Espera-se, por fim, alcançar uma posição que nos permita derivar informações preditivas úteis em saúde, a partir da análise da sequência genômica de um indivíduo – o que irá levantar toda uma série de questões sobre testes genéticos e triagem populacional. Essas questões serão abordadas nos Capítulos 18 e 19.

## LEITURAS ADICIONAIS

### Tipos de variação entre genomas humanos

Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP et al. (2008)

Accurate whole-genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature* 456, 53–59. [Em sua maior parte, uma abordagem técnica sobre o uso da tecnologia Illumina para o sequenciamento de um genoma individual.]

DbSNP. [www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP) [As 12 milhões de entradas no Build 126 incluem algumas variantes patogênicas raras e algumas alterações mais complexas do que polimorfismos de um único nucleotídeo.]

Decipher database of pathogenic large-scale variants. <http://decipher.sanger.ac.uk/>

Den Dunnen JT & Antonarakis SE (2001) Nomenclature for the description of human sequence variations. *Hum. Genet.* 109, 121–124.

Horaitis O, Talbot CC Jr, Phommavong M et al. (2007) A database of locus-specific databases. *Nat. Genet.* 39, 425. [Um manifesto para bancos de dados de mutações locus-específicas.]

Jakobsson M, Scholz SW, Scheet P et al. (2008) Genotype, haplotype and copy-number variation in worldwide human populations. *Nature* 451, 998–1003. [Análises de SNPs e CNVs em indivíduos de 29 populações.]

Kidd JM, Cooper GM, Donahue WF et al. (2008) Mapping and sequencing of structural variation from eight human genomes. *Nature* 453, 56–64. [Um estudo sistemático de variantes de 8 kb ou de tamanho superior em indivíduos da Ásia, Europa e África.]

Korbel JO, Urban AE, Affourtit JP et al. (2007) Paired-end mapping reveals extensive structural variation in the human genome. *Science* 318, 420–426. [Resultados do uso de um método para a detecção de CNVs de até 3 kb.]

Levy S, Sutton G, Ng PC et al. (2007) The diploid genome sequence of an individual human. *PLoS Biol.* 5, e254. [A sequência de Craig Venter.]

Li JZ, Absher DM, Tang H et al. (2008) Worldwide human relationships inferred from genome-wide patterns of variation. *Science* 319, 1100–1104. [O uso de dados de SNP para inferir relações de populações.]

Lukusa T & Fryns JP (2008) Human chromosome fragility. *Biochim. Biophys. Acta* 1779, 3–16. [Uma revisão de sítios frágeis de cromossomos.]

Bancos de dados de mutações. <http://www.genomic.unimelb.edu.au/mdi/> A Human Genome Variation Society Mutation Database Initiative lista detalhes e links para diversos bancos

- de dados, inclusive para <http://www.hgvbaseg2p.org> [Banco de Dados da Variação do Genoma Humano], e <http://www.hgvbaseg2p.org> [Human Genome Variation Database], and <http://archive.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/hgmd0.html> [Banco de Dados de Mutações do Genoma Humano], <http://www.mitomap.org> [banco de dados de mutações mitocondriais.]
- Nomenclatura de mutações. <http://www.hgvs.org/mutnomen/> [Regras para nomear qualquer tipo de alteração de sequência de DNA.]
- Perry GH, Dominy NJ, Claw KG et al. (2007) Diet and the evolution of human amylase gene copy-number variation. *Nat. Genet.* 39, 1256–1260. [Exemplo de variante do número de cópias que afeta o fenótipo e que esteve sujeita à seleção.]
- Redon R, Ishikawa S, Fitch KR et al. (2006) Global copy number variation in the human genome. *Nature* 444, 444–454. [Um importante estudo em variação em grande escala na amostra do HapMap.]
- TCAG Database of Genomic Variants. <http://projects.tcag.ca/variation/> [Variantes de larga escala encontradas em indivíduos saudáveis.]
- Wang J, Wang W, Li R et al. (2008) The diploid genome sequence of an Asian individual. *Nature* 456, 60–65.
- Wheeler DA, Srinivasan M, Ehgolm M et al. (2008) The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature* 452, 872–877. [A sequência de James Watson.]
- Wong KK, deLeeuw RJ, Dosanih NS et al. (2007) A comprehensive analysis of common copy-number variations in the human genome. *Am. J. Hum. Genet.* 80, 91–104. [Variantes de 40 kb ou de tamanho superior em 95 indivíduos de 16 grupos étnicos diferentes.]

### Falha ao reparar danos do DNA é a principal causa de grande parte da variabilidade genética

- Barnes DE & Lindahl T (2004) Repair and genetic consequences of endogenous DNA base damage in mammalian cells. *Annu. Rev. Genet.* 38, 445–476. [Uma revisão geral.]
- Buchwald M (1995) Complementation: one or more groups per gene? *Nat. Genet.* 11, 228–230. [Interessante discussão a respeito do valor e limitações do teste de complementação, apesar dos questionamentos diretos já terem sido respondidos há muito tempo.]
- Friedberg EC (2003) DNA damage and repair. *Nature* 421, 436–440. [Uma abordagem histórica da evolução do conhecimento a respeito de dano e reparação de DNA.]
- Klein HL (2008) DNA endgames. *Nature* 455, 740–741. [Uma breve revisão do modo como são reparadas quebras duplas de DNA.]
- Kraemer KH, Patronas NJ, Schiffmann R et al. (2007) Xeroderma pigmentosum, trichothiodystrophy and Cockayne syndrome: a complex genotype-phenotype relationship. *Neuroscience* 145, 1388–1396. [A via de reparação por excisão de nucleotídeos e seus defeitos.]
- McKinnon PJ & Caldecott KW (2007) DNA strand break repair and human genetic disease. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 8, 37–55. [Revisão da reparação de quebras de fita simples e quebras de fita dupla e das doenças resultantes desses defeitos.]
- Schumacher B, Garinis GA & Hoeijmakers JHJ (2007) Age to survive: DNA damage and ageing. *Trends Genet.* 24, 77–85.
- Wang W (2007) Emergence of a DNA-damage response network consisting of Fanconi anaemia and BRCA proteins. *Nat. Rev. Genet.* 8, 735–748.

### Variantes patogênicas de DNA

- Bucciantini M, Giannoni E, Chiti F et al. (2002) Inherent cytotoxicity of polypeptide aggregates suggests a common origin of protein misfolding diseases. *Nature* 416, 507–511.
- Grantham RF (1974) Amino acid difference formula to help explain protein evolution. *Science* 185, 862–864. [A matriz de Grantham quantifica o efeito das substituições de aminoácidos.]
- Groman JD, Hefferon TW, Casals T et al. (2004) Variation in a repeat sequence determines whether a common variant of the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator gene is pathogenic or benign. *Am. J. Hum. Genet.* 74, 176–179. [Efeito das variantes 5T/7T/9T e (TG)<sup>n</sup> no *splicing* do mRNA de *CFTR*.]
- Hardy J & Orr H (2006) The genetics of neurodegenerative disease. *J. Neurochem.* 97, 1690–1699.
- Holbrook JA, Neu-Yilik G, Hentze MW & Kulozik AE (2004) Nonsense-mediated decay approaches the clinic. *Nat. Genet.* 36, 801–808.
- Inoue K, Khajavi M, Ohyama T et al. (2004) Molecular mechanism for distinct neurological phenotypes conveyed by allelic truncating mutations. *Nat. Genet.* 36, 361–369. [SOX10 e MPZ como exemplos de patologias moleculares variáveis devido ao NMD.]
- Isken O & Maquat LE (2008) The multiple lives of NMD factors: balancing roles in gene and genome regulation. *Nat. Rev. Genet.* 9, 699–712. [Uma revisão detalhada das funções do NMD nas células.]
- Komar AA (2007) SNPs—silent but not invisible. *Science* 315, 466–467. [Discussão de dados mostrando que um polimorfismo silencioso no gene *MDR1* altera a especificidade por substrato.]
- Mirkin SM (2007) Expandable DNA repeats and human disease. *Nature* 447, 932–940. [Uma revisão dos possíveis mecanismos da instabilidade de mutações dinâmicas.]
- Orr HT & Zoghbi HY (2007) Trinucleotide repeat disorders. *Annu. Rev. Neurosci.* 30, 575–621. [Uma expressiva revisão sobre doenças e suas patogêneses.]
- Pearson CE, Edamura KN & Cleary JD (2005) Repeat instability: mechanisms of dynamic mutations. *Nat. Rev. Genet.* 6, 729–742. [Não é de fácil leitura, mas apresenta muitos dados e ideias.]
- Wang GS & Cooper TA (2007) Splicing in disease: disruption of the splicing code and the decoding machinery. *Nat. Rev. Genet.* 8, 749–761. [Diversos exemplos do efeito patogênico de distúrbios de *splicing*.]

### Patologia molecular: entendendo o efeito das variantes

- Karniski LP (2001) Mutations in the diastrophic dysplasia sulfate transporter (DTDST) gene: correlation between sulfate transport activity and chondrodysplasia phenotype. *Hum. Mol. Genet.* 10, 1485–1490.
- Lester HA & Karschin A (2000) Gain of function mutants: ion channels and G protein-coupled receptors. *Annu. Rev. Neurosci.* 23, 89–125. [Diversos exemplos detalhados, nem todos em humanos.]
- Marini JC, Forlino A, Cabral WA et al. (2007) Consortium for osteogenesis imperfecta mutations in the helical domain of type I collagen: regions rich in lethal mutations align with binding sites for integrins and proteoglycans. *Hum. Mutat.* 28, 209–221. [Análises da relação genótipo-fenótipo em mais de 800 mutações.]

- Owen MC, Brennan SO, Lewis JH & Carrell RW (1983) Mutation of antitrypsin to antithrombin:  $\alpha$ -1-antitrypsin Pittsburgh (358 met-to-arg), a fatal bleeding disorder. *N. Engl. J. Med.* 309, 694–698.
- Rauch F & Glorieux FH (2004) Osteogenesis imperfecta. *Lancet* 363, 1377–1385. [Uma revisão geral clinicamente direcionada.]
- Shenker A, Laue L, Kosugi S et al. (1993) A constitutively activating mutation of the luteinizing hormone receptor in familial male precocious puberty. *Nature* 365, 652–654.
- Wollnik B, Schroeder BC, Kubisch C et al. (1997) Pathophysiological mechanisms of dominant and recessive *KVLQT1*  $K^+$  channel mutations found in inherited cardiac arrhythmias. *Hum. Mol. Genet.* 6, 1943–1949.
- Zlotogora J (2007) Multiple mutations responsible for frequent genetic diseases in isolated populations. *Eur. J. Hum. Genet.* 15, 272–278. [Heterogeneidade alélica limitada devido à combinação dos efeitos do fundador e da seleção.]
- A busca por correlações entre genótipo e fenótipo**
- Carrell RW & Lomas DA (2002)  $\alpha$ -1-Antitrypsin deficiency—a model for conformational diseases. *N. Engl. J. Med.* 346, 45–53.
- Khrapko K (2008) Two ways to make an mtDNA bottleneck. *Nat. Genet.* 40, 134–135. [Uma breve revisão sobre o gargalo mitocondrial.]
- Manié S, Santoro M, Fusco A & Billaud M (2001) The RET receptor: function in development and dysfunction in congenital malformation. *Trends Genet.* 17, 580–589.
- Pasini B, Ceccherini I & Romeo G (1996) RET mutations in human disease. *Trends Genet.* 12, 138–144.
- Scriver CR & Waters PJ (1999) Monogenic traits are not simple: lessons from phenylketonuria. *Trends Genet.* 15, 267–272.
- Wallace DC, Lott MT, Brown MD & Kerstann K (2001) Mitochondria and neuro-ophthalmologic diseases. In *The Metabolic & Molecular Bases Of Inherited Disease*, 8th ed. (CR Scriver, AL Beaudet, WS Sly, D Valle eds), pp 2425–2509. McGraw Hill.
- Weatherall DJ (2001) Phenotype–genotype relationships in monogenic disease: lessons from the thalassaemias. *Nat. Rev. Genet.* 2, 245–255.
- Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR & Wood WG (2001) The Hemoglobinopathies. In *The Metabolic & Molecular Bases Of Inherited Disease*, 8th ed. (CR Scriver, AL Beaudet, WS Sly, D Valle eds), pp 4571–4636. McGraw Hill.