

Genética dos Distúrbios com Herança Complexa

A hereditariedade contribui para as doenças humanas mais comuns. Doenças tais como os defeitos congênitos de nascimento, o infarto do miocárdio (MI), o câncer, a doença mental, a diabetes e a doença de Alzheimer (AD) causam morbidade e mortalidade prematura em quase duas em cada três pessoas durante a vida (Quadro 15.1). Embora estas doenças possam ser causadas por uma mutação em um gene único em algumas famílias, elas em geral não são distúrbios monogênicos. Estes distúrbios resultam de interações complexas de vários fatores de predisposição, incluindo o genótipo em um ou mais loci e uma variedade de exposições ambientais que ativam, aceleram ou exacerbam o processo da doença. Nesta situação, a ocorrência da doença em famílias não se ajusta a um dos padrões mendelianos simples de herança e diz-se que segue um padrão de herança **complexa** ou **multifatorial**.

Uma doença genética que está presente ou ausente é chamada de característica **distinta** ou **qualitativa**. A pessoa tem ou não tem a característica. Em contraste, existem as características **quantitativas**, que são características mensuráveis (quantidades fisiológicas ou bioquímicas), tais como altura, pressão sanguínea, colesterol sérico e índice de massa corpórea (peso em quilos dividido pelo quadrado da altura em metros, como medida de obesidade). A base genética para a variabilidade das características quantitativas é central para se compreender como os genes contribuem para muitas doenças comuns e devastadoras na população.

Neste capítulo, abordaremos a questão de como se determina a contribuição dos genes para as doenças comuns e a variabili-

dade das características fisiológicas. Descreveremos estudos de gêmeos e métodos de controle — casos usados pelos geneticistas para determinar as contribuições relativas dos genes e do ambiente para características qualitativas e quantitativas. Explicaremos, então, os métodos usados para avaliar quantos genes, se é que algum, contribuem para o fenótipo e como a localização genômica de tais genes é determinada. Finalmente, apresentaremos vários exemplos de doenças nas quais começamos a compreender os mecanismos pelos quais os alelos em mais de um locus conferem suscetibilidade à doença ou contribuem para a variação fenotípica. O campo está se desenvolvendo rapidamente, e está claro que a base genética de muitas outras doenças humanas complexas será elucidada logo. A identificação de fatores tanto genéticos quanto ambientais que resultam em doenças comuns permitirá o desenvolvimento de medidas terapêuticas e preventivas racionais.

ANÁLISE GENÉTICA DE CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS DE DOENÇAS

Agregação Familiar da Doença

Como os parentes compartilham uma proporção maior de seus genes entre si do que com as pessoas não-aparentadas na população, uma característica primária das doenças com herança complexa é que as pessoas afetadas tendem a se agrupar nas famílias

QUADRO 15-1

Frequência de Diferentes Tipos de Doenças Genéticas			
Tipo	Incidência ao Nascimento (por 1.000)	Prevalência aos 25 Anos (por 1.000)	Prevalência Populacional (por 1.000)
Distúrbios decorrentes de mutações genômicas e cromossômicas	6	1,8	3,8
Distúrbios decorrentes de mutações monogênicas	10	3,6	20
Distúrbios decorrentes de herança multifatorial	~50	~50	~600

(**agregação familiar**). O contrário, entretanto, não é necessariamente verdadeiro: a agregação familiar de uma doença não significa que uma doença deva ter uma contribuição genética. Os membros familiares podem desenvolver a mesma doença ou característica apenas por acaso, em particular se ela for comum na população. Mesmo que a agregação familiar não se deva ao acaso, as famílias compartilham mais que seus genes. Por exemplo, elas em geral têm atitudes culturais e comportamentos, dieta e exposições ambientais em comum. É tarefa do epidemiologista genético determinar se a agregação familiar é coincidência ou o resultado de fatores comuns aos membros da família, bem como avaliar até que ponto estes fatores comuns são genéticos e ambientais. Por fim, os estudos de mapeamento gênico para situar e identificar os loci e alelos especificamente envolvidos fornecem a prova definitiva de uma contribuição genética para a doença multifatorial.

Concordância e Discordância

Quando dois indivíduos aparentados em uma família têm a mesma doença, eles são chamados de **concordantes** para o distúrbio. Contrariamente, quando apenas um membro do par de parentes é afetado e o outro não, eles são **discordantes** quanto à doença. As doenças com herança complexa resultam do impacto de fatores ambientais nas pessoas com determinados genótipos. A discordância para o fenótipo entre parentes que compartilham um genótipo em loci que predis põem a doenças pode ser explicada se a pessoa não-afetada não foi exposta aos outros fatores (ambientais ou ocorrências ao acaso) necessários para disparar o processo da doença e torná-la manifesta. Contrariamente, a concordância quanto a um fenótipo pode ocorrer mesmo quando os dois parentes afetados têm genótipos de predisposição diferentes, se a doença em um parente for uma **genocópia** ou **fenocópia** da doença no outro parente. A falta de penetrância e as freqüentes genocópias e fenocópias contribuem para obscurecer o padrão de herança na doença genética multifatorial.

Medida da Agregação Familiar

RISCO RELATIVO λ_r

A agregação familiar de uma doença pode ser medida comparando-se a freqüência da doença nos parentes de um probando afetado com sua freqüência (prevalência) na população geral. A **proporção de risco relativo** λ_r é definida como

$$\lambda_r = \frac{\text{prevalência da doença em um parente "r" de um afetado}}{\text{prevalência da doença na população}}$$

(O subscrito r para λ é usado aqui genericamente; na prática, mede-se λ para uma determinada classe de parentes, p. ex., $r = s$ para irmãos, $r = p$ para pais.) O valor de λ_r é uma medida da agregação familiar que depende tanto do risco da doença recorrer na família quanto na prevalência populacional: quanto maior for λ_r , maior será a agregação familiar. A prevalência populacional entra no cálculo porque quanto mais comum for a doença, maior será a probabilidade de que a agregação possa ser apenas uma coincidência e não o resultado de compartilhar os alelos que predis põem à doença. Um valor de $\lambda_r = 1$ indica que um parente não tem maior probabilidade de desenvolver a doença do que

qualquer pessoa na população. Os exemplos de valores de λ_r maiores que 1 para várias doenças são mostrados no Quadro 15.2.

ESTUDOS DE CONTROLE DE CASOS

Outro enfoque para avaliar a agregação familiar é o **estudo de controle de casos**, no qual os pacientes com uma doença (os casos) são comparados com pessoas adequadamente escolhidas sem a doença (os controles) com relação à história familiar da doença (bem como outros fatores, tais como exposições ambientais, ocupação, localização geográfica, paridade e doenças prévias). Para avaliar uma possível contribuição genética à agregação familiar de uma doença, a freqüência com a qual a doença é encontrada nas famílias ampliadas dos casos (**história familiar positiva**) é comparada com a freqüência de história familiar positiva entre controles adequados, ajustados por idade e etnicidade, mas que não têm a doença. Os cônjuges em geral são usados como controles nesta situação porque eles normalmente são ajustados aos casos em idade e etnicidade e compartilham o mesmo ambiente familiar. Outros controles usados com freqüência são pacientes com doenças não-relacionadas ajustados por idade, ocupação e etnicidade. Assim, por exemplo, em um estudo da **doença de Parkinson (PD)**, 6,3% dos parentes vivos de primeiro e segundo grau de pacientes com PD também tinham PD, uma prevalência que era significativamente maior que a prevalência de 1,2% de PD entre os parentes de controles ajustados com outras doenças neurológicas, mas não com PD. Podemos concluir, portanto, que uma história familiar de PD é encontrada com mais freqüência entre os pacientes com PD que nos controles, o que indica que alguma agregação familiar está ocorrendo na PD.

Os estudos de controle de casos para agregação familiar estão sujeitos a muitos tipos diferentes de erros. Um dos mais problemáticos é a **tendenciosidade de averiguação**, uma diferença na probabilidade de que os parentes afetados dos casos sejam

QUADRO 15-2

Riscos λ_r para Parentes de Probandos com Doenças de Agregação Familiar e Herança Complexa

Doença	Parentesco	λ_r
Esquizofrenia	Gêmeos MZ	48
	Irmãos	12
Autismo	Gêmeos MZ	2.000
	Irmãos	150
Distúrbio maníaco-depressivo (bipolar)	Gêmeos MZ	60
	Irmãos	7
Diabetes melito tipo 1	Gêmeos MZ	80
	Irmãos	12
Doença de Crohn	Gêmeos MZ	840
	Irmãos	25
Esclerose múltipla	Gêmeos MZ	800
	Irmãos	24

MZ = Monozigóticos

Dados adaptados de Rimoin D.L., Connor J.M., Pyeritz R.E. (1997) Emery e Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics. 3.ª ed Churchill Livingstone. Edinburgh; King R.A., Rotter J.I., Motulsky A.G. (1992) The Genetic Basis of Common Diseases Oxford University Press. Oxford, Inglaterra.

relatados ao epidemiologista em comparação com os parentes afetados dos controles. Um parente de um probando pode ter mais probabilidade do que os parentes dos controles de conhecer os outros membros da família com a mesma doença ou pode estar mais motivado a responder a um questionário devido à familiaridade com a doença (**tendenciosidade de chamada**). Outro fator de confusão é a escolha dos controles. Os controles podem diferir dos casos apenas em sua condição de doença e não nas questões étnica, de ocupação, sexo ou condição socioeconômica, qualquer uma das quais pode distingui-los como sendo diferentes dos casos de modos importantes que têm pouco ou nada a ver com o fato de eles não serem afetados pela doença. Finalmente, uma associação encontrada em um estudo de controle de casos não prova a causa. Por exemplo, se dois fatores não são independentes um do outro, tal como origem étnica e consumo dietético de alguns alimentos, um estudo de controle de casos pode encontrar uma associação significativa entre a doença e a origem étnica quando, na verdade, são os hábitos dietéticos, associados à etnicidade, que são os responsáveis. Por exemplo, a menor frequência de doença arterial coronariana (CAD) entre os japoneses comparada com aquela vista nos norte-americanos torna-se menos pronunciada nos japoneses da primeira geração que emigraram para os EUA e adotaram os costumes dietéticos de seu novo lar.

Avaliação das Contribuições Relativas dos Genes e Ambiente para Doenças Complexas

CONCORDÂNCIA E ALELOS COMPARTILHADOS ENTRE PARENTES

Quanto mais proximamente aparentadas forem duas pessoas em uma família, mais alelos elas têm em comum, herdados de seus ancestrais comuns. Ao contrário, quanto mais afastado o parente estiver do probando, menos alelos serão compartilhados entre o probando e o parente. Uma maneira de analisar minuciosamente a contribuição dos efeitos ambientais na doença multifatorial é comparar a concordância da doença nos parentes que são ligados de modo mais próximo ou menos próximo ao probando. Quando os genes são contribuintes importantes para uma doença, a frequência de concordância da doença aumenta à medida que o grau de parentesco aumenta. Os exemplos mais extremos de duas pessoas tendo alelos em comum são os gêmeos idênticos (**monozigóticos [MZ]**) (ver adiante neste capítulo), que têm os mesmos alelos em cada locus. Em seguida, as pessoas relacionadas de maneira mais próxima em uma família são os parentes em primeiro grau, tais como um genitor e seu filho ou um par de irmãos, incluindo os gêmeos fraternos (**dizigóticos [DZ]**). Em um par genitor-filho, a criança tem apenas um alelo em comum com cada genitor em cada locus, isto é, o alelo que a criança herda deste genitor. Para um par de irmãos (incluindo os gêmeos DZ), a situação é um pouco diferente. Um par de irmãos herda os mesmos dois alelos em um locus em 25% das vezes, nenhum alelo em comum em 25% das vezes e apenas um alelo em comum em 50% das vezes (Fig. 15.1) Em qualquer locus, o número médio de alelos que um irmão compartilha com outro é, portanto, dado por

$$0,25 (2 \text{ alelos}) + 0,5 (1 \text{ alelo}) + 0,25 (0 \text{ alelo}) = 1 \text{ alelo}$$

Por exemplo, se os genes predisõem a uma doença, pode-se esperar que λ_c seja maior para os gêmeos MZ (ver Quadro 15.2), diminua para os parentes em primeiro grau, tais como os irmãos ou pares genitor-filho, e continue a diminuir à medida que o

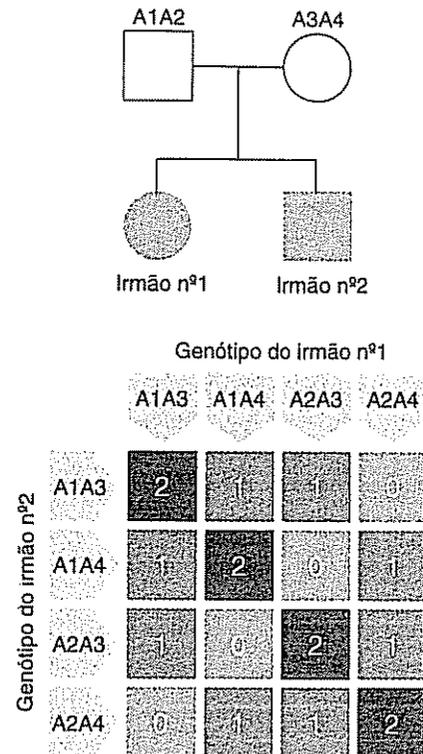


Fig. 15.1 O compartilhamento de alelos em um locus arbitrário entre irmãos concordantes para uma doença. Os genótipos dos pais são mostrados como A1A2 para o pai e A3A4 para a mãe. Todos os quatro genótipos possíveis para o irmão n.º 1 são dados na parte de cima do quadro e todos os quatro genótipos possíveis para o irmão n.º 2 são dados do lado esquerdo do quadro. Os números dentro dos boxes representam o n.º de alelos que ambos os irmãos têm em comum para todas as 16 diferentes combinações de genótipos entre eles. Por exemplo, o canto esquerdo superior tem o número 2 porque tanto o irmão n.º 1 quanto o irmão n.º 2 têm o genótipo A1A3 e, assim, têm os alelos A1 e A3 em comum. O canto esquerdo inferior contém o número 0 porque o irmão n.º 1 tem o genótipo A1A3, enquanto o irmão n.º 2 tem o genótipo A2A4; logo, não há alelos em comum.

compartilhamento de alelos diminui entre os parentes mais distantes de uma família (Quadro 15.3).

SEPARAÇÃO DE FATORES GENÉTICOS E AMBIENTAIS

Quanto mais proximamente aparentadas são duas pessoas, mais provável é que elas também compartilham ambientes familiares. Um modo de separar o ambiente familiar da influência genética

QUADRO 15-3

Grau de Parentesco e Alelos em Comum

Parentesco com o Probando	Proporção de Alelos em Comum com o Probando
Gêmeos monozigóticos	1
Parente em primeiro grau	1/2
Parente em segundo grau	1/4
Parente em terceiro grau	1/8

Ver Cap 5, Fig 5.2, para descrição dos graus de parentesco

é comparar a incidência da doença nos membros familiares não-aparentados (adotados, cônjuges) dos parentes biológicos. Em um estudo da esclerose múltipla, por exemplo, $\lambda_r = 20$ a 40 nos parentes biológicos de primeiro grau (genitores, filhos e irmãos), mas $\lambda_r = 1$ nos irmãos ou filhos adotados pela família, o que sugere que grande parte da agregação familiar na esclerose múltipla é genética e não de origem ambiental.

Estudos de Gêmeos

Outro método comum de separar as influências genéticas das ambientais sobre a doença é estudar os gêmeos, tanto MZ quanto DZ. Os gêmeos são os "experimentos da natureza" que chegam mais perto de fornecer uma oportunidade para avaliar as influências ambientais e genéticas separadamente em seres humanos. Os DZ criados juntos permitem que os geneticistas avaliem a concordância em parentes que crescem em ambientes similares, mas não compartilham todos os seus genes, enquanto os gêmeos MZ fornecem uma oportunidade para comparar parentes com genótipos idênticos que podem ou não ser criados juntos no mesmo ambiente. Os estudos de gêmeos tiveram um papel significativo em ajudar os geneticistas a avaliar as contribuições relativas dos genes e do ambiente na causa das doenças.

Os gêmeos MZ surgem da clivagem de um único zigoto fertilizado em dois zigotos separados no início da embriogênese. Como resultado, os gêmeos MZ têm genótipos idênticos em cada locus e são sempre do mesmo sexo. Eles ocorrem em cerca de 0,3% de todos os nascimentos, sem diferenças significativas entre grupos étnicos diferentes. Os gêmeos DZ surgem da fertilização simultânea de dois ovócitos por dois espermatozoides. Geneticamente, os gêmeos DZ são irmãos que compartilham um útero e, como todos os irmãos, compartilham, em média, 50% dos alelos em todos os loci. Os gêmeos DZ são do mesmo sexo em metade das vezes e de sexos opostos na outra metade. Os gêmeos DZ ocorrem com uma frequência que varia até cinco vezes em populações diferentes, desde 0,2% entre os asiáticos até mais de 1% dos nascimentos em partes da África e entre os afro-americanos, o que sugere que deve haver uma base herdável para as diferenças na frequência de gêmeos DZ.

DETERMINAÇÃO DA ZIGOSIDADE EM GÊMEOS

A determinação de se gêmeos do mesmo sexo são MZ ou DZ em geral requer um exame cuidadoso de muitas características, tais como o aspecto da placenta, o número de membranas coriônicas e amnióticas que circundam as crianças, as características físicas, tais como cor dos cabelos e olhos, as impressões digitais, os grupos sanguíneos e outros marcadores sorológicos (ver Caps. 6 e 14). O advento de marcadores altamente polimórficos de DNA (ver Cap. 6, Fig. 6.6) hoje nos dá uma determinação confiável da zigosidade com uma probabilidade extremamente alta e superou os métodos antigos.

CONCORDÂNCIA DE DOENÇA EM GÊMEOS MONOZIGÓTICOS

Um exame do quão frequentemente os gêmeos MZ são concordantes para uma doença é um método poderoso para determinar se apenas um genótipo é suficiente para produzir uma determinada doença. Por exemplo, se um gêmeo MZ tem anemia falciforme, o outro gêmeo também terá anemia falciforme. Em contraste, quando um gêmeo MZ tem diabetes melito tipo 1 (antes conhecido como insulino-dependente ou diabetes juvenil), apenas cerca

de 40% dos outros gêmeos também terão diabetes tipo 1. *Uma concordância de doença menor que 100% em gêmeos MZ é uma forte evidência de que fatores não-genéticos têm um papel na doença.* Tais fatores podem incluir influências ambientais, tais como exposição à infecção ou dieta, bem como outros efeitos, tais como mutação somática, efeitos de idade ou diferenças de inativação do X em um gêmeo em comparação com o outro.

COMPARAÇÃO DA CONCORDÂNCIA DE GÊMEOS MONOZIGÓTICOS VERSUS DIZIGÓTICOS

Os gêmeos MZ e os DZ de mesmo sexo compartilham um ambiente intra-uterino comum, o sexo e em geral são criados juntos, na mesma casa e pelos mesmos genitores. Assim, uma comparação de concordância para uma doença entre gêmeos MZ e dizigóticos do mesmo sexo mostra o quão frequentemente a doença ocorre quando os parentes que foram expostos ao mesmo ambiente pré-natal e, possivelmente, pós-natal têm todos os seus genes em comum comparados a apenas 50% de seus genes em comum. *Uma concordância maior em gêmeos MZ versus gêmeos DZ é uma forte evidência de um componente genético da doença* (Quadro 15.4). Esta conclusão é mais forte para condições com início precoce, tais como os defeitos de nascimento. Para as doenças de manifestação tardia, tais como as doenças neurodegenerativas de vida adulta avançada, a suposição de que os gêmeos MZ e DZ são expostos a componentes similares durante sua vida adulta torna-se menos válida e, portanto, uma diferença em concordância fornece uma evidência menos forte de fatores genéticos na causa da doença.

GÊMEOS CRIADOS SEPARADOS

Se os gêmeos MZ são separados ao nascimento e criados separadamente, os geneticistas têm a oportunidade de observar a concordância em indivíduos com genótipos idênticos criados em ambientes diferentes. Tais estudos foram usados inicialmente em pesquisas de distúrbios psiquiátricos, abuso de substâncias e distúrbios alimentares, nos quais fortes influências ambientais dentro da família são vistas como tendo um papel no desenvolvimento da doença. Por exemplo, em um estudo de alcoolismo, cinco ou seis pares de gêmeos MZ criados separados eram concordantes

QUADRO 15-4

Taxas de Concordância em Gêmeos MZ e DZ

Distúrbio	Concordância (%)	
	MZ	DZ
Epilepsia não-traumática	70	6
Esclerose múltipla	17,8	2
Diabetes tipo 1	40	4,8
Esquizofrenia	53	15
Osteoartrite	32	16
Artrite reumatóide	12,3	3,5
Psoríase	72	15
Fenda labial com/sem palato fendido	30	5
Lupus eritematoso sistêmico	22	0

Dados adaptados de Rimoin D L, Connor J M, Pyeritz R E (1997) Emery e Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics, 3.ª ed. Churchill Livingstone, Edinburgh; King R A, Rotter J I, Motulsky A G (1992) The Genetic Basis of Common Diseases. Oxford University Press, Oxford, Inglaterra; Tsuang M T. (1998) Recent advances in genetic research on schizophrenia J Biomed Sci 5:28-30

para o alcoolismo, uma taxa de concordância pelo menos tão alta quanto aquela vista entre os gêmeos MZ criados juntos, o que sugere que fatores genéticos compartilhados são bem mais importantes que um ambiente compartilhado.

Limitações dos Estudos em Gêmeos

Muito embora os estudos de gêmeos sejam úteis para distinguir o efeito dos fatores genéticos e ambientais na doença, eles devem ser interpretados com cuidado por vários motivos. Primeiro, os gêmeos MZ não têm uma expressão gênica exatamente idêntica, a despeito de terem genótipos idênticos: por exemplo, no cromossomo X, a inativação aleatória do X após a clivagem em dois zigotos MZ femininos produz diferenças significativas na expressão dos alelos de genes ligados ao X em tecidos diferentes (ver Cap. 5, Fig. 5.16). Os rearranjos somáticos de imunoglobulina e loci receptores de células T também irão diferir entre os gêmeos MZ em vários subgrupos de linfócitos (ver Cap. 14). Segundo, as exposições ambientais podem não ser as mesmas para os gêmeos, especialmente quando os gêmeos atingem a vida adulta e deixam o lar. Mesmo o ambiente intra-uterino pode não ser o mesmo. Por exemplo, os gêmeos MZ com frequência compartilham uma placenta, e pode haver uma disparidade entre os gêmeos no suprimento de sangue, no desenvolvimento intra-uterino e no peso de nascimento. Terceiro, é importante notar que as medidas da concordância para doença nos gêmeos MZ dão uma estimativa média que pode não ser precisa se os alelos predisponentes ou fatores ambientais forem diferentes em pares diferentes de gêmeos. Suponha que o genótipo de um par de gêmeos gere um risco maior para a doença que o genótipo de outro par. A concordância observada será uma média que não se aplica de fato a nenhum dos pares de gêmeos. Como um exemplo mais extremo, a doença pode nem sempre ser de origem genética, isto é, podem existir fenocópias não-genéticas. Se apenas o genótipo causar a doença em alguns pares de gêmeos (concordância de 100% em gêmeos MZ) e uma fenocópia não-genética afetar um gêmeo do par em outro grupo de gêmeos (concordância de 0% em gêmeos MZ), os estudos de gêmeos mostrarão um nível intermediário de concordância maior que 0% e menor que 100% que não se aplica de fato a nenhuma das formas da doença. Por fim, a tendenciosidade de averiguação é um problema, particularmente quando um gêmeo com uma determinada doença é solicitado a pedir que o outro gêmeo participe de um estudo (**averiguação em base voluntária**), em vez de serem averiguados primeiro como gêmeos e apenas depois sua situação de saúde ser examinada (**averiguação baseada na população**). A averiguação em base voluntária pode dar resultados tendenciosos porque os gêmeos, em particular os MZ, que podem ser emocionalmente ligados, têm mais probabilidade de ser voluntários se forem concordantes do que se não forem, o que eleva a taxa de concordância. Para uma primeira aproximação, entretanto, os gêmeos oferecem uma oportunidade incomum para estudar a ocorrência da doença quando as influências genéticas são mantidas constantes (medindo-se a concordância da doença nos gêmeos MZ criados juntos ou separados) ou quando diferenças genéticas estão presentes, mas as influências ambientais são similares (comparando-se a concordância da doença em gêmeos MZ *versus* DZ).

ANÁLISE GENÉTICA DE CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS

Os valores fisiológicos mensuráveis, tais como a pressão sanguínea, o colesterol sérico e o índice de massa corpórea (como uma

medida de obesidade), variam entre indivíduos diferentes e são determinantes importantes de saúde e doença na população. Tal variação em geral se deve a diferenças nos genótipos, bem como a fatores não-genéticos (ambientais). O desafio para os geneticistas é determinar a amplitude com que os genes contribuem para esta variabilidade, identificar estes genes e averiguar os alelos responsáveis.

Distribuição Normal

Como em geral é o caso com valores fisiológicos avaliados em uma população, um gráfico do número de indivíduos de uma população (eixo y) que tenha um determinado valor quantitativo (eixo x) produz a familiar curva em forma de sino conhecida como **distribuição normal (gaussiana)** (Fig. 15.2). Em um gráfico da frequência populacional de um valor distribuído normalmente, a posição do pico do gráfico e a forma do gráfico são controladas por duas quantidades: a **média** (μ) e a **variança** (σ^2), respectivamente. A média é a média aritmética dos valores, e, como mais pessoas têm valores da característica próximos à média, a curva tem seu pico no valor médio. A **variança** (ou sua raiz quadrada, o **desvio padrão**, σ) é uma medida do grau de amplitude dos valores para ambos os lados da média e determina a largura da curva. Qualquer valor fisiológico que possa ser dosado é um **fenótipo quantitativo**, com uma média e uma variança. A variança de uma quantidade medida na população é, portanto, chamada de **variança fenotípica total**.

A Faixa Normal

O conceito de faixa normal de uma quantidade fisiológica é fundamental na medicina clínica. Por exemplo, estatura muito alta ou baixa, hipertensão, hipercolesterolemia e obesidade são todas consideradas anormais quando um valor fica claramente fora da faixa normal. Ao avaliar a saúde e a doença em crianças, a altura, o peso, a circunferência da cabeça e outras medidas são comparadas com as medidas "normais" que se espera para o sexo e a idade da criança. Mas como é determinada a "faixa normal"? Em muitas situações em medicina, um determinado valor fisiológico medido é "normal" ou "anormal" dependendo do quanto ele dista acima ou abaixo da média. A distribuição normal fornece orientações para estabelecer os limites da faixa normal. A teoria estatística básica diz que quando uma característica quantitativa é normalmente distribuída em uma população, apenas cerca de 5% da população terá medidas maiores que 2 desvios padrão acima ou abaixo da média populacional. (Note que a palavra "normal" é usada aqui de dois modos diferentes. Avaliar que um valor fisiológico tem uma distribuição normal na população e dizer que um valor individual está na faixa normal são usos diferentes da mesma palavra.)

Agregação Familiar de Características Quantitativas

Do mesmo modo que a agregação familiar, medida por λ , e pelos estudos de controle de casos, é usada para avaliar o papel da hereditariedade nas doenças qualitativas, os estudos familiares também podem ser usados para determinar o papel da hereditariedade nas características quantitativas. As características quantitativas, entretanto, não estão presentes ou ausentes. Elas são medidas. Em consequência, não podemos simplesmente comparar a prevalência da doença nos parentes *versus* nos

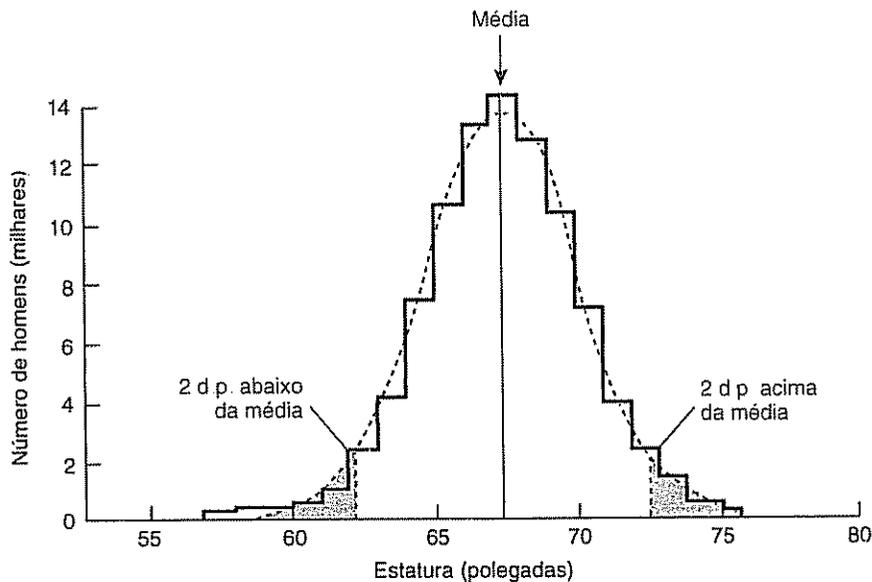


Fig. 15.2 Distribuição da estatura em uma amostra de 91 163 homens jovens ingleses em 1939. A linha vermelha é uma curva normal (gaussiana) com a mesma média e desvio padrão ($d p$) que os dados observados. As áreas escuras indicam pessoas com estatura incommumente alta ou baixa (maior que dois $d p$ acima ou abaixo da média) (Adaptada de Harrison G. A., Weiner J. S., Tanner J. M. *et al* [1977] *Human Biology*, 2ª ed. Oxford University Press, Oxford, Inglaterra) 1 polegada = 2,54 cm

controles ou o grau de concordância nos gêmeos. Em vez disso, os geneticistas medem a **correlação** de valores fisiológicos específicos entre os parentes, isto é, a tendência de que os valores reais de uma avaliação fisiológica sejam mais similares entre os parentes do que entre a população em geral. O **coeficiente de correlação** (simbolizado pela letra r) é uma medida estatística aplicada a um par de medidas, tais como, por exemplo, a pressão sanguínea de uma pessoa e a pressão sanguínea média dos irmãos desta pessoa. Existirá uma **correlação positiva** entre a pressão sanguínea medida em um grupo de pacientes e as medidas de pressão sanguínea de seus parentes se for encontrado que quanto mais alta a pressão sanguínea do paciente, maiores as pressões sanguíneas dos parentes do paciente. (Existe uma **correlação negativa** quando quanto maior é o aumento na medida do paciente, mais baixa é a medida nos parentes do paciente. As medidas ainda estão correlacionadas, mas em sentido oposto.) O valor de r pode variar de 0, quando não há correlação, a $+1$ para uma correlação positiva e a -1 para uma perfeita correlação negativa.

A Fig. 15.3 mostra um gráfico da altura média de mais de 200 pares de genitores plotados contra a altura média de seus quase 1.000 filhos adultos. Há uma correlação positiva, mas não perfeita ($r = \pm 0,6$), entre a altura parental média e a altura média de seus filhos.

A correlação entre parentes pode ser usada para avaliar a influência genética em uma característica quantitativa se for suposto que o grau de similaridade nos valores da característica medida entre os parentes é proporcional ao número de alelos que eles compartilham em loci relevantes para esta característica. Quanto mais próximo o parentesco das pessoas em uma família, mais provável é que elas compartilhem alelos em loci que determinam a característica quantitativa e mais fortemente correlacionados serão seus valores. Entretanto, como nas características de doenças que são encontradas segregando em famílias porque os parentes compartilham genes e fatores ambientais, a correlação de um determinado valor fisiológico entre parentes reflete a influência tanto da hereditariedade quan-

to dos fatores ambientais comuns. Uma correlação não indica que os genes sejam totalmente responsáveis por qualquer correlação que exista.

Herdabilidade

O conceito de **herdabilidade** (simbolizado por h^2) foi desenvolvido para quantificar o papel das diferenças genéticas na determinação da variabilidade das características quantitativas. A herdabilidade é definida como a fração da variância fenotípica total de uma característica quantitativa que é causada por genes e é, portanto, uma medida da extensão na qual diferentes alelos em vários loci são responsáveis pela variabilidade de uma determinada característica quantitativa vista em uma população. Quanto maior a herdabilidade, maior a contribuição das diferenças genéticas entre as pessoas no que diz respeito a causar variabilidade da característica. O valor de h^2 varia de 0, se os genes não contribuem para a variância fenotípica total, a 1, se os genes são totalmente responsáveis pela variância fenotípica.

A herdabilidade de uma característica é um conceito um tanto teórico que é estimado pela correlação entre as medidas desta característica entre os parentes de conhecidos graus de parentesco, tais como pais e filhos, irmãos ou, como descrito em seguida, gêmeos MZ e DZ. Existem, entretanto, várias dificuldades práticas para medir e interpretar a h^2 . Uma delas é que os parentes compartilham mais que seus genes; eles também compartilham exposições ambientais e, assim, a correlação entre parentes pode não refletir apenas seu parentesco. Mesmo quando a herdabilidade de uma característica é alta, ela não revela o mecanismo subjacente de herança da característica, tal como o número de loci envolvidos ou como os vários alelos nestes loci interagem. Finalmente, embora seja tentador pensar em herdabilidade como uma qualidade intrínseca de uma característica quantitativa em particular, ela não pode ser considerada isolada do grupo populacional e das condições de vida nas quais a estimativa está sendo feita.

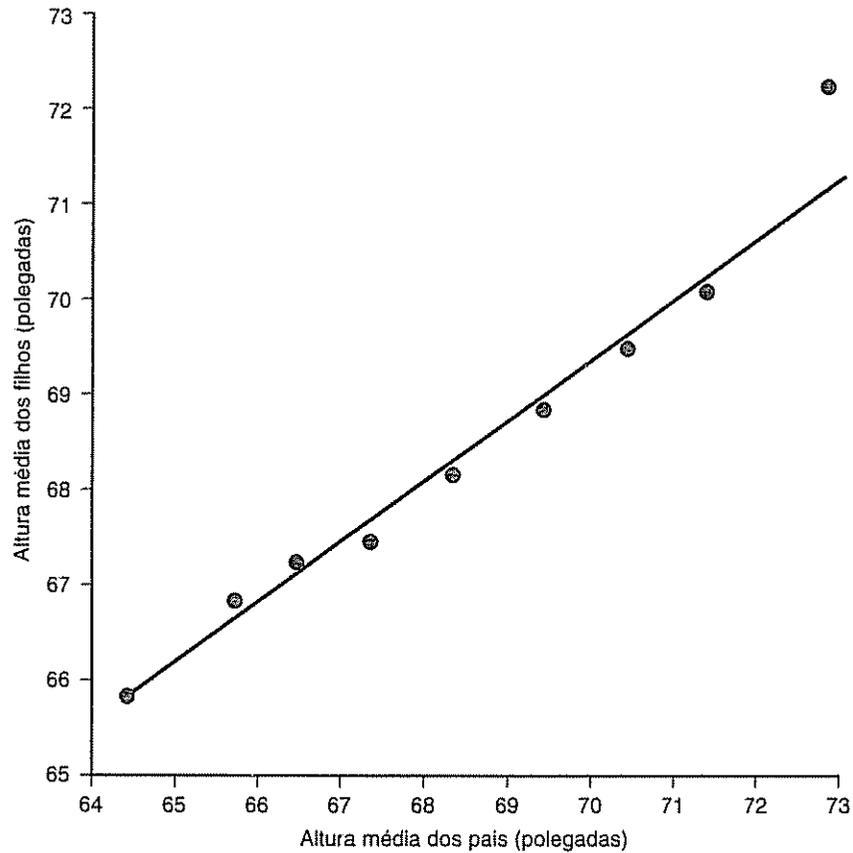


Fig. 15.3 Correlação entre a altura parental média e a altura dos filhos. A altura média dos pais dentro de intervalos de 1 polegada (64 a 65 polegadas, 65 a 66 polegadas etc.) é plotada ao longo da abscissa. A altura média dentro de um intervalo de 1 polegada de seus filhos é plotada na ordenada. A linha reta é um "ajuste melhor" entre os pontos. (O observador astuto notará que a inclinação da linha não é de 45 graus. Isto reflete o fato de que os filhos de pais altos, embora ainda mais altos que a média, tendem a ser mais baixos que seus pais, enquanto os filhos de pais baixos, embora ainda mais baixos que a média, tendem a ser mais altos que seus pais. Este fenômeno, conhecido como "regressão à média", foi observado há mais de 100 anos por Galton.) 1 polegada = 2,54 cm

ESTIMATIVA DE HERDABILIDADE EM ESTUDOS DE GÊMEOS

Do mesmo modo que os dados de gêmeos podem ser usados para avaliar os papéis separados dos genes e do ambiente nas doenças qualitativas, eles também podem ser usados para estimar a herdabilidade de uma característica quantitativa. A variância nos valores de uma medida fisiológica feita em um conjunto de gêmeos MZ (que compartilham 100% de seus genes) é comparada com a variância nos valores desta medida feitos em um conjunto de gêmeos DZ (que compartilham 50% de seus genes, em média). A fórmula para o cálculo de h^2 é dada por

$$h^2 = \frac{\text{variância em pares DZ} - \text{variância em pares MZ}}{\text{variância em pares DZ}}$$

(A derivação desta equação está além do escopo deste livro.) Se a variabilidade da característica for determinada principalmente pelo ambiente, a variância dentro de pares de gêmeos DZ será muito similar àquela vista dentro de pares de gêmeos MZ, e o numerador — e, portanto, a própria h^2 — se aproximará de 0. Se a variabilidade for determinada exclusivamente pela constituição genética, a variância de pares MZ será zero, e h^2 será 1.

A estatura do adulto tem sido estudada pelos geneticistas por décadas como um modelo de como as contribuições genéticas

e ambientais para uma característica quantitativa podem se somar. Foi coletado um grande número de medidas (de militares recrutados, por exemplo). Um gráfico da frequência de várias alturas na população (ver Fig. 15.2) demonstra uma curva em forma de sino que se ajusta à distribuição normal. Usando o método dos gêmeos em amostras colhidas no nordeste da Europa, a h^2 é estimada como sendo de cerca de 0,8, o que indica que a maior parte da variabilidade na estatura entre os indivíduos deve-se a diferenças genóticas entre eles, e não a diferenças nas exposições ambientais. Assim, os genes têm um papel bem maior na determinação da estatura adulta do que o ambiente.

Como outro exemplo, uma comparação de gêmeos MZ criados juntos ou separados com gêmeos DZ criados juntos ou separados é um modo clássico de medir a herdabilidade de características complexas. Os estudos do índice da massa corpórea dos gêmeos mostrou um alto valor de herdabilidade, indicando que há uma forte influência da herdabilidade no índice de massa corpórea ($h^2 = 0,70$ a $0,80$).

É preciso fazer várias suposições simplificadoras quando se usam gêmeos para estimar a herdabilidade. A primeira é que os gêmeos MZ e DZ do mesmo sexo e criados juntos só diferem no que diz respeito a compartilhar todos os genes (MZ) ou, em média, a metade deles (DZ), embora suas experiências e exposições ambientais sejam idênticas. Ao analisar a herdabilidade da estatura, tais suposições podem não

Características da Herança de Doenças Complexas

1. As doenças com herança complexa não são distúrbios monogênicos e não demonstram um padrão mendeliano simples de herança.
2. As doenças com herança complexa demonstram agregação familiar, pois é mais provável que os parentes de uma pessoa afetada tenham alelos de predisposição a doenças em comum com a pessoa afetada que as pessoas não-aparentadas.
3. Os pares de parentes que compartilham genótipos de predisposição à doença em loci relevantes podem ainda ser discordantes para o fenótipo (falta de penetrância) devido ao papel crucial de fatores não-genéticos na causa das doenças. Os exemplos mais extremos de falta de penetrância, a despeito de genótipos idênticos, são os gêmeos monozigóticos (MZ) discordantes.
4. A doença é mais comum entre parentes próximos do probando e torna-se menos comum em parentes que são menos próximos. Espera-se uma concordância maior para a doença entre os gêmeos MZ *versus* os dizigóticos (DZ)

estar muito distantes do esperado, mas elas são muito mais difíceis de justificar quando se estima a herdabilidade de medidas quantitativas mais complicadas, tais como o índice de massa corpórea ou valores em perfis de personalidade e testes de QI. Outro problema importante é que nem sempre é possível extrapolar a herdabilidade estimada para os gêmeos para a população como um todo, para grupos étnicos diferentes ou mesmo para o mesmo grupo, se as condições socioeconômicas mudam com o tempo.

MAPEAMENTO GENÉTICO DE CARACTERÍSTICAS COMPLEXAS

Uma vez que uma doença herdada como uma característica complexa demonstre ter um componente hereditário, a etapa seguinte é mapear os genes envolvidos e identificá-los. Dois enfoques importantes têm sido usados para localizar e identificar genes que predisõem a doenças complexas ou contribuem para a variação genética de características quantitativas. O primeiro é um tipo de análise de ligação que se baseia em pares de membros familiares, tais como irmãos, que são concordantes para o fenótipo (**método do membro afetado da família**). Como mostra a Fig. 15.1, os irmãos têm, em média, 50% de seus alelos em comum (idênticos por descendência de seus genitores comuns) em qualquer locus. Se uma região do genoma é compartilhada com mais frequência do que se poderia esperar por parentes concordantes para um determinado fenótipo, deduz-se que existam alelos que predisõem a este fenótipo em um ou mais loci nesta região. O segundo enfoque é a **associação**, que procura frequências aumentadas de alelos em particular em pessoas afetadas em comparação com indivíduos não-afetados na população. Ambos os enfoques têm vantagens e desvantagens em situações específicas, como descrito mais adiante.

Análise de Ligação Livre de Modelo de Doenças Complexas

A análise padrão de ligação, como descrita no Cap. 8, é um método poderoso para o mapeamento dos distúrbios monogênicos, mas raramente é aplicável às características complexas. A análise de ligação depende de que se suponha um modo de herança e então se conte a prole não-recombinante e recombinante nas famílias para (1) determinar se há evidência de um locus genético que recombinante com o locus da doença em uma frequência θ que seja menor que os 50% esperados com loci não-ligados e (2) avaliar o valor do parâmetro θ que dá o mais alto valor lod, θ_{max} (ver Cap. 8). Este enfoque da análise de ligação é chamado de **análise de ligação baseada em modelo** (ou **paramétrica**) porque supõe que há um modo particular de herança (autossômica dominante, autossômica recessiva ou ligada ao X) que explica o padrão de herança. Por sua natureza, as doenças herdadas como características complexas nem sempre são passíveis de uma análise que dependa de se saber que uma mutação em um único gene, herdado em um padrão de herança mendeliano específico, causa a doença. Ao contrário, os **métodos livres de modelo** (ou **não-paramétricos**) foram desenvolvidos sem fazer suposição quanto ao número de loci ou o papel do ambiente e a chance de causar falta de penetrância. Os métodos livres de modelo dependem apenas da suposição de que dois parentes afetados terão alelos em comum de predisposição à doença.

Um tipo de análise do modelo livre é o **método do par de gêmeos afetados**. Apenas os irmãos concordantes para uma doença são usados, eliminando-se, assim, o problema de determinar se uma pessoa não-afetada é um portador não-penetrante dos alelos que predisõem à doença ou simplesmente não os herdou. Nenhuma suposição precisa ser feita sobre o número de loci envolvidos ou o padrão de herança. Em vez disso, os irmãos são analisados para determinar se existem loci nos quais pares de irmãos afetados compartilham alelos com mais frequência que os 50% esperados apenas por acaso (ver Fig. 15.1). O que acontece se centenas de pares de irmãos concordantes para a doença forem sistematicamente estudados quanto ao compartilhamento de alelos em loci ao longo do genoma? Tenha em mente que podem haver múltiplos loci que predisõem à doença; logo, nem todos os pares de irmãos concordantes para uma doença compartilharão alelos nos mesmos loci. Entretanto, se um locus em particular for um contribuinte importante para a doença, será visto um grau de compartilhamento de alelos mais significativo que o grau esperado neste locus na coleção de pares de irmãos. Se o grau de compartilhamento de alelos diverge significativamente dos 50% esperados apenas por acaso, pode ser avaliado usando-se a proporção de *maximum likelihood*, assim como a análise de ligação baseada em modelo usa o valor lod para avaliar se uma frequência de recombinação menor que 50% é significativa (ver Cap. 8).

No método do par de irmãos afetados, o DNA dos irmãos afetados é sistematicamente analisado usando-se centenas de marcadores polimórficos ao longo de todo o genoma (**uma varredura genômica**) à procura de regiões que são compartilhadas por dois irmãos significativamente com mais frequência que o que se poderia esperar em uma base apenas aleatória. Quando são encontrados graus elevados de compartilhamento de alelos em um marcador polimórfico, isto sugere que um locus envolvido na doença está situado perto do marcador. Entretanto, considere que quanto mais polimórficos forem os loci estudados, mais provável será que um locus apresente um compartilhamento de alelos elevado apenas por acaso. Para compreender o porquê,

considere o exemplo de lançar uma moeda. Embora seja improvável que um único experimento de lançar uma moeda cinco vezes resulte em cinco caras, é muito provável que, se o experimento for repetido centenas de vezes, pelo menos um dentre as centenas de experimentos produza cinco caras. Níveis significativos e um valor de lod correspondente (ver Cap. 8) para aumento de compartilhamento de alelos em uma varredura genômica usando cerca de 400 marcadores foram propostos para reduzir o risco de atribuir significância imprópria ao que é apenas uma flutuação dos níveis esperados de compartilhamento de alelos. Nesta situação, um valor lod maior que aproximadamente 3,6 para compartilhamento de alelos em um locus ocorreria com uma probabilidade de menos de 1 em 20 apenas por acaso. Um valor lod maior que 5,4 ocorreria por acaso apenas uma vez em 1.000 estudos.

Embora o método de par de irmãos afetados evite fazer suposições possivelmente incorretas sobre quantos loci estão envolvidos e como os alelos nestes vários loci interagem para causar uma doença, isto é feito ao custo de ser insensível e impreciso. Sua insensibilidade reflete-se no fato de que grandes números de pares de irmãos são necessários para detectar um desvio significativo dos 50% esperado de compartilhamento de alelos. Suponha, por exemplo, que um alelo em um locus de doença tenha uma frequência de 10% na população e aumente quatro vezes o risco de doença nos heterozigotos e 16 vezes nos homozigotos. Nesta situação, nas melhores circunstâncias, estima-se que seriam necessários 185 pares de irmãos para detectar uma elevação de compartilhamento de alelos para quase 60%. Se o locus for um contribuinte relativamente infrequente para a doença ou causar muito menos aumento no risco da doença que quatro vezes nos heterozigotos, uma elevação de compartilhamento de alelos maior que 50% será proporcionalmente menor, e seriam necessários muito mais pares de irmãos, na casa de milhares ou dezenas de milhares, para detectar o locus. Assim, do ponto de vista prático, é improvável que os métodos de pares de irmãos afetados identifiquem loci nos quais apenas alguns alelos raros causam pequenas contribuições para uma doença.

Os métodos livres de modelo também são imprecisos. Como não estamos supondo que um único gene ou um determinado padrão de herança está envolvido, não podemos determinar definitivamente se ocorreu uma recombinação entre um possível locus predisponente à doença e o fenótipo da doença. Na estratégia de ligação baseada em modelo para mapeamento fino de uma doença monogênica (ver Cap. 8), encontrar marcadores bem próximos em ambos os lados do gene da doença que *se recombinem* pelo menos uma vez com o gene da doença define os limites de um intervalo pequeno e crucial, no qual deve estar o gene da doença. Os métodos livres de modelo só podem identificar amplas regiões com aumento de compartilhamento de alelos, e não uma região estreita e crucial que delimite a localização de um gene contribuinte para uma característica complexa.

Análise de Ligação Livre de Modelo e Características Quantitativas

Métodos de ligação livre de modelo baseados em compartilhamento de alelos também podem ser usados para mapear loci envolvidos em características quantitativas complexas. Embora vários enfoques estejam disponíveis, um exemplo interessante é o **método do par de irmãos altamente discordante**. Mais uma vez, não é necessária nenhuma suposição sobre o número de loci envolvidos ou o padrão de herança. Supõe-se que pares de irmãos altamente discordantes para a característica quantitativa, isto é,

com valores de uma dosagem fisiológica que estão nas extremidades opostas de uma curva em forma de sino, tenham menos probabilidade de compartilhar alelos que contribuem para a característica. O DNA de irmãos altamente discordantes é então sistematicamente analisado usando-se marcadores polimórficos ao longo de todo o genoma, à procura de regiões que sejam compartilhadas pelos dois irmãos significativamente com *menos* frequência que o que se poderia esperar em uma base apenas aleatória. Quando são encontrados níveis reduzidos de compartilhamento de alelos em um marcador polimórfico, isto sugere que o marcador está ligado a um locus cujos alelos contribuem para qualquer dosagem fisiológica que esteja em estudo.

Associação à Doença

O fato de um determinado alelo em um locus estar presente com uma frequência aumentada nos indivíduos afetados em comparação aos controles é conhecido como **associação à doença**. Os métodos de associação são uma forma de estudo de controle de casos no qual a frequência de *um determinado alelo* (tal como para o antígeno de HLA) em um locus é comparado entre os indivíduos afetados e aqueles não-afetados na população (ver Cap. 14). A intensidade de uma associação é medida pela **proporção das chances** (*odds ratio*), que é calculada pela frequência de um alelo específico em pacientes e controles.

	Com alelo	Sem alelo
Pacientes	a	c
Controles	b	d

a = n° de pacientes com o alelo; b = n° de controles com o alelo; c = n° de pacientes sem o alelo; d = n° de controles sem o alelo

A proporção das chances é então = ad/bc . Se a frequência do alelo em questão fosse a mesma nos pacientes e nos controles, a proporção das chances seria 1.

Por exemplo, em um estudo de um grupo de 120 pacientes com trombose cerebral ou de veia profunda (discutida mais adiante neste capítulo) e 120 controles, uma determinada mutação no gene de protrombina foi encontrada em 23 pacientes e 4 controles. A proporção das chances é então = $(23)(116)/(4)(97) = \pm 7$. Isto significa que as chances de desenvolver trombose são sete vezes maiores nas pessoas que possuem a mutação gênica de protrombina que nas que não possuem esta mutação.

Uma medida diferente mas correlata de associação é o **risco relativo (RR)**, que compara o risco de desenvolver a doença quando uma pessoa possui um alelo específico de risco em relação a outra que não o possui $RR = (a/(a+c))/(b/(b+d))$, aproximadamente igual às chances quando o alelo da doença é raro (p. ex., $b < d$ e $a < c$). No caso do alelo mutante de protrombina e da trombose, $RR = (23/120)/(4/120) = 5,75$. (Não confunda RR com λ_r , o risco relativo, já discutido neste capítulo. λ_r é a prevalência de um fenótipo específico de doença nos parentes de uma pessoa afetada *versus* a população em geral.)

PONTOS FORTES E FRACOS DOS ESTUDOS DE ASSOCIAÇÃO

Os métodos de associação são poderosos instrumentos para identificar precisamente os genes que contribuem para as doenças genéticas porque demonstram não só os genes, mas também os alelos específicos responsáveis. Eles também são relativamente

fáceis de fazer porque precisamos de amostras apenas de um grupo de indivíduos afetados e de controles, não sendo necessário fazer estudos familiares trabalhosos e coleta de amostras de membros de um heredograma. Os estudos de associação devem ser interpretados com cautela, pois as chances aumentadas para um alelo em um determinado locus não provam que o alelo ou mesmo o locus no qual o alelo reside está envolvido na patogenia da doença.

Existem duas maneiras pelas quais as chances de possuir um determinado alelo podem ser aumentadas em pacientes com uma doença, sem que o alelo esteja envolvido na doença. Primeira, o alelo em questão pode estar em desequilíbrio de ligação (ver Cap. 8) com um alelo bem diferente em outro locus desconhecido, mas próximo, que de fato está envolvido na patogenia da doença. Quaisquer alelos em loci que estejam em desequilíbrio de ligação com o alelo e o locus envolvido na doença mostrarão chances aparentemente aumentadas e uma associação positiva. Uma segunda, e ainda mais séria, limitação dos estudos de associação é que eles são sensíveis ao efeito da estratificação da população (ver Cap. 7). Se uma população é estratificada em subpopulações separadas (tais como etnicidade e religião) e os membros de uma subpopulação raramente se reproduzem com membros de outras subpopulações, então a doença que é mais comum em uma subpopulação pode parecer (incorretamente) estar associada a quaisquer alelos que também sejam mais comuns nesta subpopulação que na população como um todo. As associações artificiais devidas à estratificação da população podem ser minimizadas, entretanto, com uma cuidadosa seleção dos controles, bem como com o uso de métodos mais sofisticados baseados em famílias para testar a associação entre uma doença e determinados alelos.

DOENÇAS COM HERANÇA COMPLEXA

Os distúrbios multifatoriais comuns que contribuem para grande parte da morbidade e mortalidade em crianças e adultos têm sido sempre um problema para os geneticistas. Usando a agregação familiar, as proporções de riscos relativos, os estudos de gêmeos e as estimativas de herdabilidade e concordância, a contribuição genética para as doenças ou características quantitativas com herança complexa pode ser deduzida e mesmo quantificada, sem especificar exatamente como muitos loci estão envolvidos ou como um genótipo em particular e um conjunto de influências ambientais resultam em uma doença ou em um valor determinado de uma característica quantitativa. Esta falta de precisão é um reflexo de nosso estado atual de conhecimentos. Em contraste com os defeitos monogênicos mendelianos, *existe apenas um punhado de doenças multifatoriais ou características humanas quantitativas para as quais os modelos genéticos subjacentes (o número de loci, a natureza dos fatores ambientais e a interação deles) são conhecidos.* Esta falta de conhecimento prejudica gravemente nossa capacidade de compreender o papel da hereditariedade nas doenças multifatoriais e de fazer previsões precisas quanto ao risco de doença em parentes com o fim de informação genética.

Historicamente, os geneticistas têm tentado compreender os mecanismos subjacentes pelos quais doenças complexas ou características quantitativas são herdadas criando modelos teóricos. Nestes modelos, os geneticistas especificam um conjunto de alelos em vários loci, vários fatores ambientais e a natureza das interações entre estes fatores, e então testam os modelos quanto

à sua eficácia em prever o padrão de herança de uma doença observada em famílias e pacientes. Um bom ajuste entre a previsão teórica e a observação sugeriria que o modelo teórico é uma boa aproximação do verdadeiro mecanismo subjacente à doença. Infelizmente, muitos modelos diferentes podem resultar em padrões de herança quase idênticos, o que dificulta saber qual modelo está mais próximo do mecanismo subjacente correto. Com os avanços na tecnologia de mapeamento gênico, um segundo enfoque mais empírico está se tornando possível. Aplicando a análise de ligação livre de modelo e os estudos de associação em famílias, estão sendo determinados os loci e os alelos responsáveis por doenças herdadas como características complexas. A seguir, destacaremos o enfoque empírico em vez do teórico. Descrevemos várias doenças complexas, nas quais as contribuições genéticas começaram a ser identificadas, como exemplos de mecanismos genéticos responsáveis por doenças complexas. Apresentamos estas doenças em ordem de complexidade crescente, com os distúrbios mais bem conhecidos sendo discutidos primeiro.

Retinite Pigmentosa Digênica

Um exemplo simples de uma característica determinada pelo efeito aditivo de vários loci (**multigênica**) foi encontrado em algumas famílias de pacientes com uma forma de degeneração da retina chamada de retinite pigmentosa (Fig. 15.4). Duas mutações raras em dois genes diferentes não-ligados codificando proteínas encontradas no fotorreceptor estão presentes na família. Os pacientes heterozigotos, seja para uma determinada mutação de sentido trocado em um gene, codificando a proteína de membrana fotorreceptora periférica, ou para um alelo nulo no outro gene, codificando uma proteína de membrana fotorreceptora chamada Rom 1, não desenvolvem a doença. Os pacientes heterozigotos para ambas as mutações desenvolvem a doença. Assim, a herança desta doença é causada pela forma simples de herança multigênica, a herança digênica. Estas duas proteínas fotorreceptoras estão associadas não-covalentemente no empilhamento dos discos membranares que contêm os pigmentos visuais. Supõe-se que o efeito deletério de cada mutação isoladamente é insuficiente para causar a doença, mas sua presença conjunta é suficiente para ultrapassar um limiar de dano celular, morte do fotorreceptor e perda da visão.

Trombose Venosa Cerebral

Um outro exemplo de dois alelos mutantes que interagem para predispor a uma doença é encontrado no distúrbio conhecido como **trombose cerebral idiopática**. Neste caso, entretanto, há um terceiro fator, uma influência ambiental que, na presença de fatores genéticos de predisposição, aumenta o risco da doença ainda mais. A trombose cerebral idiopática é uma oclusão catstrófica das veias cerebrais que ocorre na ausência de um evento provocador, tal como uma infecção ou um tumor. Ela afeta adultos jovens e, embora muito rara (< 1 por 100.000 na população), tem uma alta taxa de mortalidade (de 5% a 30%). Sabe-se que três fatores (dois genéticos e um ambiental) que levam a uma coagulabilidade anormal do sistema de coagulação aumentam individualmente o risco desta doença: uma mutação de sentido trocado comum em um fator de coagulação, o fator V, outra variante comum no fator de coagulação protrombina, e o uso de anticoncepcionais orais.

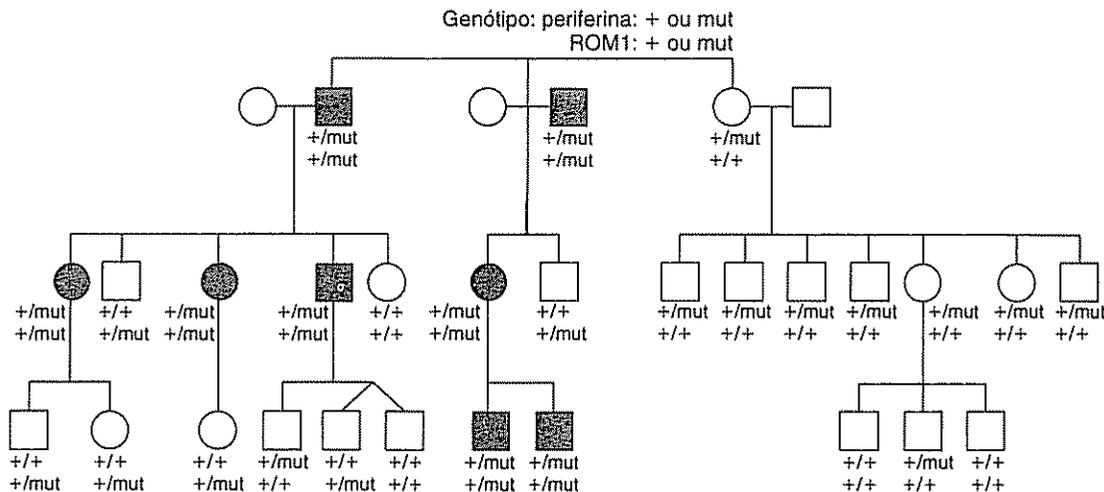


Fig. 15.4 Heredograma de uma família com retinite pigmentosa devida a uma herança digênica. Os símbolos preenchidos são pessoas afetadas. Cada genótipo das pessoas no locus da periferina (primeira linha) e no locus ROM1 (segunda linha) são escritos abaixo de cada símbolo. O alelo normal é +; o alelo mutante é mut. (De Kajiwara K., Berson E. L., Dryja T. P. [1994] Digenic retinitis pigmentosa due to mutations at the unlinked peripherin/RDS and ROM1 loci. Science 264:1604-1608.)

Um alelo mutante de fator V (fator V Leiden), no qual a arginina é substituída por glutamina na posição 506 (Arg506Gln), tem uma frequência alélica de cerca de 2,5% nos caucasianos, mas é mais rara em outros grupos populacionais. Os portadores heterozigotos do fator V Leiden têm um risco de trombose que é sete vezes maior que a população em geral. Os homozigotos têm um risco que é 80 vezes mais alto. Uma mutação no gene de protrombina que muda G por A na posição 20210 (G20210A) na região não-traduzida 3' tem uma frequência de cerca de 2,4% nos caucasianos, mas é rara em outros grupos. A mutação G20210A aumenta o risco de trombose venosa de três a seis vezes. Finalmente, o uso de anticoncepcionais orais aumenta o risco de trombose em 22 vezes, independente do genótipo nos loci do fator V e da protrombina, provavelmente aumentando os níveis de muitos fatores de coagulação no sangue. Usar anticoncepcionais orais e ser heterozigota para o fator V Leiden causa um modesto aumento no risco comparado a um dos fatores isoladamente. Se uma mulher usa anticoncepcionais orais e é heterozigota para a mutação de protrombina, seu risco relativo aumenta para 149! Assim, cada um destes três fatores, dois genéticos e um ambiental, por si só aumenta o risco de um estado de hipercoagulação anormal. Ter dois ou três destes fatores ao mesmo tempo aumenta ainda mais o risco para uma doença devastadora do sistema vascular cerebral.

Estes alelos nos loci do fator V e da protrombina, bem como um alelo para a metileno tetraidrofolato redutase sensível ao calor (ver discussão mais adiante), têm sido implicados como sérios fatores genéticos de predisposição à **trombose arterial placentária**. Possuir uma destas mutações aumenta o risco em uma média de cinco vezes em relação ao risco da população em geral para esta grave complicação obstétrica. A disfunção placentária resultante está associada à pré-eclâmpsia grave, à separação prematura da placenta da parede uterina, ao retardo do crescimento intra-uterino e ao natimorto.

A interação destes fatores genéticos com o uso de anticoncepcionais orais levou a uma proposta de que os médicos façam uma triagem nas mulheres quanto ao fator V de predisposição e mutações no gene de protrombina antes de prescrever pílula para o controle de natalidade.

Doença de Hirschsprung

Um conjunto mais complicado de fatores genéticos interativos foi descrito na patogenia de uma anomalia desenvolvimental do sistema nervoso parassimpático intestinal conhecida como **doença de Hirschsprung (HSCR)**. Na HSCR, há uma ausência completa de algumas ou de todas as células ganglionares intrínsecas no plexo submucóide e mesentérico do cólon. Um cólon aganglionar é incapaz de peristaltismo, o que resulta em grave constipação, sintomas de obstrução intestinal e intensa dilatação do cólon (megacólon) proximal ao segmento aganglionar. A ausência de células ganglionares em geral ocorre em um único segmento contínuo que pode variar de tamanho desde algumas polegadas na parte distal do cólon até todo o tamanho do cólon. O distúrbio afeta cerca de 1 em cada 5 000 nascimentos. A HSCR ocorre mais comumente como um defeito isolado envolvendo apenas um segmento curto do cólon, mas também envolve longos segmentos colônicos e também pode ocorrer como um elemento de uma constelação mais ampla de anomalias congênitas, incluindo surdez e anomalias pigmentares dos cabelos e olhos (a síndrome de Waardenburg-Shah).

O padrão hereditário da HSCR tem muitas das características de um distúrbio com uma genética complexa. O risco relativo para irmãos, λ_r , é muito alto (cerca de 200), mas os gêmeos MZ não apresentam uma concordância perfeita. A HSCR pode ocorrer ao longo de várias gerações ou pode afetar vários irmãos em uma família, ou ambos, sugerindo um distúrbio autossômico dominante ou recessivo, mas os riscos de recorrência não são estritamente de 50% ou 25%, como se poderia esperar para doenças autossômicas dominantes ou autossômicas recessivas. Os homens têm o dobro do risco de desenvolver HSCR que as mulheres dentro da mesma família.

A análise de ligação e seqüências de DNA nas famílias com vários probandos revelou que as mutações em muitos genes diferentes podem causar a doença. A condição é mais comumente devida a mutações no gene *RET* localizado em 10q11.2, codificando ret, um receptor de tirosina cinase. Uma minoria das pessoas com HSCR tem mutações no gene que codifica um dos ligandos que se associa a ret, o fator neutrofílico derivado da

linhagem de células gliais (*gdnf*), enquanto outras pessoas foram descritas com mutações em um de um par de genes, o receptor de endotelina B (*EDNRB*) em 13q22, e no gene *EDN3* codificante de seu ligando, a endotelina 3, em 20q13. O envolvimento da endotelina 3 e seu receptor na HSCR foi uma surpresa, pois acreditava-se que estas moléculas tinham um papel na formação dos vasos sanguíneos, e não no desenvolvimento do sistema nervoso autônomo. A relação entre as vias de sinalização de *EDNRB* e *RET* também é bastante obscura, mas ambas as vias parecem funcionar em paralelo, em vez de em série, para promover o desenvolvimento de células ganglionares colônicas.

Embora as mutações em *RET* sejam a causa mais comum da HSCR que afeta vários indivíduos de uma família, a penetrância destes alelos *RET* estará longe de ser completa. Em algumas famílias, a penetrância estará aumentada se estas pessoas também tiverem uma mutação no gene para um dos ligandos que sinalizam por meio de *ret*, tais como *gdnf*. Em outras famílias, alelos ainda não identificados no locus em 19q31 foram demonstrados, por análise de ligação, como aumentando a penetrância. A explicação mais provável para estas observações é que alguns alelos mutantes de *RET* ainda apresentam uma função residual suficiente para impedir o desenvolvimento da doença, a menos que uma disfunção adicional em outros componentes das vias relevantes de sinalização também ocorram.

De modo semelhante, em uma grande família endogâmica de Menonitas, a análise de ligação revelou que a expressão do fenótipo HSCR devido a uma mutação em *EDNRE* era fortemente influenciada pelo genótipo da pessoa no locus *RET*. A despeito desta evidência genética implicando *RET* na penetrância de uma mutação *EDNRE*, entretanto, a seqüência da região codificante de *RET* nestes pacientes não revelou uma mutação deletéria óbvia. Não encontrar uma mutação óbvia na região codificante de *RET* serve para ilustrar que as mutações ou polimorfismos responsáveis por modificar a expressão de uma característica multifatorial podem ser bem sutis no modo como exercem seus efeitos na expressão gênica e, em conseqüência, na penetrância e expressividade da doença.

A natureza multifatorial de HSCR foi mais atentamente enfocada quando a base genética da forma mais comum de HSCR, envolvendo apenas um curto segmento do cólon, foi

analisada em pares de irmãos concordantes para HSCR em famílias que não apresentavam nenhum padrão de herança dominante óbvio. A análise de ligação não-baseada em modelo (ver antes) em 67 pares de irmãos concordantes para HSCR revelou significativo compartilhamento de alelos em três loci: a região 10q11.2, onde *RET* está situado, e dois loci não-identificados em 3p21 e 19q12. A maioria dos 67 pares de irmãos concordantes para HSCR (55 de 67) compartilhava alelos em todos os três loci, enquanto apenas 12 pares de irmãos concordantes compartilhavam alelos em dois dos três loci. Nenhum dos pares de irmãos concordantes afetados compartilhava alelos em apenas um ou em nenhum dos loci (Fig. 15.5). O modelo mais provável para explicar estas observações é que alguns alelos de *RET*, o locus cromossômico 3p21, e o locus cromossômico 19q12 conferem alguma suscetibilidade à HSCR, mas não causam a doença por si. A HSCR é uma doença multifatorial que resulta dos efeitos aditivos de alelos de suscetibilidade em vários loci. Assim, os mecanismos genéticos subjacentes para esta malformação congênita relativamente bem definida mostraram-se surpreendentemente complexos. É provável, no entanto, que eles sejam mais simples que os mecanismos envolvidos em doenças complexas mais comuns, tais como a diabetes.

Diabetes Melito

Existem dois tipos principais de diabetes melito: **tipo 1 (insulino-dependente)** e **tipo 2 (não-insulino-dependente)**, que representam cerca de 10% e 88% de todos os casos, respectivamente. Estes dois tipos diferem na idade típica de início, na concordância em gêmeos MZ e nas associações a HLA. A agregação familiar é vista em ambos os tipos de diabetes, mas, em qualquer família, geralmente vemos ou o tipo 1 ou o tipo 2, mas não ambos.

DIABETES MELITO TIPO 1

A diabetes melito tipo 1 tem uma incidência na população caucasiana de cerca de 1 em 200 (0,5%) e em geral se manifesta na infância ou na adolescência. Ela resulta de uma destruição autoimune das células β do pâncreas, que normalmente produzem insulina.

Loci mostrando compartilhamento de alelos em 67 pares de irmãos concordantes para a doença de Hirschsprung

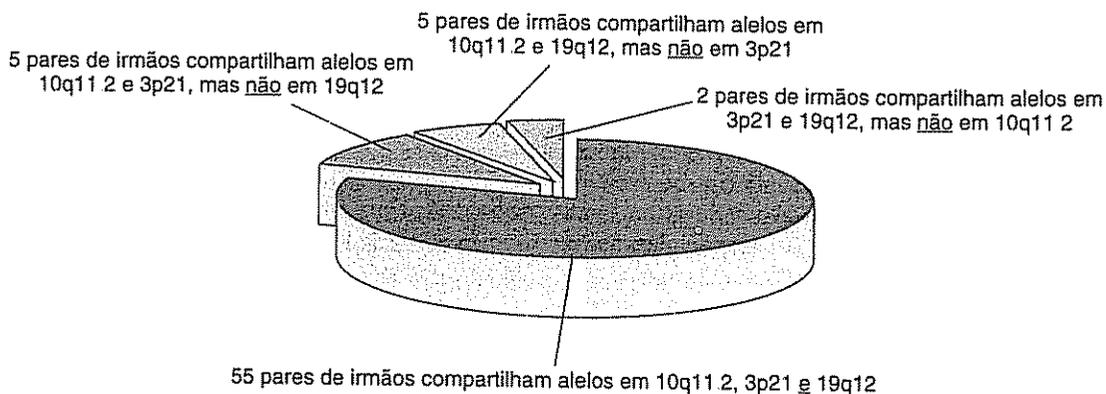


Fig. 15.5 Diagrama circular de concordância em 67 pares de irmãos concordantes para a doença de Hirschsprung, dividido de acordo com o número de loci para os quais os irmãos mostram compartilhamento de alelos. Os três loci estão situados em 10q11.2 (*RET*), 3p21 e 19q12 (Dados fornecidos por A. Chakravarti, Johns Hopkins University, Baltimore)

Associação de MHC na Diabetes Tipo 1. Os fatores genéticos apenas não causam a diabetes tipo 1, pois a taxa de concordância nos gêmeos MZ para a diabetes tipo 1 é de apenas cerca de 40%. Entretanto, há uma forte evidência de fatores genéticos entre os gêmeos MZ concordantes para a diabetes tipo 1, que excede em muito a concordância nos gêmeos DZ, e o risco para a diabetes tipo 1 em irmãos de um probando afetado é de cerca de 6%, resultando em uma estimativa de $\lambda_s = 6\%/0,5\% = 12$. Soubese que o locus MHC era o principal fator genético na diabetes tipo 1 quando um estudo de associação revelou que cerca de 95% de todos os pacientes com diabetes tipo 1 (em comparação com cerca de metade da população normal) são homocigotos para *HLA-DR3* ou *HLA-DR4*. Os heterocigotos *DR3/DR4* são particularmente suscetíveis à diabetes tipo 1. Esta é uma das mais fortes associações conhecidas entre MHC e doença (ver Cap. 14).

Como a destruição das células β responsável pela diabetes tipo 1 parece ser um processo auto-imune, faz sentido que exista uma associação entre alguns alelos (*DR3* e *DR4*) em um locus conhecido como regulador da resposta imune e propensão à doença auto-imune. Outros dados sobre os mecanismos subjacentes à associação de *DR3* e *DR4* com a diabetes tipo 1 vieram da análise molecular de diferentes haplótipos *DR* contendo vários alelos dos genes de HLA classe II, especialmente *DQ* (ver Cap. 14). A presença de ácido aspártico (Asp) na posição 57 da cadeia *DQ* (ver Fig. 14.1) está fortemente associada à resistência à diabetes tipo 1, enquanto outros aminoácidos nesta posição (alanina, valina ou serina) conferem suscetibilidade. Cerca de 90% dos pacientes com diabetes tipo 1 são homocigotos para os genes *DQ β* que não codificam Asp na posição 57. Considerando que a molécula *DQ*, e a posição 57 da cadeia β em particular, é crucial para a ligação do antígeno peptídico e apresentação às células T para resposta, é muito provável que a molécula *DQ*, em especial o aminoácido 57 de sua cadeia β , contribua diretamente para a resposta auto-imune que destrói as células do pâncreas produtoras de insulina.

Outros Genes Que Não os Loci de MHC Classe I na Diabetes Tipo 1. Os estudos familiares na diabetes tipo 1 (Quadro 15.5) sugerem que mesmo quando os irmãos compartilham os mesmos haplótipos *DR*, o risco de doença é de cerca de 13%, ainda bem abaixo da taxa de concordância nos gêmeos MZ, de cerca de 40%. Esta discrepância indica que o haplótipo de MHC sozinho contribui com apenas um terço (13%/40%) da contribuição genética para o risco de diabetes tipo 1 em irmãos do probando. Assim, devem existir outros genes, em outras partes do

genoma, que também predispoem ao desenvolvimento da diabetes tipo 1, supondo-se que os gêmeos MZ e os irmãos tenham exposições ambientais similares. Achar estes genes de predisposição é a meta de grandes estudos de mapeamento que estão usando os métodos de ligação livre de modelo para pares de irmãos (já descritos em outra parte deste capítulo), de modo a vasculhar o genoma. Foram propostos até 13 loci para a diabetes tipo 1 com base em amplas triagens do genoma. Destes, a melhor evidência é para um locus de sensibilidade situado, ou próximo, em um número variável de polimorfismo de repetições em tandem (ver Cap. 6) no próprio promotor do gene de insulina. A identificação de outros genes de suscetibilidade para a diabetes tipo 1, tanto dentro quanto fora do MHC, permanece alvo de intensas investigações. No momento, a natureza de fatores de risco não-genéticos na diabetes tipo 1 é amplamente desconhecida.

Doença de Alzheimer

A AD é uma doença neurodegenerativa que afeta de 1% a 2% da população dos EUA. Os pacientes têm uma perda progressiva crônica de memória e outras funções intelectuais, associada à morte dos neurônios e ao desenvolvimento de agregados proteicos extracelulares chamados de placas amilóides pelo córtex cerebral. O constituinte mais importante destas placas é um pequeno peptídeo (de 39 a 42 aminoácidos), $A\beta$, derivado de uma clivagem de uma proteína neuronal normal, o precursor da proteína amilóide. A estrutura secundária de $A\beta$ dá às placas as características de coloração das proteínas amilóides (ver também o Cap. 12). Além das três formas raras autossômicas dominantes da doença (ver Quadro 12.10), nas quais o início da doença é entre a terceira e a quinta década de vida, há uma forma comum de AD com início após os 60 anos (manifestação tardia). Esta forma não tem um padrão de herança mendeliano óbvio, mas apresenta agregação familiar e um risco relativo elevado (λ_s) típico dos distúrbios com herança complexa.

O alelo $\epsilon 4$ de apolipoproteína E. O primeiro fator genético significativamente associado à AD comum de manifestação tardia é o locus de **apolipoproteína E** (*APOE*). ApoE é uma proteína componente da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e está envolvida na depuração de LDL por uma interação com receptores de alta afinidade no fígado. A apoE também é um constituinte das placas amilóides na AD e é conhecida como se ligando ao peptídeo $A\beta$. O gene *APOE* está no cromossomo 19 e tem três alelos, $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$, devidos a substituições de arginina por duas cisteínas diferentes na proteína.

A análise de ligação livre de modelo em pares de irmãos concordantes para AD inicialmente revelou um excesso de compartilhamento de alelos em uma região do cromossomo 19 que incluiu o locus para apoE. Tendo em mente este resultado, foi feito um estudo de associação entre os alelos *APOE* e AD em pacientes AD versus controles apropriadamente ajustados por idade, gênero e etnicidade. Quando a frequência dos genótipos $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$ foi comparada com a frequência de genótipos sem $\epsilon 4$ nos pacientes com AD, encontrou-se um genótipo com pelo menos um alelo $\epsilon 4$ com uma frequência de duas a três vezes maior entre os pacientes comparados com os controles (Quadro 15.6) tanto na população geral dos EUA quanto na japonesa. Parece haver menos associação entre as populações hispânicas e afro-americanas. Ainda mais marcante é que o risco de AD parece aumentar à medida que o número de alelos $\epsilon 4$ aumenta, por um efeito de idade de início: quanto mais alelos $\epsilon 4$ uma pessoa tem, mais cedo é o início da AD. Em um estudo de pacientes com AD e

QUADRO 15-5

Risco de Diabetes Tipo 1 em Irmãos de Probandos com Diabetes Tipo 1

Extensão de Haplótipos de MHC Compartilhados	Risco de Diabetes Tipo 1 em Irmão de Paciente com Diabetes Tipo 1 (%)
Probando e irmão compartilham <i>DR3/DR4</i>	20
Probando e irmão compartilham quaisquer dois haplótipos	13
Probando e irmão compartilham qualquer um haplótipo	5
Probando e irmão não compartilham nenhum haplótipo	2

MHC = Complexo principal de histocompatibilidade

QUADRO 15-6

Associação do Alelo APOE $\epsilon 4$ com a Doença de Alzheimer: Frequência de Genótipos com e sem o Alelo $\epsilon 4$ entre os Pacientes AD e Controles dos EUA e Japão

Genótipo	Frequência			
	AD (EUA)	Controle (EUA)	AD (Japão)	(Controle) (Japão)
$\epsilon 4/\epsilon 4$; $\epsilon 4/\epsilon 3$ ou $\epsilon 4/\epsilon 2$	0,64	0,31	0,47	0,17
$\epsilon 3/\epsilon 3$; $\epsilon 2/\epsilon 3$; ou $\epsilon 2/\epsilon 2$	0,36	0,69	0,53	0,83

AD = doença de Alzheimer.

tanto não-parentes quanto familiares não-afetados no grupo controle (Fig. 15.6), a idade em que a AD se desenvolveu nos pacientes afetados era mais cedo para os homocigotos $\epsilon 4/\epsilon 4$, em seguida para os heterocigotos $\epsilon 4/\epsilon 3$ e significativamente menor para os outros genótipos.

Na população em geral, o alelo $\epsilon 4$ é claramente um fator de predisposição que aumenta o risco de desenvolvimento de AD mudando a idade de início para uma idade mais cedo, de modo que a doença torna-se evidente antes da maioria dos pacientes morrer por outras doenças que ameaçam a vida dos idosos. Apesar deste risco aumentado, outros fatores genéticos e ambientais devem ser importantes, pois muitos homocigotos $\epsilon 4/\epsilon 4$ vivem até uma idade avançada sem nenhuma evidência de AD e de 50% a 75% de todos os heterocigotos portadores de um alelo $\epsilon 4$ nunca desenvolvem AD. Um papel para outros genes recebeu mais apoio das análises de ligação livre de modelo em pares

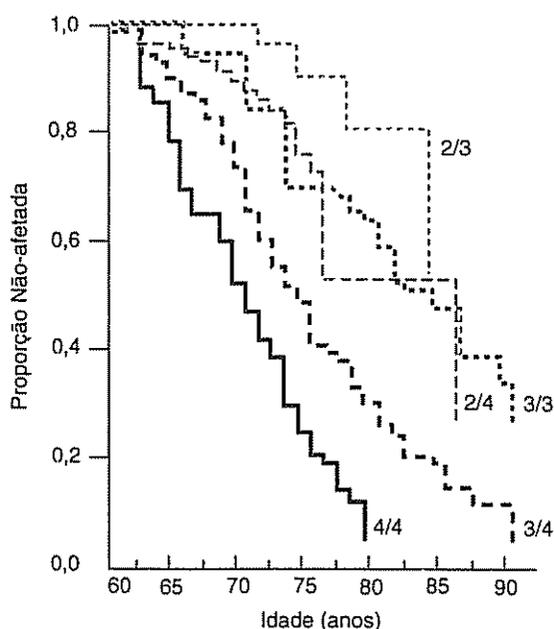


Fig. 15.6 Chance de permanecer sem ser afetado pela doença de Alzheimer como uma função da idade para genótipos APOE diferentes. Em um extremo está o homocigoto $\epsilon 4/\epsilon 4$, que tem menos de 10% de chance de permanecer livre da doença aos 80 anos, enquanto um heterocigoto $\epsilon 2/\epsilon 3$ tem uma chance de mais de 90% de permanecer livre da doença aos 80 anos. (Modificado com permissão de Strittmatter W J, Roses A D [1996] Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. Annu Rev Neurosci 19:53-77 © 1996. de Annual Reviews)

de irmãos afetados por AD quando foi encontrada uma região com elevado compartilhamento de alelos no cromossomo 12. Também existe uma associação entre a presença do alelo $\epsilon 4$ e a doença neurodegenerativa após danos cefálicos (como visto nos boxeadores profissionais), o que indica que pelo menos um fator ambiental interage com o alelo $\epsilon 4$ na patogenia da doença neurodegenerativa. Assim, a variante $\epsilon 4$ de APOE representa um exemplo importante de um alelo de predisposição: ele predispõe a uma característica complexa de um modo poderoso, mas não predestina uma pessoa portadora do alelo a desenvolver a doença. Genes adicionais, bem como efeitos ambientais, também estão claramente envolvidos, mas permanecem por ser esclarecidos de modo definitivo. Os testes de pessoas assintomáticas quanto ao alelo $\epsilon 4$ permanecem controversos, pois saber que uma pessoa é heterocigota ou homocigota para o alelo $\epsilon 4$ não significa que ela vá desenvolver AD e não há nenhuma intervenção atualmente conhecida que possa afetar a chance de que a pessoa desenvolva ou não AD (ver os Caps. 12 e 20).

Malformações Congênicas Multifatoriais

Várias malformações congênicas comuns, que ocorrem como defeitos isolados e não como parte de uma síndrome, parecem reincidir nas famílias. A agregação familiar e o risco elevado de recorrência em parentes de uma pessoa afetada são peculiares a uma característica complexa (Quadro 15.7). Algumas das malformações congênicas mais importantes com herança complexa são os **defeitos de tubo neural**, **fenda labial** com ou sem **palato fendido** e **malformações cardíacas**.

DEFEITOS DE TUBO NEURAL

A **anencefalia** e a **espinha bífida** são defeitos de tubo neural (NTDs) que freqüentemente ocorrem juntas nas famílias e são consideradas como tendo uma patogenia comum (Fig. 15.7). Na

QUADRO 15-7

Algumas Malformações Congênicas Comuns com Herança Multifatorial

Malformação	Incidência Populacional (por 1.000) (aproximada)
Fenda labial com/sem fenda palatina	0,4-1,7
Fenda palatina	0,4
Deslocamento congênito do quadril	2*
Defeito cardíaco congênito	4-8
Defeito de septo ventricular	1,7
Ducto arterial aberto	0,5
Defeito de septo atrial	1,0
Estenose aórtica	0,5
Defeitos de tubo neural	2-10
Anencefalia	Variável
Espinha bífida	Variável
Estenose pilórica	1† 5*

*Por 1 000 homens; †por 1.000 mulheres

Nota: Muitos destes distúrbios são heterogêneos e em geral, mas não invariavelmente são multifatoriais.

Dados de Carter C O (1976) Genetics of common single malformations. Br Med Bull 32:21-26; Nora J J (1968) Multifactorial inheritance hypothesis for the etiology of congenital heart diseases: The genetic environmental interaction. Circulation 38:604-617; Lin A E, Garver K.L. (1988) Genetic counseling for congenital heart defects. J Pediatr 113:1105-1109.

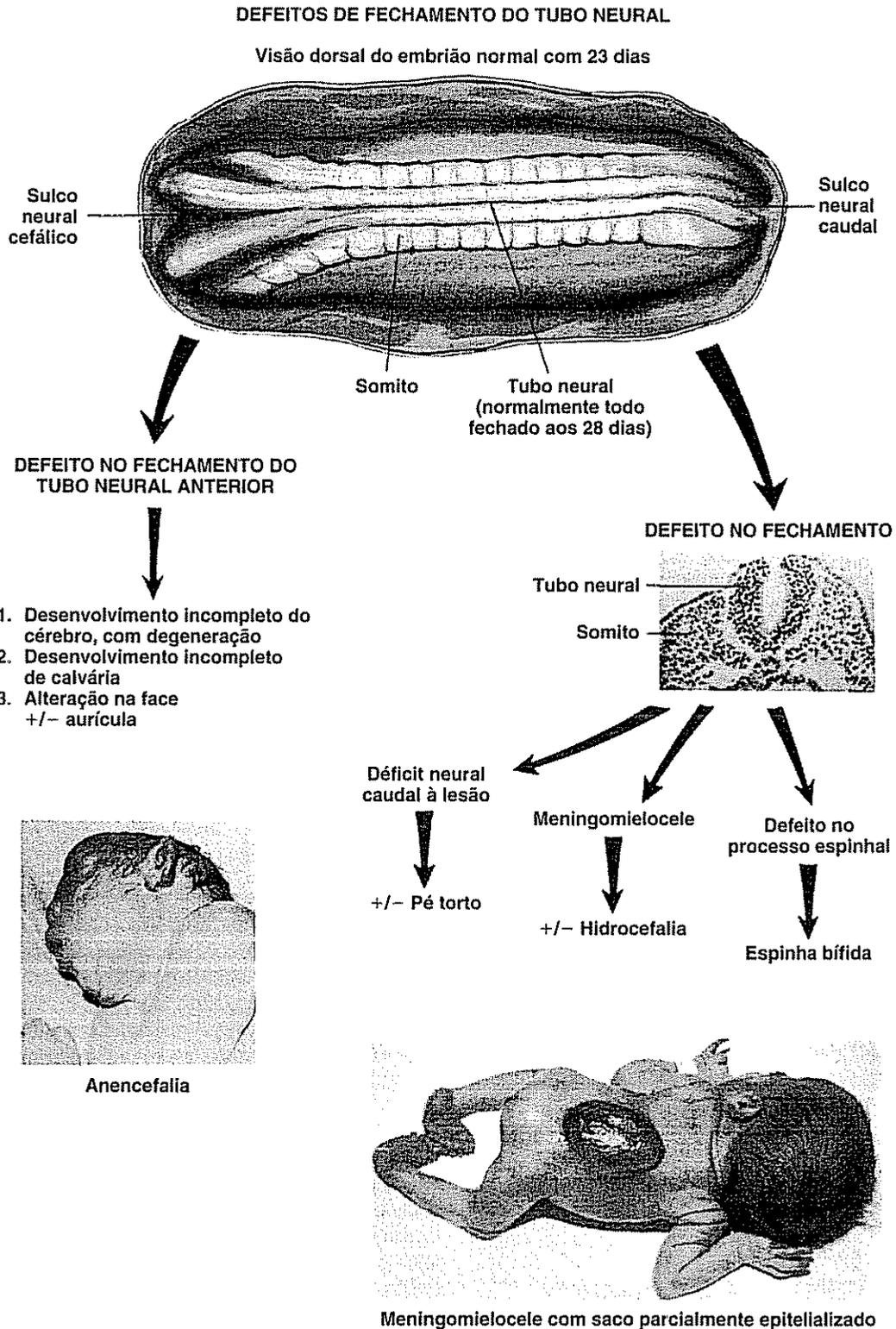


Fig. 15.7 A origem dos defeitos de tubo neural anencefalia e espinha bífida (De Jones K. L. [1988] Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation, 4ª ed. WB Saunders, Philadelphia)

anencefalia, o prosencéfalo, as meninges, a abóbada craniana e a pele estão todas ausentes. Muitas crianças com anencefalia são natimortas, e os que nascem vivos sobrevivem apenas algumas horas. Cerca de dois terços das crianças afetadas são meninas. Na espinha bífida, há uma falta de fusão dos arcos das vértebras, tipicamente na região lombar. Existem graus variados de gravidade, indo desde a espinha bífida oculta, na qual o defeito é ape-

nas no arco ossificado, até a espinha bífida aberta, na qual o defeito ósseo também está associado à meningocele (protrusão das meninges) ou à meningocele (protrusão de elementos neurais, bem como das meninges, no defeito; ver Fig. 15.7).

Como um grupo, os NTDs são uma causa líder de natimortos, morte no início da lactância e danos nas crianças que sobrevivem. Sua incidência ao nascimento é variável, indo de quase

1% na Irlanda até 0,2% ou menos nos EUA. A frequência também parece variar com fatores sociais e sazonais ao nascimento e oscila muito amplamente com o tempo (com um aumento acentuado nos últimos anos; ver discussão mais adiante).

Uma pequena proporção de NTDs tem causas específicas: por exemplo, as bridas amnióticas (conexões fibrosas entre o âmnio e o feto causadas pelo rompimento precoce do âmnio, que podem perturbar estruturas durante seu desenvolvimento embriológico), alguns defeitos monogênicos com expressão pleiotrópica, alguns distúrbios cromossômicos e alguns teratogênicos. A maioria dos NTDs, entretanto, é de defeitos isolados.

Deficiência Materna de Ácido Fólico e Defeitos de Tubo Neural. Há muito acreditava-se que os NTDs seguiam um padrão de herança multifatorial determinada por fatores ambientais e genéticos múltiplos. Assim, foi uma descoberta surpreendente ver que o maior fator único causal dos NTDs é uma deficiência vitamínica. Descobriu-se que o risco de NTDs estava inversamente correlacionado aos níveis do soro materno de ácido fólico durante a gestação, com um limiar de 200 $\mu\text{g/l}$, abaixo do qual o risco de NTD torna-se muito significativo. Juntamente com os níveis reduzidos de folato sérico, níveis elevados de homocisteína também foram vistos em mães de crianças com NTDs, o que sugeria que uma anomalia bioquímica estava ocorrendo na etapa de reciclagem de tetraidrofolato em metilato homocisteína e em metionina (Fig. 15.8). Os níveis de ácido fólico são fortemente influenciados pela ingestão dietética e podem diminuir durante a gestação mesmo com uma ingestão típica de cerca de 230 $\mu\text{g/dia}$. O impacto da deficiência de ácido fólico é exacerbado por uma variante genética da enzima 5,10-metilenotetraidrofolato redutase (MTHFR), criada por uma mutação de sentido trocado comum que torna a enzima menos estável que o normal. A instabilidade desta enzima impede a reciclagem de tetraidrofolato e interfere na metilação de homocisteína em metionina. O alelo mutante é tão comum em muitas populações que entre 5% e 15% da população é homozigota para a mutação. Nos estudos de crianças com NTDs e suas mães, observou-se que as mães de crianças com NTDs tinham o dobro da chance de ser homozigotas para o alelo mutante que codifica a enzima instável que as controle. Nem todas as mães de crianças com NTD com baixos níveis de ácido fólico são homozigotas para o alelo mutante de MTHFR, entretanto, o que indica que baixos níveis de ácido fólico podem ser causados por outros fatores genéticos desconhecidos ou apenas por deficiência dietética. Como este defeito enzimático contribui para os NTDs e se a

anomalia é um resultado direto de níveis elevados de homocisteína, níveis diminuídos de metionina ou algum outro distúrbio metabólico ainda não sabemos

Prevenção dos Defeitos de Tubo Neural. A descoberta da deficiência de ácido fólico nos NTDs levou a uma intensa iniciativa da saúde pública no sentido de educar as mulheres para que suplementassem suas dietas com ácido fólico 1 mês antes da concepção e continuassem esta suplementação por 2 meses após a concepção durante o período em que se forma o tubo neural. Demonstrou-se que a suplementação dietética com 400 a 800 μg de ácido fólico/dia para uma mulher que planeja suas gestações reduzia a incidência de NTDs em mais de 75%. No momento, discute-se intensamente se todo o suprimento de alimento deve ser suplementado com ácido fólico, como uma medida de saúde pública, para evitar o problema das mulheres não conseguirem suplementar individualmente suas dietas durante a gestação.

Os pais de crianças com NTD correm um risco aumentado de recorrência em futuras gestações. Os riscos de recorrência dentro das famílias são dados no Quadro 15.8. Os NTDs também têm alta cotação nas condições para as quais é possível um diagnóstico pré-natal. A anencefalia e a maioria dos casos de espinha bífida podem ser identificados na fase pré-natal pela detecção de níveis excessivos de **alfa-fetoproteína** (AFP) e outras substâncias fetais no líquido amniótico e por **varredura de ultra-som** (ver Cap. 18 para maior discussão). Menos de 5% de todos os pacientes com NTDs nascem de mulheres com filhos previamente afetados. Por este motivo, a triagem de todas as grávidas para NTD usando dosagens de AFP e outras substâncias fetais no soro materno está se tornando mais generalizada. Assim, podemos antecipar que uma combinação de ácido fólico preventivo e a triagem de AFP materna fornecerão importantes benefícios de saúde pública, pois reduzirão drasticamente a incidência de NTDs.

DEFEITOS CARDÍACOS CONGÊNITOS

Os defeitos cardíacos congênitos (CHDs) são muito comuns, com uma frequência de cerca de quatro a oito casos/1.000 nascimentos. Eles formam um grupo heterogêneo, causado em alguns casos por mecanismos monogênicos ou cromossômicos e, em outros, pela exposição a teratogênicos, tais como infecção por rubéola ou diabetes materna. A causa em geral é desconhecida, e a maioria dos casos é tida como de origem multifatorial.

Existem muitos tipos de CHDs, com diferentes incidências populacionais e riscos empíricos. Sabemos que quando os defeitos cardíacos reincidem em uma família, entretanto, a criança afetada não tem necessariamente o mesmo defeito anatômico, mas apresenta recorrência de lesões que são similares com relação aos mecanismos desenvolvimentais. Usando o mecanismo desenvolvimental com um esquema de classificação, pode-se distinguir cinco grupos principais de CHD: lesões de fluxo, defeitos na migração celular ou na morte celular, anomalias na matriz extracelular e defeitos no crescimento-alvo. Um padrão familiar é encontrado principalmente no grupo com lesões de fluxo, uma grande categoria que inclui a síndrome do coração esquerdo hipoplásico, a coarctação da aorta, o defeito do septo atrial do tipo *secundum*, a estenose valvar pulmonar, um tipo comum de defeito do septo ventricular e outras formas. Alguns destes padrões familiares são explicáveis por deleção na região cromossômica 22q11, como visto na **síndrome velocardiofacial** associada à tetralogia de Fallot e outras lesões de fluxo (ver Cap. 10).

Os CHDs isolados são herdados como características multifatoriais? As proporções de risco relativo para irmãos, λ_s , para lesões de

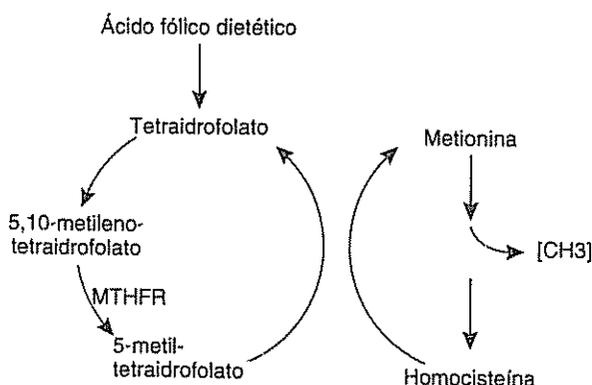


Fig 15.8 Via metabólica de reciclagem de ácido fólico. um doador de carbono usado para gerar metionina a partir da homocisteína

QUADRO 15-8

Riscos de Recorrência (%) para Fenda Labial com ou sem Palato Fendido e para Malformações de Tubo Neural

Parentes Afetados	Fenda Labial com/sem Palato Fendido	Anencefalia e Espinha Bífida
Sem irmãos		
Nenhum dos genitores	0,1	0,3
Um genitor	3	4,5
Ambos os genitores	34	30
Um irmão		
Nenhum dos genitores	3	4
Um genitor	11	12
Ambos os genitores	40	38
Dois irmãos		
Nenhum dos genitores	8	10
Um genitor	19	20
Ambos os genitores	45	43
Um irmão e um parente em 2.º grau		
Nenhum dos genitores	6	7
Um genitor	16	18
Ambos os genitores	43	42
Um irmão e um parente em 3.º grau		
Nenhum dos genitores	4	5,5
Um genitor	14	16
Ambos os genitores	44	42

De Bonaiti-Pellié C., Smith C (1974) Risk tables for genetic counselling in some common congenital malformations *J Med Genet* 11:374-377.

fluxo apóiam a agregação familiar para esta classe de CHD (Quadro 15.9). Até que saibamos mais, os dados conhecidos podem ser usados como estimativas do risco de recorrência para lesões de fluxo nos parentes em primeiro grau. Há, no entanto, uma rápida diminuição de risco (para níveis que não ultrapassam o risco populacional) em parentes de segundo e terceiro grau de pacientes-índice com lesões de fluxo. De modo similar, os parentes de pacientes-índice com tipos de CHDs que não as lesões de fluxo podem receber uma garantia de que seu risco não é maior que o da população em geral. Para uma maior garantia, hoje muitos CHDs podem ser avaliados na fase pré-natal por ultra-sonografia (ver Cap. 18).

FENDA LABIAL E PALATO FENDIDO

A fenda labial com ou sem palato fendido, ou CL(P), é uma das malformações congênitas mais comuns. A CL(P), que é etiológicamente distinta da fenda palatina isolada sem lábio fendido, origina-se como uma falha de fusão do processo frontal com o pro-

cesso maxilar por volta do 35.º dia de gestação. Cerca de 60% a 80% dos afetados são meninos. A CL(P) é heterogênea e inclui formas monogênicas isoladas, várias síndromes monogênicas, formas associadas a distúrbios cromossômicos (especialmente a trissomia do 13), casos resultantes de exposição a teratógenos (embriopatia de rubéola, talidomida ou anticonvulsivos) e formas que aparecem em síndromes não-familiares. No passado, quase todos os modos de herança concebíveis haviam sido propostos para a CL(P) para explicar seu padrão complexo de herança.

Há uma variação considerável na frequência em grupos raciais diferentes: cerca de 1,7 por 1.000 nos japoneses, 1 por 1.000 nos caucasianos e 0,4 por 1.000 nos afro-americanos. Taxas relativamente altas também são vistas em algumas populações norte-americanas de descendência asiática, em índios do sudeste dos EUA e da costa oeste do Canadá. A taxa de concordância é de cerca de 30% nos gêmeos MZ e de cerca de 5% (o mesmo risco dos irmãos que não são gêmeos) nos gêmeos DZ (ver Quadro 15.4).

Uma das previsões da herança complexa é que o risco de recorrência em parentes de probandos que são gravemente afetados é maior que o risco para parentes de probandos afetados de uma forma branda. A explicação para este fenômeno é que a doença mais grave indica uma maior carga de alelos de predisposição para a doença na família. Em concordância com isto, os estudos familiares de CL(P) mostraram um aumento no risco de recorrência com a gravidade, de unilateral para bilateral e de fenda labial apenas (CL) para fenda labial com palato fendido (CLP). Até que se tenha uma melhor compreensão sobre a base destas anomalias, entretanto, os dados de risco empírico (ver Quadros 15.8, 15.10 e 15.11) são as únicas orientações disponíveis para a informação genética.

Doença Arterial Coronariana

A doença arterial coronariana (CAD) mata 500.000 pessoas por ano nos EUA e é a número 1 em causar morbidade e mortalidade no mundo desenvolvido. A CAD devida à aterosclerose é a principal causa de quase 1.500.000 casos de infarto do miocárdio (MI) que ocorrem anualmente. No conjunto, a CAD custa mais de US\$100 bilhões em despesas de cuidados de saúde e perda de produtividade a cada ano nos EUA. Os estudos de famílias e gêmeos têm apoiado repetidamente um papel da hereditariedade no MI que ocorre em grupos etários mais jovens. Por exemplo, um estudo de 21.004 gêmeos na Suécia revelou que, após controlar os fatores de risco, tais como a diabetes, o fumo e a hipertensão, se um gêmeo masculino sofreu um MI antes dos 65 anos, o risco do outro gêmeo para MI aumentou de seis a oito vezes no caso dos MZ e o triplo nos gêmeos DZ. Entre as gêmeas, o aumento de risco para MI em gêmeas MZ comparado com o risco para as DZ era ainda maior: 15 vezes para uma gêmea MZ e apenas 2,6 vezes para uma gêmea DZ, quando uma das gêmeas tinha um MI antes dos 65 anos. Quanto mais idoso o primeiro gêmeo na época do MI, menor o

QUADRO 15-9

Incidência Populacional e Riscos de Recorrência para Várias Lesões de Fluxo

Defeito	Incidência Populacional (%)	Frequência em Irmãos (%)	$\lambda_{irmão}$
Defeito de septo ventricular	0,17	4,3	25
Ducto arterial aberto	0,083	3,2	38
Defeito de septo atrial	0,066	3,2	48
Estenose aórtica	0,044	2,6	59

QUADRO 15-10

Riscos Empíricos de Fenda Labial com/sem Palato Fendido em Parentes de Probandos Afetados

População Afetada	Incidência de Fenda Labial com/sem Palato Fendido (%)	$\lambda_{parente}$
População geral	0,1	-
Parentes em primeiro grau	4,0	40
Parentes em segundo grau	0,7	7
Parentes em terceiro grau	0,3	3

QUADRO 15-11

Risco de Fenda Labial com/sem Palato Fendido em Irmãos de Probando Afetado com Fendas de Gravidade Crescente

Fenótipo do Probando	Incidência em Irmãos de Fenda Labial com/sem Palato Fendido (%)
Fenda labial unilateral sem palato fendido	4,0
Fenda palatina e labial unilateral	4,9
Fenda labial bilateral sem palato fendido	6,7
Fenda labial bilateral e palatina	8,0

aumento de risco para o outro gêmeo. Assim, quanto mais jovem a pessoa, mais importantes são os fatores genéticos de MI, particularmente para as mulheres.

Existem muitos estágios na evolução das lesões ateroscleróticas na artéria coronariana nos quais as diferenças genéticas podem predispor ou proteger da CAD. O que começa como uma faixa gordurosa na íntima da artéria evolui para uma placa contendo músculo liso, lipídio e tecido fibroso. Estas placas da íntima tornam-se vasculares e podem sangrar, ulcerar e calcificar, causando, então, um grave estreitamento do vaso, bem como servindo como um solo fértil para a trombose que resulta em oclusão total súbita e MI. Um grande número de genes e produtos gênicos foram sugeridos e, em alguns casos, implicados em promover um ou mais dos estágios de desenvolvimento da CAD. Eles incluem genes que codificam proteínas envolvidas no seguinte:

1. Transporte e metabolismo de lipídios séricos (apoE, C-III, o receptor de LDL e a lipoproteína[a]), bem como o nível total

de colesterol, que, por si só, é uma característica quantitativa com uma substancial herdabilidade;

2. Vasoatividade, tal como enzima conversora de angiotensina;
3. Coagulação sanguínea, adesão plaquetária e fibrinólise, tais como o inibidor-1 de ativador de plasminogênio e as glicoproteínas Ib e IIIa de superfície de plaqueta.

A hipercolesterolemia familiar, um defeito autossômico dominante do receptor de LDL discutido no Cap. 12, contribui com cerca de 5% dos sobreviventes do MI. Embora existam outras causas monogênicas, a maioria dos casos de CAD é tida como apresentando herança multifatorial, com fatores de predisposição tanto genéticos quanto não-genéticos.

Os fatores de risco para a CAD incluem vários outros distúrbios multifatoriais com componentes genéticos: hipertensão, obesidade e diabetes melito. Neste contexto, os distúrbios metabólicos e fisiológicos representados por estes problemas também contribuem para aumentar o risco de CAD.

Uma característica da CAD que é compatível com a herança multifatorial é que, embora os homens tenham um risco mais alto de morte por MI tanto na população quanto dentro das famílias afetadas, o risco de recorrência em parentes é um pouco maior quando o probando é feminino ou quando ele é jovem, ou ambos. Este risco aumentado sugere que há uma carga maior de alelos que predispoem ao MI na família, aumentando, assim, o risco da doença nos parentes do probando.

A CAD em geral é um achado incidental na história familiar de pacientes com outras doenças genéticas. Em vista do alto risco de recorrência, os médicos e consultores genéticos precisam considerar se os parentes em primeiro grau de pacientes com CAD devem ser avaliados melhor e receber informação genética, mesmo quando a CAD não é o principal problema genético pelo qual o paciente ou o parente foi encaminhado.

Consulta Genética de Famílias de Pacientes com Características Multifatoriais

Os mecanismos subjacentes pelos quais os genes e o ambiente interagem para causar doenças com herança complexa são amplamente desconhecidos. Para uma consulta genética, dependemos da avaliação dos riscos de recorrência em coleções de famílias para obter **estimativas empíricas** médias dos riscos de recorrência. Logicamente, o risco real para uma determinada família pode ser maior ou menor que a média. No momento, estes riscos empíricos baseados na população, embora em geral inadequados, são a única fonte disponível para a previsão genética. Entretanto, alguns princípios gerais devem ser considerados quando se dá uma consulta genética para distúrbios multifatoriais.

1. O risco de recorrência é muito maior para parentes em primeiro grau de membros familiares afetados que para parentes mais distantes.
2. A melhor estimativa do risco de recorrência é o risco empírico, que é simplesmente o risco de recorrência, observado em famílias similares, para um parente com o mesmo grau de parentesco. Em geral é útil dar o risco empírico como um múltiplo do risco da população para o defeito. O risco empírico é totalmente baseado em experiências anteriores e não significa que os fatores genéticos e ambientais na patogenia

da malformação sejam compreendidos. Um risco empírico é uma média para a população e não é necessariamente preciso para uma família específica.

3. O risco de recorrência é aumentado por:
 - a. presença de mais de um parente afetado;
 - b. uma forma grave ou o início precoce do distúrbio;
 - c. uma pessoa afetada do sexo menos provavelmente afetado;
 - d. parentesco consanguíneo.
4. Dois erros comuns no cálculo de risco devem ser evitados:
 - a. Se o genitor de uma criança com um defeito de nascimento multifatorial tem outro filho com um cônjuge diferente, as crianças são parentes em segundo grau, não em primeiro grau, e o risco empírico para o segundo filho é muito menor que se a criança tivesse ambos os genitores em comum (em geral, o risco é de cerca de 1% em vez de cerca de 5%).
 - b. Quando um tio ou tia afetado de uma criança com um defeito multifatorial pergunta sobre o risco do mesmo defeito em sua prole, o risco relevante não é o risco para a tia ou o tio (um parente em segundo grau do probando), mas o risco para a prole da tia ou tio (um parente em terceiro grau).

CONCLUSÃO

As doenças herdadas como características complexas representam um dos maiores desafios enfrentados pelos geneticistas hoje em dia. Muitas destas doenças são comuns e causam morbidade e mortalidade substanciais. As famílias e os pacientes que lidam com estas doenças precisam de uma consulta genética precisa, envolvendo os riscos de recorrência nos parentes e na prole das pessoas afetadas. Entretanto, nossa capacidade de fornecer tal consulta é muito prejudicada por nossa falta de conhecimento do número de genes, da natureza dos alelos variantes e dos mecanismos subjacentes de como estes alelos variantes contribuem para a causa ou predisposição para a doença. As doenças com herança complexa estão sendo ativamente estudadas, e muito se tem aprendido. Esperamos que à medida que as informações que estão sendo obtidas pelo Projeto do Genoma Humano forem sendo aplicadas ao problema das doenças com herança complexa, os médicos e consultores genéticos nos próximos anos tenham a informação de que precisam para dar um diagnóstico molecular preciso e avaliar os riscos para um crescente número destas doenças.

Referências Gerais

- King RA, Rotter JJ, Motulsky AG (1992) *The Genetic Basis of Common Diseases*. Oxford University Press, Oxford, England
 Rimoin DL, Connor JM, Pyeritz RE (1997) *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics*, 3rd ed. Churchill Livingstone, Edinburgh.

Referências Específicas aos Tópicos Particulares

- Ebers GC, Sadovnick AD, Risch NJ, et al (1995) A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. *Nature* 377:150-151.
 Foy CA, Grant PJ (1997) Genes and the development of vascular disease. *Postgrad Med J* 73:271-278.
 Hawkes CH (1997) Twin studies in medicine—what do they tell us? *Q J Med* 90:311-321.
 Kajiwara K, Berson EL, Dryja TP (1994) Digenic retinitis pigmentosa due to mutations at the unlinked peripherin/RDS and ROM1 loci. *Science* 264:1604-1608.
 Lander E, Kruglyak L (1995) Genetic dissection of complex traits: Guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nat Genet* 11:241-247.

- Lander ES, Schork NJ (1994) Genetic dissection of complex traits. *Science* 265:2037-2048.
 Lin AE, Garver KL (1988) Genetic counseling for congenital heart defects. *J Pediatr* 113:1105-1109.
 Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, et al (1994) Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 330:1041-1046.
 Martinelli I, Sacchi E, Landi G, et al (1998) High risk of cerebral-vein thrombosis in carriers of a prothrombin-gene mutation and in users of oral contraceptives. *N Engl J Med* 38:1793-1797.
 Mein CA, Esposito L, Dunn MG, et al (1998) A search for type 1 diabetes susceptibility genes in families from the United Kingdom. *Nat Genet* 19:297-300.
 Peyser PA (1997) Genetic epidemiology of coronary artery disease. *Epidemiol Rev* 19:80-90.
 Risch N (1990) Linkage strategies for genetically complex traits. I. Multilocus models. *Am J Hum Genet* 46:222-228.
 Risch N, Merikangas K (1996) The future of genetic studies of complex human diseases. *Science* 273:1516-1517.
 Risch N, Zhang H (1995) Extreme discordant sib pairs for mapping quantitative trait loci in humans. *Science* 268:1584-1589.
 Strittmatter WJ, Roses AD (1996) Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. *Annu Rev Neurosci* 19:53-77.
 Todd JA, Bell JI, McDevitt HO (1988) A molecular basis for genetic susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus. *Trends Genet* 4:129-134.
 Tsuang MT (1998) Recent advances in genetic research on schizophrenia. *J Biomed Sci* 5:28-30.

Problemas

- Para uma determinada malformação, o risco de recorrência em irmãos e prole das pessoas afetadas é de 10%, o risco para sobrinhas e sobrinhos é de 5% e o risco para primos em primeiro grau é de 2,5%.
 - É mais provável que a malformação tenha uma característica autossômica dominante com penetrância reduzida ou uma característica multifatorial? Explique.
 - Que outra informação pode apoiar sua conclusão?
- Uma grande diferença de sexo em pessoas afetadas em geral é um indicio de herança ligada ao X. Como você estabeleceria que a estenose pilórica é multifatorial e não ligada ao X?
- Uma série de crianças com uma determinada malformação congênita inclui tanto meninos quanto meninas. Em todos os casos, os genitores são normais. Como você determina se é mais provável que a malformação seja multifatorial que autossômica recessiva?