

(Correspondendo às páginas 76 -99 da edição 2010)

5

Herança Ligada ao X e Mitochondrial

O capítulo anterior tratou de genes de doenças situados nos 22 autossomos. Neste capítulo discutiremos genes de doenças situados em cromossomos sexuais e nas mitocôndrias. O cromossomo X humano é um cromossomo grande, contendo cerca de 5% do DNA do genoma nuclear (aproximadamente 160 milhões de pares de bases, ou 160 Mb). Mais de 500 genes codificantes foram localizados no cromossomo X. Diz-se que as doenças causadas por genes neste cromossomo são **ligadas ao X**. A grande maioria das doenças ligadas ao X conhecidas é recessiva, embora existam também algumas doenças dominantes ligadas ao X. Comparado ao cromossomo X, o cromossomo Y é bem pequeno (70 Mb) e contém poucos genes conhecidos. Mais de uma dúzia de doenças são hoje conhecidas como sendo causadas por mutações no DNA mitocondrial; estas serão discutidas ao final deste capítulo.

INATIVAÇÃO DO X

Sabemos há muito que as mulheres têm dois cromossomos X, enquanto os homens têm apenas um. Também é sabido na maior parte do século XX que o cromossomo X contém muitos genes importantes codificantes de proteínas. Portanto, as mulheres têm duas cópias de cada gene ligado ao X, enquanto os homens têm apenas uma cópia. Mas, homens e mulheres não diferem em termos dos produtos (como os níveis enzimáticos) codificados pela maioria destes genes. Como se explica isso?

No início da década de 60 Mary Lyon levantou a hipótese de que um cromossomo X em cada célula somática da mulher é inativado. Isto resultaria em **compensação de dose**, uma equalização dos produtos de genes ligados ao X nos homens e mulheres. A **hipótese de Lyon** sustenta que a inativação do X ocorre no início do desenvolvimento embrionário feminino, e que o cromossomo X doado pelo pai é inativado em algumas células, ao passo que nas outras células é inativado o X doado pela mãe. Este processo de inativação é *aleatório*, de modo que os cromossomos X derivados maternamente e paternamente serão cada um inativados em cerca de metade das células embrionárias. Assim, a inativação, como a transmissão de gametas, é análoga ao experimento de lançar moedas. Uma vez que um cromossomo X seja inativado em uma célula, ele permanecerá inativo em todas as descendentes desta célula. Diz-se portanto que a

inativação do X é determinada aleatoriamente, mas *fixada*. Como resultado da inativação do X, todas as mulheres normais têm duas populações distintas de células: uma população tem um cromossomo X derivado do pai ativo, e a outra tem o cromossomo X derivado da mãe ativo (a Fig. 5.1 mostra um resumo deste processo). Com duas populações de células, as mulheres são mosaicos (ver Cap. 4) para o cromossomo X. Os homens, tendo apenas uma cópia do cromossomo X, não são mosaicos mas sim **hemizigotos** para o cromossomo X (hemi = metade).

▼ A hipótese de Lyon diz que um cromossomo X em cada célula é aleatoriamente inativado logo no início do desenvolvimento embrionário das mulheres. Isto garante que as mulheres, que têm duas cópias do cromossomo X, irão gerar produtos dos genes ligados ao X em quantidades mais ou menos similares às dos homens (compensação de dose). ▲

A hipótese de Lyon é baseada em várias evidências, a maioria das quais derivada de estudos em animais. Primeiramente, tornou-se conhecido que as fêmeas são tipicamente mosaicos para algumas características ligadas ao X, ao passo que os machos não. Por exemplo, as fêmeas de camundongo heterozigotas para alguns genes de pelagem ligados ao X exibem uma cor em mosaico de sua pelagem, ao passo que os camundongos machos não. Um exemplo similar é dado pelas "gatas calico". Estas fêmeas têm manchas pretas e laranjas alternadas na pelagem, as quais correspondem a duas populações de células: uma contém cromossomos X nos quais o alelo "laranja" está ativo, e a outra contém cromossomos X nos quais o alelo "preto" está ativo. Os gatos machos não exibem cores alternadas. Um exemplo final, visto em seres humanos, é o albinismo ocular ligado ao X. Esta é uma condição recessiva ligada ao X caracterizada pela falta de produção de melanina na retina e problemas oculares como nistagmo (movimentos oculares rápidos involuntários) e acuidade visual diminuída. Os homens que herdaram a mutação apresentam falta uniforme de melanina em sua retina, ao passo que as mulheres heterozigotas exibem manchas alternadas de tecido pigmentado e não pigmentado (Prancha em Cores 3).

A hipótese de Lyon também foi apoiada por evidências bioquímicas. A enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) é codificada por um gene no cromossomo X, e está presente em quantidades iguais nos homens e mulheres (compensação de dose).

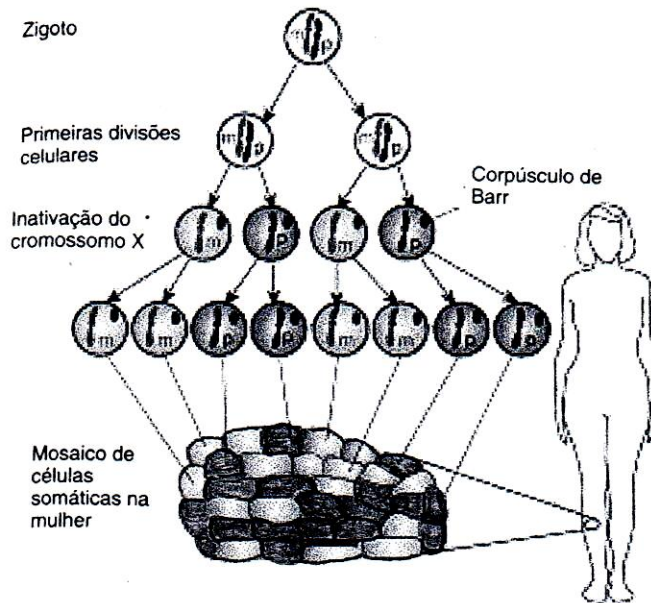


FIG. 5.1 O processo de inativação do X. Os cromossomos X materno (m) e paterno (p) estão ativos no zigoto e nas células embrionárias iniciais. Ocorre então a inativação do X, resultando em um X paterno ativo ou em um X materno ativo nas células. As mulheres são portanto mosaicos de cromossomos X, como se vê na amostra de tecido na parte inferior da figura.

Nas mulheres heterozigotas para dois alelos comuns de G6PD (chamados de *A* e *B*), algumas células da pele produzem apenas a variante *A* da enzima, e outras só produzem a variante *B*. Esta é mais uma prova do mosaicismo de cromossomo X em mulheres.

Finalmente, os estudos citogenéticos na década de 40 mostraram que as células interfásicas de gatas em geral contêm uma massa de cromatina densamente corada em seus núcleos (Fig. 5.2). Estas massas nunca foram vistas em machos. Elas foram

chamadas de **corpúsculos de Barr**, em homenagem a Murray Barr, um dos cientistas que os descreveram. Barr e seu colaborador, Ewart Bertram, presumiram que o corpúsculo de Barr, também chamado de **cromatina sexual**, representava um cromossomo X altamente condensado. Hoje sabemos que Barr e Bertram estavam corretos, e que o cromossomo X inativo é observável como um corpúsculo de Barr nas células somáticas de mulheres normais. Seu estado condensado reflete o fato de que seu DNA se replica mais tardiamente na fase S do que os outros cromossomos.

▼ A hipótese de Lyon é apoiada por evidência citogenética: os corpúsculos de Barr, que são cromossomos X inativos, são vistos apenas nas células com dois ou mais cromossomos X. Também é apoiada por estudos bioquímicos e animais, que revelaram o mosaicismo de características ligadas ao X em fêmeas heterozigotas. ▲

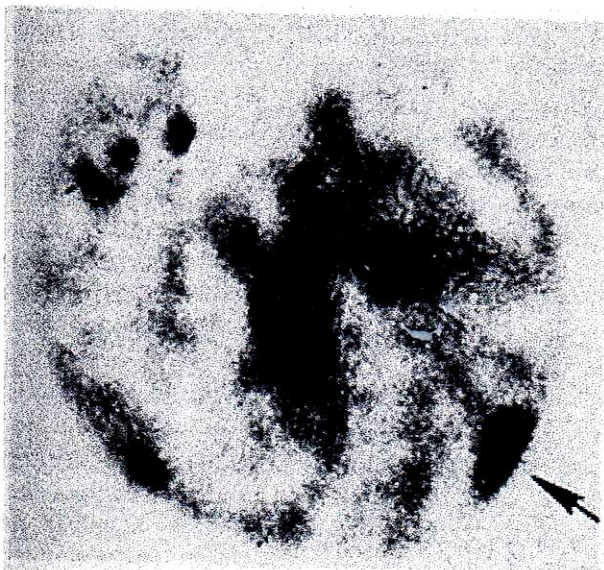


FIG. 5.2 Um corpúsculo de Barr, que é o cromossomo X inativo, é visto como uma massa de cromatina densamente corada no núcleo interfásico de uma célula somática feminina normal. As ferramentas baseadas no DNA hoje suplantaram as identificações de corpúsculos de Barr, como meio de determinação do sexo.

Outros estudos comprovaram amplamente a hipótese de Lyon. O mRNA é transcrito de apenas um cromossomo X em cada célula somática de uma mulher normal. O processo de inativação ocorre em aproximadamente duas semanas após a fertilização, quando o embrião consiste em aproximadamente várias centenas de células. A inativação é iniciada em um único local do braço longo do cromossomo X (**o centro de inativação do X**) e então se espalha ao longo do cromossomo. Embora a inativação seja aleatória entre as células que constituem o embrião em si, apenas o cromossomo X de origem paterna é inativado nas células que irão se tornar tecido extra-embriônico (p. ex., placenta). A inativação do X é permanente para todas as células somáticas na mulher, mas o cromossomo X inativo deve portanto ser *reativado* na linhagem germinativa da mulher, de modo que cada ovócito receba apenas uma cópia ativa do cromossomo.

Uma implicação importante da hipótese de Lyon é que o número de corpúsculos de Barr nas células somáticas é sempre um a menos que o número de cromossomos X. As mulheres normais têm apenas um corpúsculo de Barr em cada célula somática,

enquanto os homens normais não têm nenhum. As mulheres com síndrome de Turner (ver Cap. 6), tendo apenas um cromossomo X, não têm corpúsculos de Barr. Os homens com síndrome de Klinefelter (dois cromossomos X e um cromossomo Y) têm um corpúsculo de Barr em suas células somáticas, e as mulheres que têm três cromossomos X por célula têm dois corpúsculos de Barr em cada célula somática. Este padrão leva a uma outra questão: se os cromossomos X extra são inativados, as pessoas com cromossomos X extra (ou faltando) não deveriam ser fenotipicamente normais?

A resposta a esta pergunta é que a inativação do X é *incompleta*. Várias regiões do cromossomo X permanecem ativas em todas as cópias. Em particular, as pontas dos braços curtos e longos do cromossomo X não sofrem inativação. A ponta do braço curto do cromossomo X é altamente homóloga ao braço curto distal do cromossomo Y (ver Cap. 6). Outras regiões que escapam da inativação incluem as que contêm os genes para esteróide sulfatase, o grupo sanguíneo Xg, e a síndrome de Kallman (um distúrbio que causa hipogonadismo e incapacidade de perceber odor). Muitos genes ligados ao X que escapam da inativação têm homólogos no cromossomo Y, preservando uma dosagem gênica igual nos homens e mulheres. Ter cópias extras (ou não) das partes ativas do cromossomo X deve contribuir para anormalidade fenotípica.

▼ A inativação do X é aleatória, fixada, e incompleta. Este último fato ajuda a explicar por que, a despeito da inativação do X, muitas pessoas com números anormais de cromossomos X não são fenotipicamente normais. ▲

O centro de inativação do X contém pelo menos um gene necessário para a inativação, *XIST*. Como esperado, *XIST* é transcrito apenas no cromossomo X inativo, e seus mRNAs transcritos com 15 a 17 kb são detectados em mulheres normais, mas não em homens normais. O RNA transcrito, entretanto, não é traduzido em proteína. Ele permanece no núcleo e reveste o cromossomo X inativo. Este processo de revestimento pode agir como um sinal que leva a outros aspectos da inativação, incluindo a replicação tardia e a condensação do cromossomo X inativo.

A metilação é outra característica do cromossomo X inativo. Muitos dinucleotídeos CG nas regiões 5' dos genes no X inativo são intensamente metilados, e a administração de agentes desmetilantes, como 5-azacitidina, pode reativar parcialmente um cromossomo X inativo *in vitro*. Entretanto, a metilação não parece estar envolvida na dispersão do sinal de inativação a partir do centro de inativação para o restante do cromossomo X. Ela provavelmente é mais responsável por manter a inativação de um cromossomo X específico em uma célula e todas as suas descendentes.

▼ O gene *XIST* está situado no centro de inativação do X, e é necessário para a inativação do X. Codifica um produto de RNA que reveste o cromossomo X inativo. A inativação do X também está associada à metilação do cromossomo X inativo, um processo que pode ajudar a garantir a estabilidade a longo prazo da inativação. ▲