

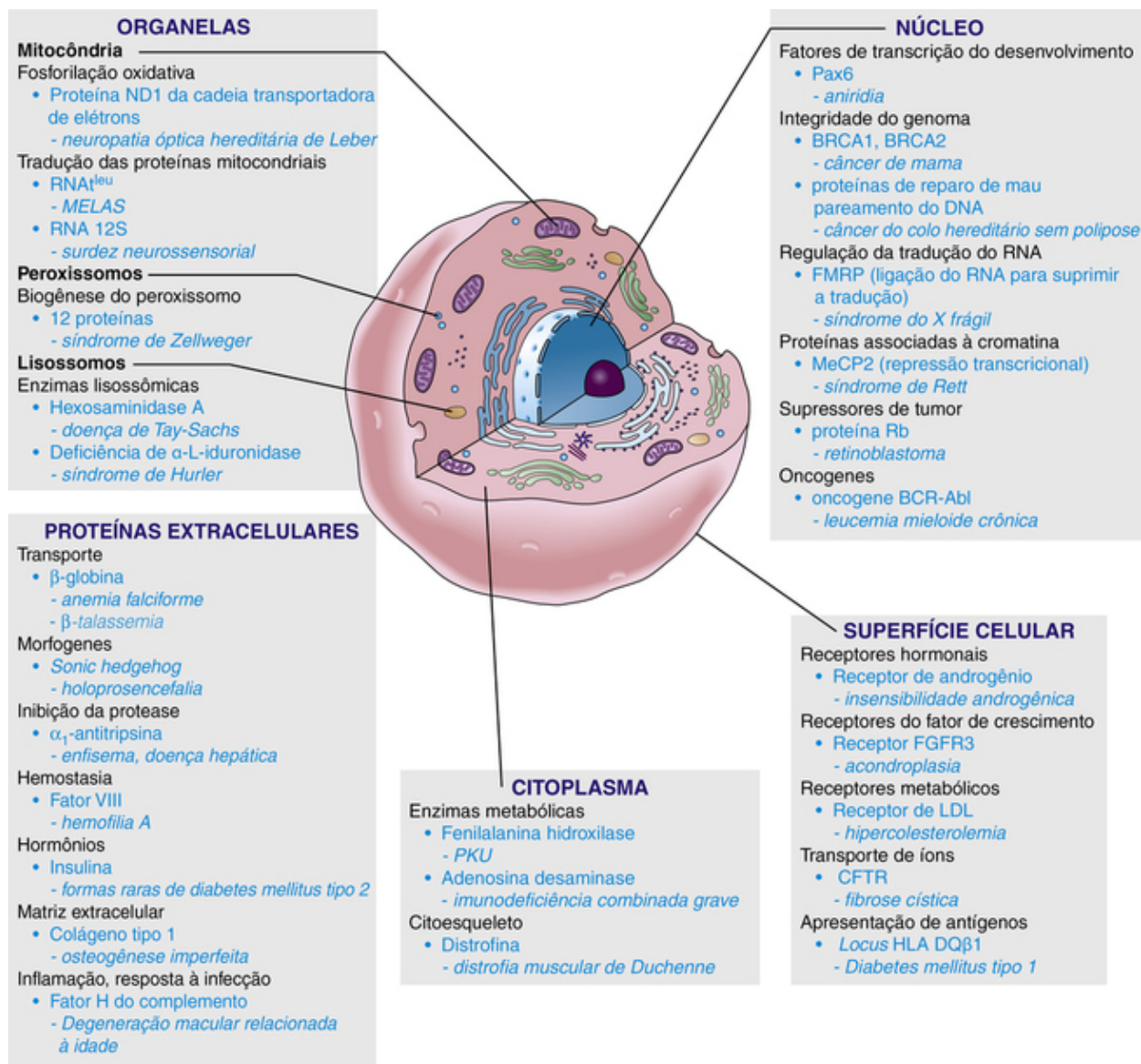
# Bases Moleculares, Bioquímicas e Celulares das Doenças Genéticas

Neste capítulo, estendemos nossa análise das bases moleculares e bioquímicas das doenças genéticas além das hemoglobinopatias, incluindo outras doenças e as anormalidades na função de genes e proteínas que as causam. No [Capítulo 11](#), apresentamos um resumo dos mecanismos gerais, pelos quais as mutações causam doenças ([Fig 11-1](#)) e revimos os passos em que as mutações podem interromper a síntese ou a função de uma proteína ([Tabela 11-2](#)). Esses perfis fornecem uma base para a compreensão da patogênese de todas as doenças genéticas. No entanto, as mutações em outras classes de proteínas frequentemente interrompem as funções celulares e dos órgãos por meio de processos que diferem dos ilustrados pelas hemoglobinopatias, e nós os exploraremos neste capítulo.

Para ilustrar esses outros tipos de mecanismos de doença, examinaremos aqui distúrbios bem conhecidos, tais como a **fenilcetonúria**, a **fibrose cística**, a **hipercolesterolemia familiar**, a **distrofia muscular de Duchenne** e a **doença de Alzheimer**. Em alguns casos, distúrbios menos comuns são incluídos por demonstrarem melhor um princípio específico. A importância de selecionar distúrbios representativos torna-se evidente quando se considera que, até o momento, mutações em quase 3.000 genes têm sido associadas a um fenótipo clínico. Na próxima década, antecipa-se que muitos dos cerca de 20.000 a 25.000 genes codificantes do genoma humano serão revelados em associação com doenças monogênicas e geneticamente complexas.

## Doenças causadas por mutações em classes diferentes de proteínas

As proteínas realizam um número surpreendente de funções diferentes, algumas das quais são apresentadas na [Figura 12-1](#). Mutações em praticamente todas as classes funcionais de proteínas podem levar a distúrbios genéticos. Neste capítulo, descrevemos doenças genéticas importantes que afetam proteínas representativas, selecionadas a partir dos grupos mostrados na [Figura 12-1](#); muitas das outras proteínas listadas, bem como as doenças a elas associadas, são descritas na seção de Casos.



**FIGURA 12-1** Exemplos das classes de proteínas associadas a doenças com um forte componente genético (a maioria é monogênica), e a parte da célula em que as referidas proteínas funcionam normalmente. CFTR, regulador transmembrana da fibrose cística; FMRP, proteína do retardo mental X frágil; HLA, antígeno leucocitário humano; LDL, lipoproteína de baixa densidade; MELAS, encefalomiopatia mitocondrial com acidose láctica e episódios semelhantes a derrames; PKU, fenilcetonúria.

## Proteínas de Manutenção e Proteínas Especiais nas Doenças Genéticas

As proteínas podem ser separadas em duas classes gerais com base em seu padrão de expressão: *proteínas de manutenção*, que estão presentes em praticamente todas as células e têm papéis fundamentais na manutenção da estrutura e função celulares; e as *proteínas tecido-específicas especiais*, que são produzidas em apenas um tipo celular ou em um número limitado de tipos celulares e têm funções únicas que contribuem para a individualidade das células em que são expressas. A maioria dos tipos celulares em humanos expressa de 10.000 a 15.000 genes codificantes de proteínas. O conhecimento sobre os tecidos em que uma proteína é expressa, particularmente em níveis elevados, é muitas vezes útil para a compreensão da patogênese de uma doença.

Dois generalizações podem ser feitas sobre a relação entre o local de expressão de uma proteína e o local da doença.

- *Em primeiro lugar* (e um pouco intuitivamente), uma mutação numa proteína tecido-específica frequentemente produz uma doença restrita a este tecido. No entanto, pode haver efeitos secundários sobre outros tecidos, e, em alguns casos, mutações em proteínas tecido-específicas podem causar anomalias essencialmente em órgãos que não expressam a proteína de qualquer modo; ironicamente, o tecido que expressa a proteína mutante pode não ser acometido pelo processo patológico. Essa situação é exemplificada pela **fenilcetonúria**, discutida em profundidade na próxima seção. A fenilcetonúria é causada pela ausência de atividade da fenilalanina hidroxilase (PAH) no fígado, mas é o cérebro (que expressa muito pouco dessa enzima), e não o fígado, que é danificado pelos níveis sanguíneos elevados de fenilalanina resultantes da falta de PAH hepática. Por conseguinte, não se pode inferir que a doença em um órgão necessariamente

resulta de uma mutação em um gene expresso principal ou exclusivamente neste órgão, ou neste órgão de qualquer modo.

- *Em segundo lugar*, embora as proteínas de manutenção sejam expressas na maioria ou em todos os tecidos, os efeitos clínicos de mutações nas proteínas de manutenção são frequentemente limitados a um ou a poucos tecidos, por pelo menos duas razões. Na maioria de tais casos, um único ou poucos tecidos podem ser afetados, pois a proteína de manutenção em questão é normalmente expressa abundantemente lá e possui uma função especial nesse tecido. Essa situação é ilustrada pela **doença de Tay-Sachs**, conforme discutido mais adiante; a enzima mutante nesse distúrbio é a hexosaminidase A, que é expressa em praticamente todas as células, mas a sua ausência leva a uma neurodegeneração fatal, deixando os tipos de células não neuronais ilesos. Em outros casos, outra proteína com atividade biológica sobreposta pode também ser expressa no tecido não afetado, diminuindo assim o impacto da perda de função do gene mutante, uma situação conhecida como **redundância genética**. Inesperadamente, mesmo mutações em genes que podem ser considerados como essenciais para todas as células, tais como o da actina, podem resultar em prole viável.

## Doenças que envolvem enzimas

As enzimas são catalisadores que medeiam a conversão eficiente de um substrato em um produto. A diversidade de substratos nos quais as enzimas atuam é enorme. Desse modo, o genoma humano contém mais de 5.000 genes que codificam enzimas, e há centenas de doenças humanas — as chamadas **enzimopatias** — que envolvem defeitos de enzimas. Primeiramente, discutiremos um dos grupos mais conhecidos de erros inatos do metabolismo, as **hiperfenilalaninemias**.

### Aminoacidopatias

#### As hiperfenilalaninemias

As alterações que levam a um aumento do nível sanguíneo de fenilalanina, especialmente a deficiência de PAH ou a **fenilcetonúria (PKU)**, ilustram quase todos os princípios da genética bioquímica relacionada a defeitos enzimáticos. As causas bioquímicas da hiperfenilalaninemia são ilustradas na [Figura 12-2](#), e as características principais das doenças associadas a defeitos bioquímicos nos cinco *loci* de hiperfenilalaninemia conhecidos são apresentadas na [Tabela 12-1](#). Todos os distúrbios genéticos do metabolismo da fenilalanina são herdados como condições autossômicas recessivas e são decorrentes de mutações de perda de função no gene que codifica a PAH ou em genes necessários para a síntese ou a reutilização do seu cofator, a tetra-hidrobiopterina (BH<sub>4</sub>).

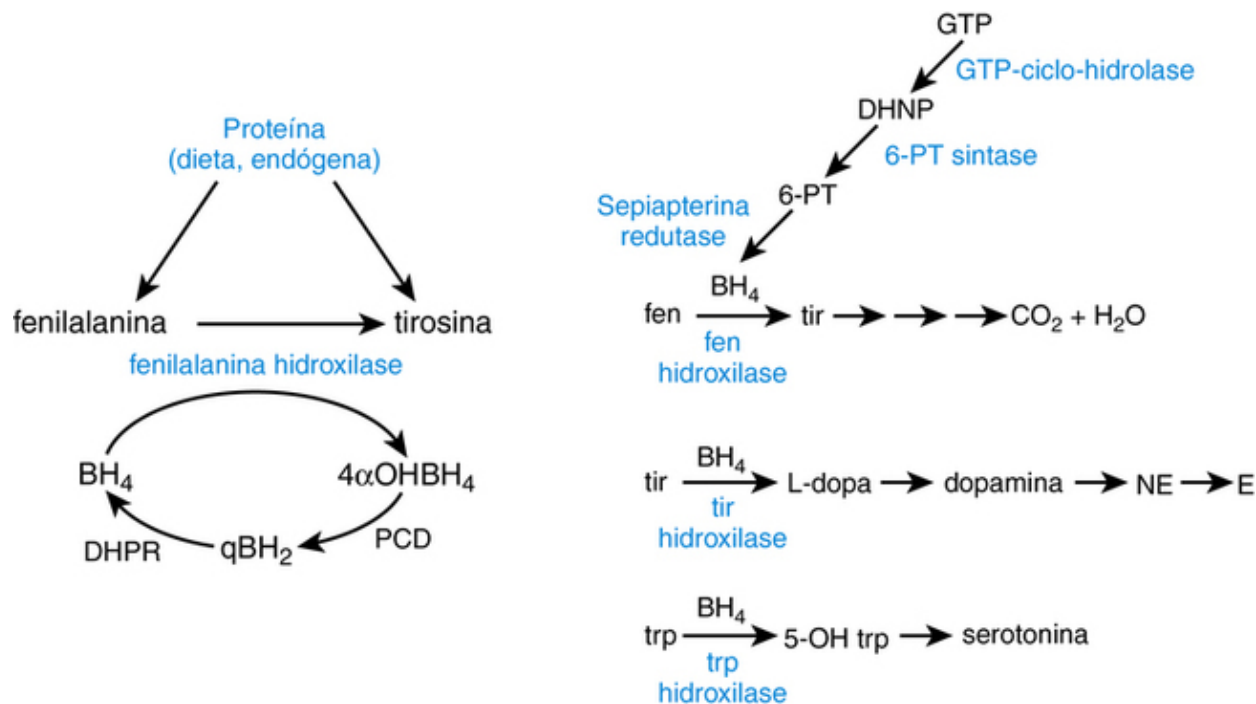
**Tabela 12-1**

#### Heterogeneidade de *Locus* nas Hiperfenilalaninemias

Defeito Bioquímico	Incidência/10 <sup>6</sup> Nascimentos	Enzima Afetada	Tratamento
Mutações no Gene que Codifica a Fenilalanina Hidroxilase			
PKU clássica	5-350 (dependendo da população)	PAH	Dieta pobre em fenilalanina
PKU variante	Menor que a PKU clássica	PAH	Dieta pobre em fenilalanina (menos restritiva do que a necessária para tratar PKU*)
Hiperfenilalaninemia não PKU	15-75	PAH	Nenhum, ou uma dieta muito menos restritiva pobre em fenilalanina*
Mutações em Genes que Codificam Enzimas do Metabolismo da Tetra-hidrobiopterina			
Reciclagem da BH <sub>4</sub> prejudicada	<1	PCD DHPR	Dieta pobre em fenilalanina + L-dopa, 5-HT, carbidopa (+ ácido fólico para pacientes com DHPR)
Síntese da BH <sub>4</sub> prejudicada	<1	GTP-CH 6-PTS	Dieta pobre em fenilalanina + L-dopa, 5-HT, carbidopa e doses farmacológicas de BH <sub>4</sub>

BH<sub>4</sub>, Tetra-hidrobiopterina; DHPR, di-hidropteridina redutase; GTP-CH, trifosfato de guanosina ciclo-hidrolase; 5-HT, 5-hidroxitriptofano; PAH, fenilalanina hidroxilase; PCD, pterina 4 $\alpha$ -carbinolamina desidratase; PKU, fenilcetonúria; 6-PTS, 6-piruviltetra-hidropterina sintase.

\*A suplementação de BH<sub>4</sub> pode aumentar a atividade da PAH de alguns pacientes em cada um desses três grupos.



**FIGURA 12-2** As vias bioquímicas afetadas nas hiperfenilalaninemias. BH<sub>4</sub>, tetra-hidrobiopterina; 4α-OH BH<sub>4</sub>, 4 α-hidroxitetra-hidrobiopterina; qBH<sub>2</sub>, di-hidrobiopterina quinonoide, o produto oxidado das reações de hidroxilação, que é reduzido a BH<sub>4</sub> pela di-hidropteridina redutase (DHPR); PCD, pterina 4α-carbinolamina desidratase; fen, fenilalanina; tir, tirosina; trp, triptofano; GTP, trifosfato de guanosina; DHNP, trifosfato de di-hidroneopterina; 6-PT, 6-piruviltetra-hidropterina; L-dopa, L-di-hidroxitirósina; NE, norepinefrina; E, epinefrina; 5-OH trp, 5-hidroxitriptofano.

## Fenilcetonúria

A PKU clássica é o epítome das enzimopatias. É o resultado de mutações no gene que codifica a PAH, a qual converte a fenilalanina em tirosina (Fig. 12-2 e Tabela 12-1). A descoberta da PKU em 1934 marcou a primeira demonstração de um defeito genético como uma causa de deficiência intelectual. Uma vez que os pacientes com PKU não podem degradar a fenilalanina, ela se acumula em fluidos corporais e danifica o sistema nervoso central em desenvolvimento na primeira infância. Uma pequena fração de fenilalanina é metabolizada para produzir quantidades aumentadas de ácido fenilpirúvico, o cetoácido responsável pelo nome da doença. Ironicamente, embora o defeito enzimático seja conhecido há muitas décadas, o(s) mecanismo(s) patogênico(s) preciso(s), pelo(s) qual(ais) o aumento da fenilalanina danifica o cérebro é(são) ainda incerto(s). É importante salientar que o dano neurológico é evitado através da redução da ingestão de fenilalanina na dieta. O controle da PKU é um paradigma do tratamento de muitas doenças metabólicas, cujo efeito pode ser melhorado pela prevenção do acúmulo do substrato da enzima e de seus derivados; este princípio terapêutico é descrito no Capítulo 13.

## Fenilcetonúria Variante e Hiperfenilalaninemia Não Fenilcetonúrica

Embora a PKU resulte de uma ausência virtual de atividade da PAH (menos de 1% da observada nos controles), os fenótipos menos graves, chamados de hiperfenilalaninemia não PKU e PKU variante (Tabela 12-1), ocorrem quando a enzima PAH mutante tem alguma atividade residual. O fato de uma quantidade muito pequena de atividade enzimática residual poder ter um grande impacto no fenótipo é outro princípio geral das enzimopatias (Quadro).

A PKU variante inclui os pacientes que necessitam apenas de alguma restrição alimentar de fenilalanina, mas em menor grau da que é exigida na PKU clássica, pois seus aumentos nos níveis de fenilalanina sanguínea são mais moderados e menos prejudiciais para o cérebro. Em contraste com a PKU clássica, em que os níveis de fenilalanina no plasma são superiores a 1.000 μmol/L, quando o paciente está recebendo uma dieta normal, a hiperfenilalaninemia não PKU é definida por concentrações de fenilalanina no plasma acima do limite superior do intervalo normal (120 μmol/L), mas menor do que os níveis observados na PKU clássica. Se o aumento da hiperfenilalaninemia não PKU for pequeno (<400 μmol/L), o tratamento não é necessário; esses indivíduos têm atenção clínica só porque são identificados pela triagem neonatal (Cap. 17). Seu fenótipo normal tem sido a melhor indicação do nível "seguro" de fenilalanina no plasma que não deve ser ultrapassado no tratamento da PKU clássica. A associação desses três fenótipos clínicos com mutações no gene PAH é um exemplo claro da heterogeneidade alélica, levando à heterogeneidade clínica (Tabela 12-1).

## Enzimas mutantes e doença: conceitos gerais

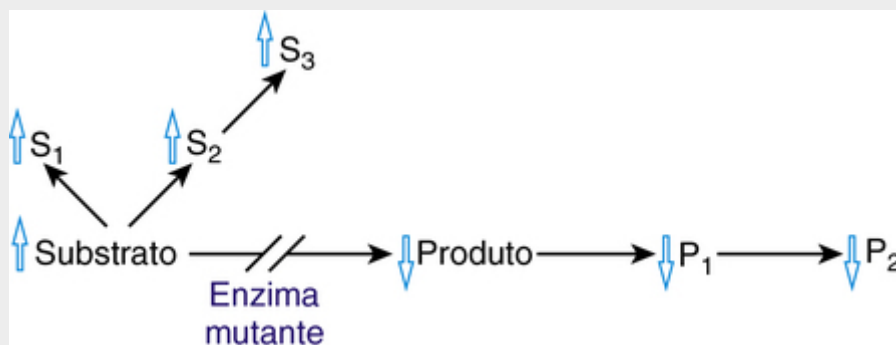
Os seguintes conceitos são fundamentais para a compreensão e tratamento das enzimopatias.

- Padrões de herança

As enzimopatias são quase sempre recessivas ou ligadas ao X (Cap. 7). A maioria das enzimas é produzida em quantidades significativamente além das necessidades bioquímicas mínimas, de modo que os heterozigotos (normalmente com cerca de 50% de atividade residual) são clinicamente normais. Na verdade, muitas enzimas podem manter os níveis normais de substrato e de produtos com atividades de menos de 10%, um ponto relevante para o delineamento de estratégias terapêuticas (p. ex., **homocistinúria** devido à deficiência de cistationina sintase – Cap. 13). As enzimas da síntese da porfirina são exceções (veja a discussão de porfiria aguda intermitente no texto principal, mais adiante).

- **Acúmulo de substrato ou deficiência de produto**

Uma vez que a função de uma enzima é a de converter um substrato em um produto, todas as consequências fisiopatológicas das enzimopatias podem ser atribuídas ao acúmulo do substrato (como na PKU), à deficiência do produto (como na *deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase* (Caso 19), ou a alguma combinação dos dois (Fig. 12-3).



**FIGURA 12-3** Uma via metabólica modelo mostrando que os efeitos potenciais de uma deficiência de enzima incluem o acúmulo do substrato (S), ou derivados do mesmo (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>) e a deficiência do produto (P) ou compostos produzidos a partir dele (P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>). Em alguns casos, os derivados do substrato são normalmente apenas pequenos metabólitos que podem ser formados a taxas aumentadas quando o substrato se acumula (p. ex., fenilpiruvato na fenilcetonúria).

- **Substratos difundíveis versus macromoleculares**

Uma importante distinção pode ser feita entre os defeitos enzimáticos, em que o substrato é uma molécula pequena (tal como a fenilalanina, que pode ser prontamente distribuída por todos os fluidos do corpo por difusão ou transporte), e defeitos nos quais o substrato é uma macromolécula (tal como um mucopolissacarídeo, que permanece preso em sua organela ou célula). A alteração patológica das doenças macromoleculares, tais como a *doença de Tay-Sachs*, está confinada ao tecido em que o substrato se acumula. Em contraste, o local da doença nos distúrbios das moléculas pequenas é muitas vezes imprevisível, porque o substrato não metabolizado ou os seus derivados podem mover-se livremente ao longo do corpo, danificando células que podem normalmente não ter nenhuma relação com a enzima afetada, como na PKU.

- **Perda de múltiplas atividades enzimáticas**

Um paciente com um defeito monogênico pode ter uma perda de função em mais de uma enzima. Existem vários mecanismos possíveis: as enzimas podem utilizar o mesmo cofator (p. ex., *deficiência de BH<sub>4</sub>*); as enzimas podem compartilhar uma subunidade comum ou uma proteína ativadora, de processamento, ou de estabilização (p. ex., as *gangliosidoses GM<sub>2</sub>*); as enzimas podem ser todas processadas por uma enzima modificadora comum, e em sua ausência, podem ser inativadas, ou a sua absorção em uma organela pode estar diminuída (p. ex., *doença de células I*, na qual a falha ao adicionar a manose 6-fosfato a muitas enzimas lisossômicas anula a capacidade das células em reconhecer e importar as enzimas); e um grupo de enzimas pode estar ausente ou ineficiente se a organela em que ele é encontrado normalmente não é formada ou é anormal (p. ex., *síndrome de Zellweger*, um distúrbio da biogênese do peroxissoma).

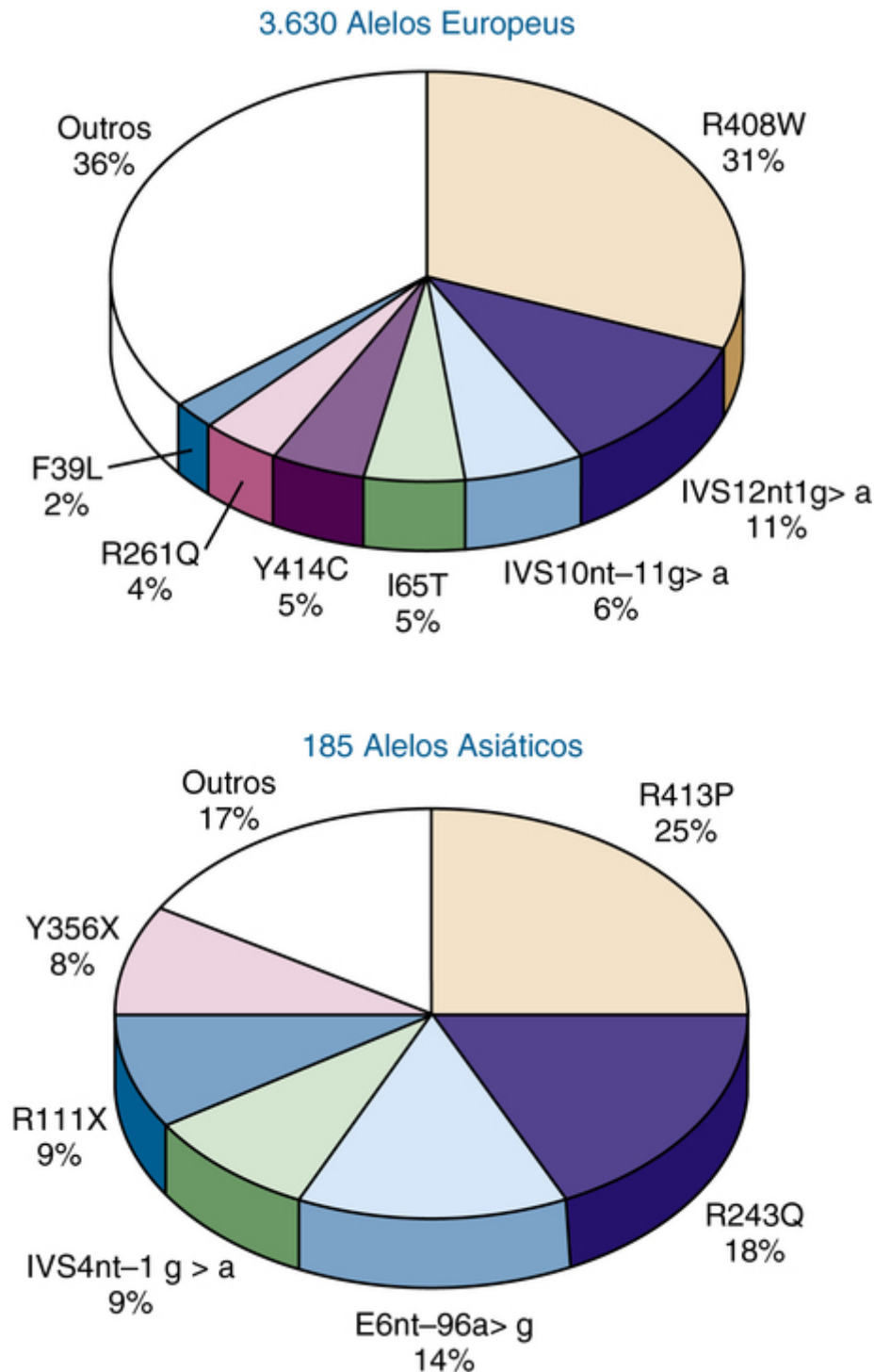
- **Homologia fenotípica**

As características patológicas e clínicas resultantes de um defeito enzimático são frequentemente partilhadas por doenças, devido a deficiências de outras enzimas que funcionam na mesma área do metabolismo (p. ex., as *mucopolissacaridoses*), bem como pelos diferentes fenótipos que podem resultar de defeitos parciais versus completos de uma enzima. Defeitos parciais geralmente apresentam anormalidades clínicas que são um subconjunto daqueles encontrados com a deficiência completa, embora a relação etiológica entre as duas doenças possa não ser imediatamente óbvia. Por exemplo, a deficiência parcial da enzima purina hipoxantina guanina fosforibosiltransferase provoca apenas hiperuricemia, ao passo que uma deficiência completa provoca hiperuricemia, assim como uma doença neurológica severa, a *síndrome de Lesch-Nyhan*, que se assemelha à paralisia cerebral.

## Heterogeneidade Alélica e de Locus nas Hiperfenilalaninemias

### Heterogeneidade Alélica no Gene PAH

Um grau notável de heterogeneidade alélica no *locus PAH* — mais de 700 mutações diferentes em todo o mundo — tem sido identificado em pacientes com hiperfenilalaninemia associados à PKU clássica, à PKU variante, e à hiperfenilalaninemia não PKU (Tabela 12-1). Sete mutações são responsáveis pela maioria dos alelos mutantes conhecidos em populações de ascendência europeia, ao passo que outras seis representam a maioria das mutações de *PAH* em populações asiáticas (Fig. 12-4). As mutações restantes causadoras de doenças são individualmente raras. Para registrar e disponibilizar essas informações ao público, um banco de dados de *PAH* foi desenvolvido por um consórcio internacional.



**FIGURA 12-4** A natureza e a identidade de mutações *PAH* em populações de ascendências europeia e asiática (a última da China, Coreia e Japão). O código de aminoácidos de uma letra é utilizado (Tabela 3-1). Veja Fontes & Agradecimentos.

A heterogeneidade alélica no *locus PAH* tem importantes consequências clínicas. A mais importante é o fato de a maioria dos indivíduos hiperfenilalaninêmicos ser **heterozigota composta** (i.e., eles têm dois alelos diferentes causadores de doença)

(Cap. 7). Essa heterogeneidade alélica é responsável por grande parte da heterogeneidade enzimática e fenotípica observada nessa população de pacientes. Assim, as mutações que eliminam ou reduzem drasticamente a atividade *PAH* geralmente causam PKU clássica, enquanto a maior atividade enzimática residual está associada aos fenótipos mais suaves. No entanto, foram encontrados pacientes homocigotos com certas mutações *PAH* apresentando fenótipos que vão desde a PKU clássica até a hiperfenilalaninemia não PKU. Assim, agora está claro que outras variáveis biológicas não identificadas — incluindo indiscutivelmente genes modificadores — geram variação no fenótipo observada com qualquer genótipo específico. Essa falta de uma correlação genótipo-fenótipo estrita, no início um pouco surpreendente, é agora reconhecida como uma característica comum de muitas doenças monogênicas e destaca o fato de que até mesmo traços monogênicos, como a PKU, não são distúrbios geneticamente “simples”.

### Defeitos no Metabolismo da Tetra-hidrobiopterina

Em 1% a 3% dos pacientes com hiperfenilalaninemia, o gene *PAH* é normal, e a hiperfenilalaninemia resulta de um defeito numa das etapas da biossíntese ou da regeneração do  $\text{BH}_4$ , o cofator para a *PAH* (Tabela 12-1 e a Fig. 12-2). A associação de um único fenótipo bioquímico, tal como a hiperfenilalaninemia, a mutações em genes diferentes, é um exemplo da heterogeneidade de *locus* (Tabela 11-1). As proteínas codificadas pelos genes que manifestam heterogeneidade de *locus* geralmente atuam em diferentes etapas de uma única via bioquímica, outro princípio de doença genética ilustrada pelos genes associados à hiperfenilalaninemia (Fig. 12-2). Os pacientes com deficiência de  $\text{BH}_4$  foram reconhecidos em primeiro lugar porque desenvolveram problemas neurológicos severos no início da vida, apesar da administração bem-sucedida de uma dieta pobre em fenilalanina. Esse prognóstico ruim é devido, em parte, à necessidade do cofator  $\text{BH}_4$  de duas outras enzimas, a tirosina hidroxilase e a triptofano hidroxilase. Essas hidroxilases são críticas para a síntese dos neurotransmissores monoaminas dopamina, norepinefrina, epinefrina e serotonina (Fig. 12-2).

A heterogeneidade de *locus* da hiperfenilalaninemia é de grande importância, pois o tratamento de pacientes com um defeito no metabolismo de  $\text{BH}_4$  difere marcadamente entre os indivíduos com mutações em *PAH*, de duas maneiras. Primeira, porque a enzima *PAH* de indivíduos com defeitos  $\text{BH}_4$  é, em si, normal, sua atividade pode ser restaurada por grandes doses orais de  $\text{BH}_4$ , levando a uma redução nos níveis plasmáticos de fenilalanina. Essa prática destaca o princípio da substituição do produto no tratamento de algumas doenças genéticas (Cap. 13). Em consequência, a restrição de fenilalanina pode ser significativamente relaxada na dieta de pacientes com defeitos do metabolismo de  $\text{BH}_4$ , e, na verdade, alguns pacientes toleram uma dieta normal (i.e., sem restrição de fenilalanina). Segunda, deve-se também tentar normalizar os neurotransmissores no cérebro desses pacientes por meio da administração dos produtos da tirosina hidroxilase e da triptofano hidroxilase, o L-dopa e o 5-hidroxitriptofano, respectivamente (Fig. 12-2 e a Tabela 12-1).

Notavelmente, as mutações na sepiapterina redutase, uma enzima da via de síntese do  $\text{BH}_4$ , não causam hiperfenilalaninemia. Nesse caso, é observada apenas uma distonia dopa-responsiva devido à síntese prejudicada de dopamina e serotonina (Fig. 12-2). Acredita-se que existam vias alternativas para a etapa final na síntese de  $\text{BH}_4$ , ignorando a deficiência de sepiapterina redutase nos tecidos periféricos, um exemplo de redundância genética. Por essas razões, todas as crianças com hiperfenilalaninemia devem ser examinadas para determinar se sua hiperfenilalaninemia é o resultado de uma anormalidade na *PAH* ou no metabolismo do  $\text{BH}_4$ . As hiperfenilalaninemias ilustram, assim, a importância crítica de se obter um diagnóstico molecular específico em todos os pacientes com um fenótipo de doença genética — o defeito genético subjacente pode não ser aquele que se suspeita primeiro, e o tratamento, conseqüentemente, pode variar.

### Responsividade da Tetra-hidrobiopterina nas Mutações de *PAH*

Muitos pacientes com hiperfenilalaninemia e mutações no gene *PAH* (em vez de no metabolismo do  $\text{BH}_4$ ) também irão responder a grandes doses orais do cofator  $\text{BH}_4$ , com uma diminuição substancial na fenilalanina plasmática. A suplementação de  $\text{BH}_4$  é, portanto, uma importante terapia adjuvante para pacientes com PKU desse tipo, permitindo-lhes uma ingestão dietética menos restrita de fenilalanina. Os pacientes com maior probabilidade de responder são aqueles com significativa atividade da *PAH* residual (i.e., os pacientes com PKU variante e hiperfenilalaninemia não PKU), mas mesmo uma minoria de pacientes com PKU clássica também é responsiva. A presença de atividade da *PAH* residual, no entanto, não garante necessariamente um efeito da administração de  $\text{BH}_4$  nos níveis plasmáticos de fenilalanina. Em vez disso, o grau de responsividade ao  $\text{BH}_4$  dependerá das propriedades específicas de cada proteína *PAH* mutante, refletindo a heterogeneidade alélica subjacente às mutações *PAH*.

O fornecimento de uma maior quantidade de um cofator é uma estratégia geral que tem sido utilizada para o tratamento de muitos erros inatos do metabolismo enzimático, como discutido no Capítulo 13. Em geral, um cofactor entra em contato com o componente proteico de uma enzima (denominado de *apoenzima*) para formar a *holoenzima* ativa, que consiste tanto no cofator quanto na apoenzima de outro modo inativa. Ilustrando essa estratégia, a suplementação de  $\text{BH}_4$  tem mostrado exercer o seu efeito benéfico através de um ou mais mecanismos, os quais resultam do aumento da quantidade do cofator que é colocada em contato com a apoenzima *PAH* mutante. Esses mecanismos incluem a estabilização da enzima mutante, a proteção da enzima da degradação pela célula, e o aumento na oferta de um cofator para a enzima mutante que tem uma baixa afinidade para o  $\text{BH}_4$ .

### Triagem Neonatal

A PKU é o protótipo de doenças genéticas para as quais a triagem neonatal em massa é justificada (Cap. 18) porque é relativamente comum em algumas populações (até cerca de um em 2.900 nativos), a triagem em massa é viável, a falta de tratamento tem consequências graves (atraso do desenvolvimento severo), e o tratamento é eficiente se iniciado precocemente na vida. Para que haja tempo suficiente para ocorrer o aumento pós-natal nos níveis de fenilalanina no sangue, o teste é realizado após 24 horas de vida. O sangue coletado de uma picada no calcanhar é testado em um laboratório central para análise dos níveis de fenilalanina no sangue e a medida da proporção entre fenilalanina e tirosina. Os resultados positivos devem ser confirmados rapidamente, pois os atrasos no tratamento além de 4 semanas após o nascimento têm efeitos severos no prognóstico intelectual.

### Fenilcetonúria Materna

Originalmente, a dieta pobre em fenilalanina era descontinuada em meados da infância para a maioria dos pacientes com PKU. No entanto, subsequentemente descobriu-se que quase toda a prole de mulheres com PKU que não recebe tratamento é clinicamente anormal; a maioria é gravemente atrasada no desenvolvimento, e muitos têm microcefalia, prejuízo de crescimento e malformações, especialmente cardíacas. Como previsto por princípios da herança mendeliana, todas essas crianças são heterozigotas. Assim, o atraso do neurodesenvolvimento não é devido à própria constituição genética, mas ao efeito altamente teratogênico dos níveis elevados de fenilalanina na circulação materna. Por conseguinte, é imperativo que as mulheres com PKU que estejam planejando uma gravidez comecem uma dieta pobre em fenilalanina antes da concepção.

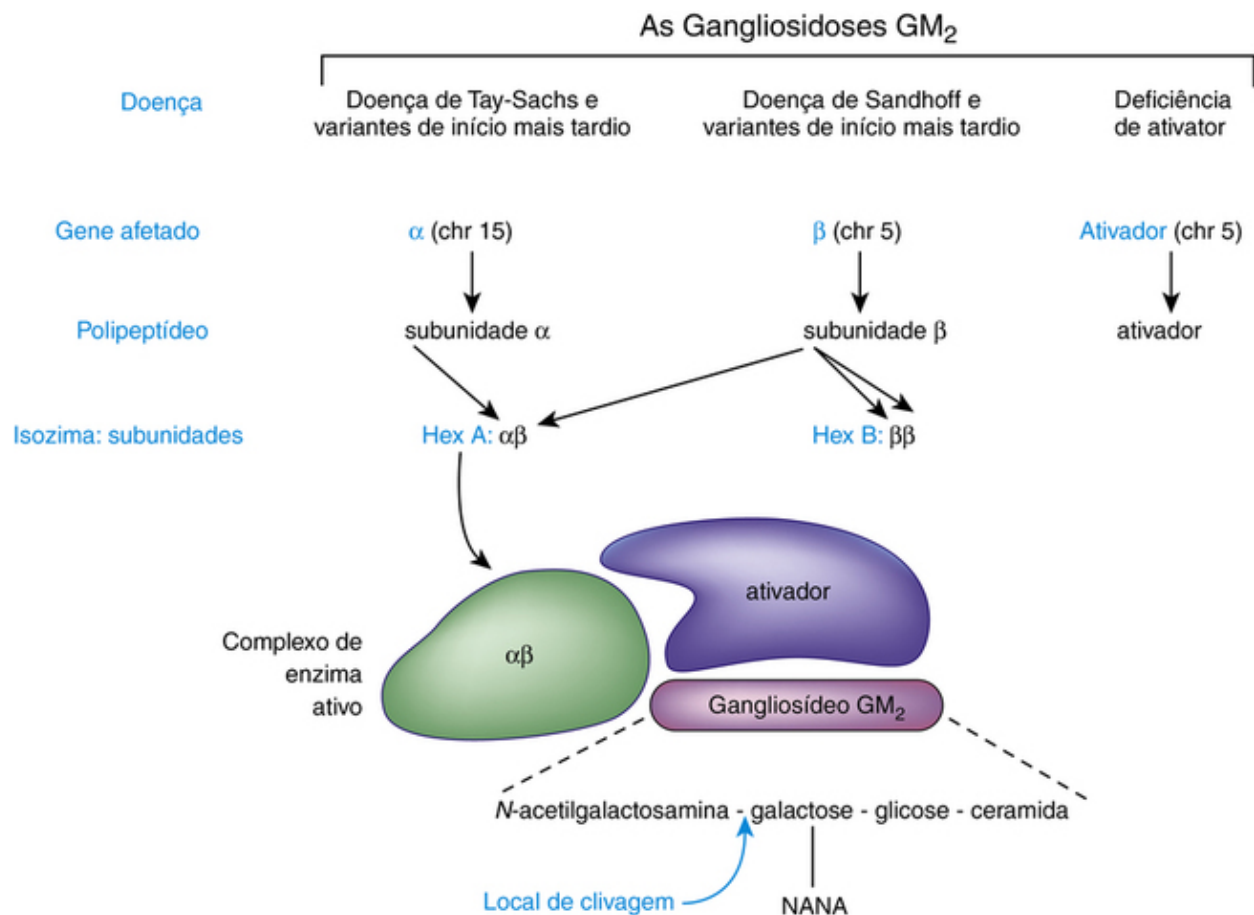
## Doenças do Armazenamento Lisossômico: Uma Classe Única de Enzimopatias

Os lisossomos são organelas ligadas à membrana que contêm uma série de enzimas hidrolíticas envolvidas na degradação de uma variedade de macromoléculas biológicas. As mutações nessas hidrolases são únicas, pois conduzem ao acúmulo de seus substratos no interior do lisossomo, onde os substratos permanecem presos, uma vez que o grande tamanho impede a sua saída da organela. O seu acúmulo e, por vezes, a toxicidade interferem na função normal das células, eventualmente causando a morte celular. Além disso, o acúmulo de substrato é responsável por uma característica clínica uniforme dessas doenças — sua progressão implacável. Na maior parte dessas condições, o armazenamento do substrato aumenta a massa dos tecidos e órgãos afetados. Quando o cérebro é afetado, a imagem é de neurodegeneração. Os fenótipos clínicos são muito distintos e muitas vezes tornam simples o diagnóstico de uma doença de armazenamento. Mais de 50 deficiências de hidrolases lisossômicas ou de transporte da membrana lisossômica, quase todas herdadas como condições autossômicas recessivas, foram descritas. Em termos históricos, essas doenças eram incuráveis. No entanto, **o transplante de medula óssea e a terapia de reposição enzimática** têm melhorado expressivamente o prognóstico dessas condições (Cap. 13).

### Doença de Tay-Sachs

A doença de Tay-Sachs (Caso 43) pertence a um grupo heterogêneo de doenças de armazenamento lisossômico, as gangliosidoses GM<sub>2</sub>, que resultam da incapacidade de degradar um esfingolípido, o gangliosídeo GM<sub>2</sub> (Fig. 12-5). A lesão bioquímica é uma deficiência acentuada da hexosaminidase A (hex A). Embora a enzima seja ubíqua, a doença tem o seu impacto clínico quase que exclusivamente no cérebro, o local predominante da síntese do gangliosídeo GM<sub>2</sub>. A hex A cataliticamente ativa é o produto de um sistema de três genes (Fig. 12-5). Esses genes codificam as subunidades  $\alpha$  e  $\beta$  da enzima (os genes *HEXA* e *HEXB*, respectivamente) e uma proteína ativadora que deve se associar ao substrato e à enzima antes que a enzima possa clivar o resíduo terminal *N*-acetil- $\beta$ -galactosamina do gangliosídeo.





**FIGURA 12-5** O sistema de três genes necessários para a atividade da hexosaminidase A e as doenças que resultam de defeitos de cada um dos genes. A função da proteína ativadora é ligar o substrato gangliosídeo e apresentá-lo à enzima. Hex A, Hexosaminidase A; hex B, hexosaminidase B; NANA, ácido N-acetil neuramínico. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

As manifestações clínicas de defeitos nos três genes são indistinguíveis, mas podem ser diferenciados por análise enzimática. As mutações no gene *HEXA* afetam a subunidade  $\alpha$  e perturbam a atividade hex A, causando a doença de Tay-Sachs (ou variantes menos severas da deficiência de hex A). Defeitos no gene *HEXB* ou no gene que codifica a proteína ativadora prejudicam a atividade tanto hex A quanto hex B (Fig. 12-5) produzindo a doença de Sandhoff ou deficiência da proteína ativadora (que é muito rara), respectivamente.

O curso clínico da doença de Tay-Sachs é trágico. Crianças afetadas parecem normais até cerca de 3 a 6 meses de idade, mas, em seguida, sofrem gradualmente uma deterioração neurológica progressiva até a morte aos 2 a 4 anos. Os efeitos da morte neuronal podem ser vistos diretamente sob a forma das chamadas manchas vermelho-cereja na retina (Caso 43). Em contraste, os alelos *HEXA* associados a alguma atividade residual conduzem a formas de doença neurológica de início mais tardio, com manifestações incluindo disfunção do neurônio motor inferior e ataxia devido à degeneração espinocerebelar. Em contraste à doença infantil, a visão e a inteligência geralmente permanecem normais, embora seja desenvolvida psicose em um terço dos pacientes. Finalmente, os **alelos de pseudodeficiência** (discutidos a seguir) não causam doença.

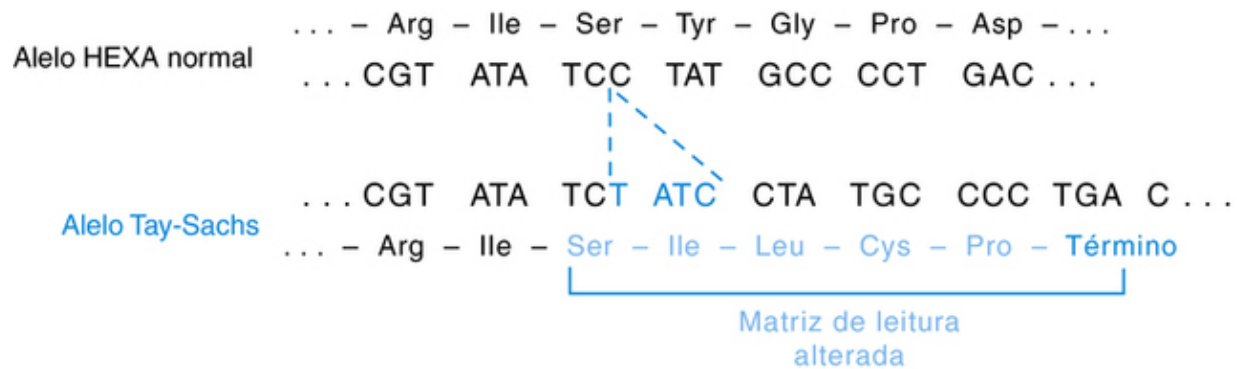
### Alelos da Pseudodeficiência Hex A e seus Significados Clínicos

Uma consequência inesperada da triagem para os portadores de Tay-Sachs na população judaica asquenaze foi a descoberta de uma classe única de alelos hex A, os chamados alelos da pseudodeficiência. Embora os dois alelos da pseudodeficiência sejam clinicamente benignos, os indivíduos identificados como pseudodeficientes em testes de triagem são compostos genéticos com um alelo da pseudodeficiência em um cromossomo e uma mutação de Tay-Sachs comum no outro cromossomo. Esses indivíduos têm um baixo nível de atividade da hex A (aproximadamente 20% da dos controles) que é adequado para evitar o acúmulo de gangliosídeo GM<sub>2</sub> no cérebro. A importância dos alelos da pseudodeficiência hex A é dupla. Em primeiro lugar, eles complicam o diagnóstico pré-natal porque um feto pseudodeficiente poderia ser incorretamente diagnosticado como afetado. De modo mais geral, o reconhecimento dos alelos da pseudodeficiência hex A indica que os programas de triagem para outras doenças genéticas devem reconhecer que os alelos comparáveis podem existir em outros *loci* e podem confundir a correta caracterização dos indivíduos nos testes de triagem ou de diagnóstico.

### Genética de Populações

Em muitas doenças monogênicas, alguns alelos são encontrados em maior frequência em algumas populações do que em outras (Cap. 9). Essa situação é ilustrada pela doença de Tay-Sachs, na qual três alelos são responsáveis por 99% das mutações

encontradas em pacientes judeus asquenazes, a mais comum das quais (Fig. 12-6) contabilizando 80% dos casos. Aproximadamente um em cada 27 judeus asquenazes é portador de um alelo de Tay-Sachs, e a incidência de crianças afetadas é 100 vezes maior do que em outras populações. Um efeito fundador ou a vantagem do heterozigoto é a explicação mais provável para essa alta frequência (Cap. 9). Uma vez que a maioria dos judeus asquenazes portadores terá um dos três alelos comuns, um benefício prático da caracterização molecular da doença nessa população é o grau em que a triagem de portadores foi simplificada.

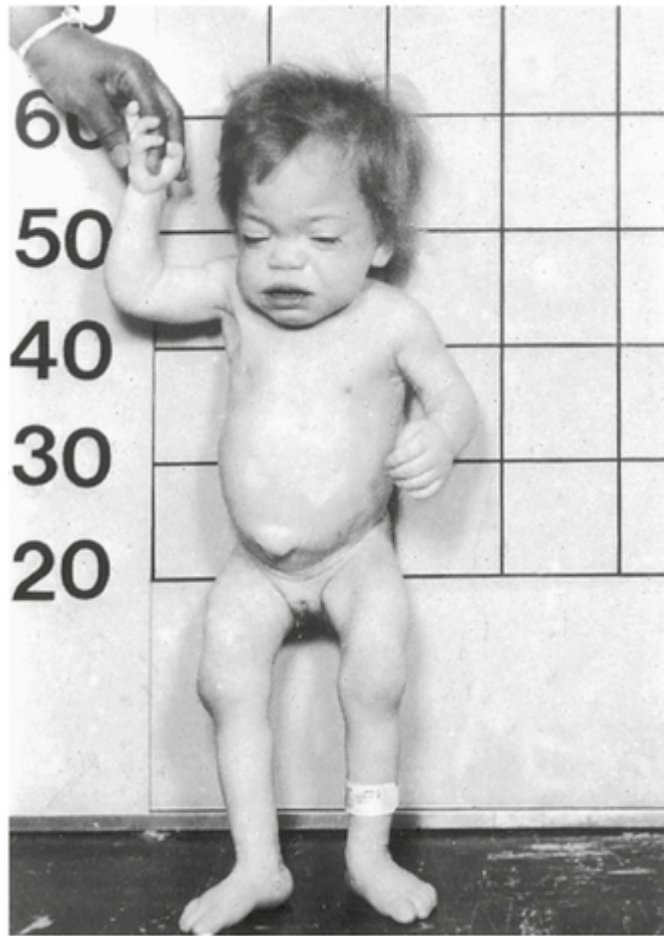


**FIGURA 12-6** Inserção de quatro bases (TATC) no gene da hexosaminidase A (hex A) na doença de Tay-Sachs, levando a uma mutação de mudança de matriz de leitura (*frameshift*). Essa mutação é a principal causa da doença de Tay-Sachs em judeus asquenazes. É produzida uma proteína hex A não detectável, representando a deficiência completa da enzima observada nesses pacientes de início na infância.

## Função Proteica Alterada devido à Modificação Pós-traducional Anormal

### Perda de Glicosilação: Doença da Célula I

Algumas proteínas possuem informação em sua sequência de aminoácidos primários que as dirige para sua residência subcelular, ao passo que outras estão localizadas com base em modificações pós-traducionais. Este último mecanismo é verdadeiro para as hidrolases ácidas encontradas nos lisossomos, mas essa forma de tráfico celular não foi reconhecida até a descoberta da **doença da célula I**, uma grave doença autossômica recessiva de armazenamento lisossômico. O distúrbio tem uma gama de efeitos fenotípicos que envolvem características faciais, alterações esqueléticas, retardo de crescimento e deficiência intelectual, e sobrevida de menos de 10 anos (Fig. 12-7). O citoplasma de fibroblastos da pele cultivados de pacientes com inclusão celular contém numerosos lisossomos anormais, ou inclusões, (daí o termo *células de inclusão* ou *células I*).



**FIGURA 12-7** Aspectos faciais e físicos da doença da célula I em uma menina de 18 meses de idade. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

Na doença da célula I, os níveis celulares de muitas hidrolases ácidas lisossômicas estão muito reduzidos, e em vez disso encontram-se em excesso nos fluidos do corpo. Essa situação não usual surge porque as hidrolases nesses pacientes não foram devidamente modificadas após a tradução. Uma hidrolase típica é uma glicoproteína, a porção de açúcar contendo resíduos de manose, alguns dos quais são fosforilados. Os resíduos de manose-6-fosfato são essenciais para o reconhecimento das hidrolases por receptores na superfície da membrana da célula e do lisossomo. Na doença da célula I há um defeito na enzima que transfere um grupo fosfato para os resíduos de manose. O fato de muitas enzimas serem afetadas é consistente com a diversidade de alterações clínicas observadas nesses pacientes.

### **Ganhos de Glicosilação: Mutações que Criam Novos Locais (Anormais) de Glicosilação**

Em contraste com a falha de glicosilação de proteínas exemplificada pela doença da célula I, foi demonstrado que uma proporção inesperadamente alta (aproximadamente 1,5%) das mutações de sentido trocado (*missense*) que causam doenças humanas pode estar associada a ganhos anormais de *N*-glicosilação, devido a mutações que criam novos locais de consenso de *N*-glicosilação nas proteínas mutantes. Tais novos locais podem realmente levar à glicosilação inadequada da proteína mutante, com consequências patogênicas, sendo isso realçado pelo distúrbio autossômico recessivo raro, a doença de **suscetibilidade mendeliana à micobacteriose (MSMD)**.

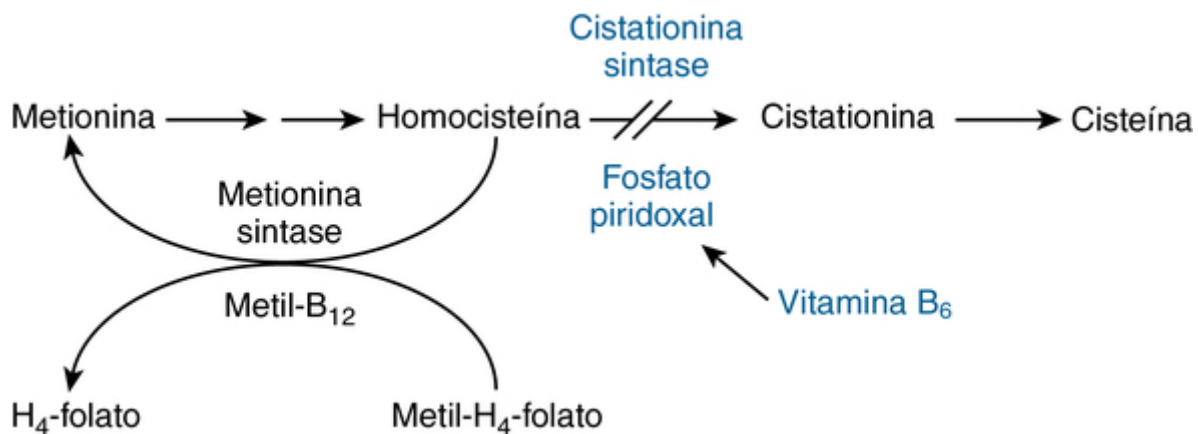
Os pacientes com MSMD têm defeitos em qualquer um de vários genes que regulam a defesa contra algumas infecções. Consequentemente, eles são suscetíveis a infecções disseminadas por exposição a espécies micobacterianas moderadamente virulentas, tais como o bacilo de Calmette-Guérin (BCG) utilizado em todo o mundo como uma vacina contra a tuberculose, ou a bactérias não tuberculosas ambientais que normalmente não causam doença. Alguns pacientes com MSMD são portadores de mutações *missense* no gene para o receptor 2 de interferon- $\gamma$  (*IFNGR2*) que gera novos locais de *N*-glicosilação na proteína *IFNGR2* mutante. Esses novos locais levam à síntese de um receptor anormalmente grande, excessivamente glicosilado. Os receptores mutantes atingem a superfície da célula, mas não respondem ao interferon  $\gamma$ . As mutações que conduzem a ganhos de glicosilação também foram encontradas, levando a uma perda de função da proteína em vários outros distúrbios monogênicos. A descoberta de que a remoção dos polissacarídeos anormais restaura a função das proteínas *IFNGR2* mutantes em MSMD oferece uma esperança de que os distúrbios desse tipo possam ser passíveis de terapias químicas que reduzam a glicosilação excessiva.

## Perda da Função Proteica devido ao Comprometimento da Ligação ou Metabolismo de Cofatores

Algumas proteínas adquirem atividade biológica só depois de se associarem a cofatores, tais como o  $BH_4$ , no caso da PAH, conforme discutido anteriormente. São também conhecidas mutações que interferem na síntese do cofator, na ligação, no transporte, ou na remoção a partir de uma proteína (quando a ligação é covalente). Para muitas dessas proteínas mutantes, um aumento na concentração intracelular do cofator é frequentemente capaz de restaurar alguma atividade residual para a enzima mutante, por exemplo, aumentando a estabilidade da proteína mutante. Consequentemente, os defeitos de enzimas desse tipo estão entre os distúrbios genéticos mais responsivos à terapia bioquímica específica, pois o cofator ou seu precursor é muitas vezes uma vitamina hidrossolúvel que pode ser administrada com segurança em grandes quantidades (Cap. 13).

### Ligação Prejudicada do Cofator: Homocistinúria devido à Deficiência de Cistationina Sintase

A **homocistinúria** devido à deficiência de cistationina sintase (Fig. 12-8) foi uma das primeiras aminoacidopatias a serem reconhecidas. O fenótipo clínico dessa condição autossômica recessiva é frequentemente acentuado. As características mais comuns incluem luxação do cristalino, deficiência intelectual, osteoporose, ossos longos, e tromboembolismo tanto venoso quanto arterial, um fenótipo que pode ser confundido com a **síndrome de Marfan**, uma doença do tecido conjuntivo (Caso 30). Acredita-se que o acúmulo de homocisteína seja fundamental para a maior parte ou por toda a patologia.



**FIGURA 12-8** Defeitos genéticos nas vias que afetam a cistationina sintase, ou na própria enzima, e causam homocistinúria.

A homocistinúria clássica é decorrente da cistationina sintase defeituosa. Vários defeitos diferentes no metabolismo intracelular das cobalaminas (não mostradas) levam a uma diminuição na síntese de metilcobalamina (metil-B<sub>12</sub>) e, portanto, na função da metionina sintase. Os defeitos da metileno-H<sub>4</sub>-folato redutase (não mostrado) diminuem a abundância de metil-H<sub>4</sub>-folato, o que também prejudica a função da metionina sintase. Alguns pacientes com anomalias da cistationina sintase respondem a grandes doses de vitamina B<sub>6</sub>, aumentando a síntese de fosfato piridoxal e, consequentemente, aumentando a atividade da cistationina sintase e tratando a doença (Cap. 13).

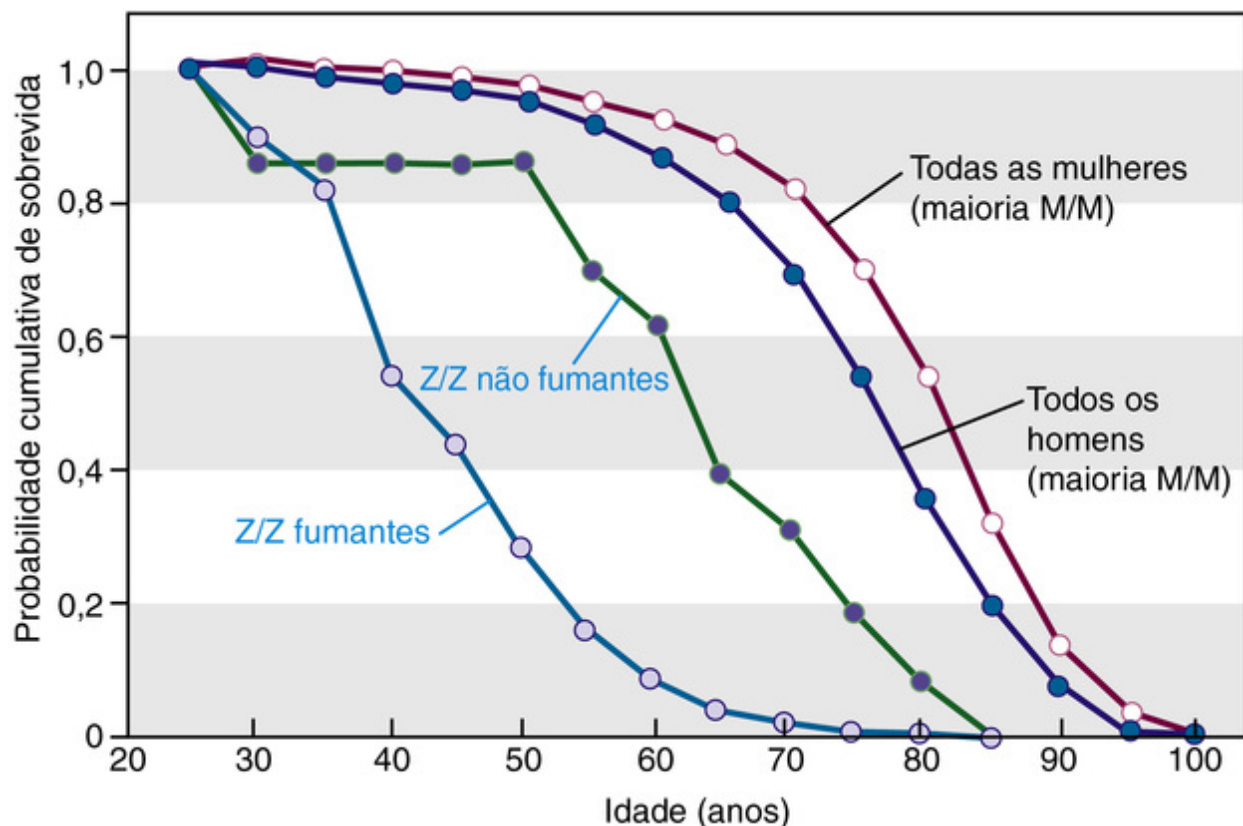
A homocistinúria foi uma das primeiras doenças genéticas que se mostraram responsivas a vitaminas; o fosfato piridoxal é o cofator da enzima, e a administração de grandes quantidades de piridoxina, o precursor vitamínico do cofator, muitas vezes melhora a alteração bioquímica e a doença clínica (Cap. 13). Em muitos pacientes, a afinidade da enzima mutante pelo fosfato piridoxal está reduzida, indicando que a conformação alterada da proteína prejudica a ligação do cofator.

Nem todos os casos de homocistinúria resultam de mutações na cistationina sintase. Mutações em cinco enzimas diferentes da cobalamina (vitamina B<sub>12</sub>) ou no metabolismo do folato também podem levar ao aumento dos níveis de homocisteína nos fluidos do corpo. Essas mutações prejudicam o fornecimento do cofator da vitamina B<sub>12</sub>, metilcobalamina (metil-B<sub>12</sub>), ou de metil-H<sub>4</sub>-folato (Fig. 12-8) e, portanto, representam um outro exemplo (como os defeitos na síntese de  $BH_4$  que levam à hiperfenilalaninemia) de doenças genéticas devido a defeitos da biogênese de cofatores de enzimas. A manifestação clínica desses distúrbios é variável, mas inclui anemia megaloblástica, atraso no desenvolvimento, e insuficiência de crescimento. Essas condições, todas as quais autossômicas recessivas, são muitas vezes parcial ou completamente tratáveis com doses elevadas de vitamina B<sub>12</sub>.

### Mutações de um Inibidor Enzimático: Deficiência de $\alpha_1$ -Antitripsina

A deficiência de  $\alpha_1$ -antitripsina ( $\alpha_1$ AT) é uma importante condição autossômica recessiva associada a um risco substancial para doença pulmonar obstrutiva crônica (enfisema) (Fig. 12-9) e cirrose hepática. A proteína  $\alpha_1$ AT pertence a uma grande

família de inibidores de proteases, os inibidores de protease da serina ou serpinas; *SERPINA1* é o nome formal do gene. Apesar da especificidade sugerida pelo seu nome, o  $\alpha_1$ AT na verdade inibe um amplo espectro de proteases, especialmente a elastase liberada por neutrófilos no trato respiratório inferior.



**FIGURA 12-9** O efeito do tabagismo na sobrevivência de pacientes com deficiência de  $\alpha_1$ -antitripsina. As curvas mostram a probabilidade cumulativa de sobrevivência para idades específicas de fumantes, com ou sem deficiência de  $\alpha_1$ -antitripsina. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

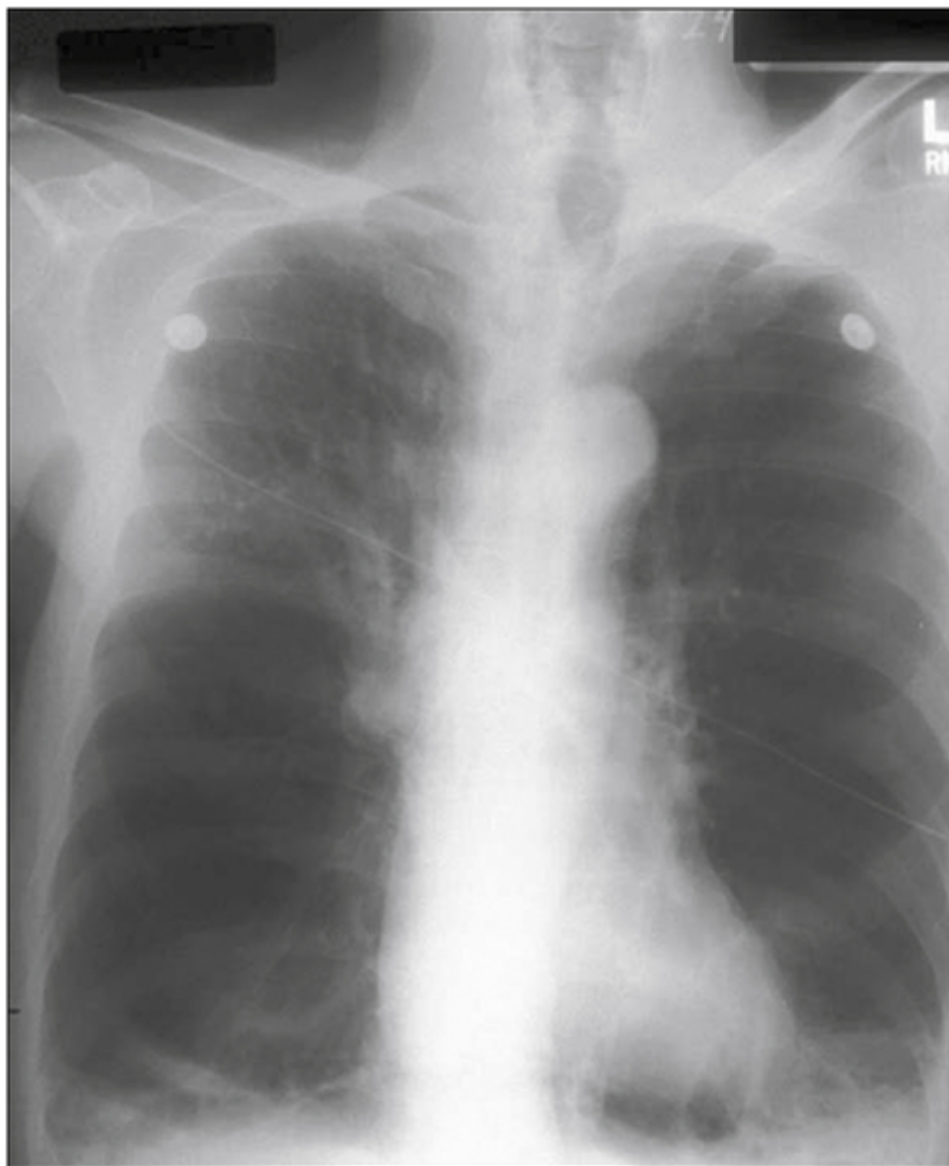
Em populações caucasianas, a deficiência de  $\alpha_1$ AT afeta aproximadamente uma em 6.700 pessoas, e aproximadamente 4% são portadoras. Cerca de uma dúzia de alelos  $\alpha_1$ AT está associada a um risco aumentado de doença pulmonar ou hepática, mas apenas o alelo Z (Glu342Lys) é relativamente comum. A razão para a frequência relativamente elevada do alelo Z em populações caucasianas é desconhecida, mas a análise de haplótipos de DNA sugere uma única origem com posterior disseminação em todo o norte da Europa. Dado o aumento do risco para enfisema, a deficiência de  $\alpha_1$ AT é um importante problema de saúde pública, afetando cerca de 60.000 pessoas apenas nos Estados Unidos.

O gene  $\alpha_1$ AT é expresso principalmente no fígado, o qual normalmente secreta  $\alpha_1$ AT no plasma. Aproximadamente 17% dos homocigotos Z/Z apresentam-se com icterícia neonatal, e cerca de 20% desse grupo desenvolve cirrose posteriormente. Acredita-se que a doença hepática associada ao alelo Z resulte de uma nova propriedade da proteína mutante — sua tendência de se agregar, aprisionando-se no retículo endoplasmático rugoso (RE) dos hepatócitos. A base molecular da agregação da proteína Z é uma consequência das alterações estruturais na proteína que predispõem à formação de longos colares semelhantes a pérolas de polímeros  $\alpha_1$ AT mutantes. Assim, tal como a mutação na  $\beta$ -globina da doença falciforme (Cap. 11), o alelo Z da  $\alpha_1$ AT é um exemplo claro de uma mutação que confere uma nova propriedade à proteína (em ambos os exemplos, uma tendência para se agregar) (Fig. 11-1).

Tanto a anemia falciforme quanto a deficiência de  $\alpha_1$ AT associada à homocigose para o alelo Z são exemplos de **doenças conformacionais** hereditárias. Esses distúrbios ocorrem quando uma mutação faz com que a forma ou o tamanho de uma proteína se altere de modo que predisponha à autoassociação e à deposição tecidual. Notavelmente, algumas frações da proteína mutante são invariavelmente dobradas corretamente nesses distúrbios, incluindo a deficiência de  $\alpha_1$ AT. Observe que nem todas as doenças conformacionais são distúrbios monogênicos, como ilustrado, por exemplo, pela doença de Alzheimer não familiar (discutida mais adiante), e as doenças priônicas.

A doença pulmonar associada ao alelo Z na deficiência de  $\alpha_1$ AT é devida à alteração do equilíbrio normal entre a elastase e o  $\alpha_1$ AT, a que permite a degradação progressiva da elastina das paredes alveolares (Fig. 12-10). Dois mecanismos contribuem para o desequilíbrio entre a elastase e o  $\alpha_1$ AT. Primeiro, o bloqueio na secreção hepática da proteína Z, embora não seja completo, é grave, e os pacientes Z/Z têm apenas cerca de 15% da concentração normal de  $\alpha_1$ AT no plasma. Segundo, a proteína Z tem apenas cerca de 20% da capacidade da proteína  $\alpha_1$ AT normal para inibir a elastase de neutrófilos. A infusão

de  $\alpha_1$ AT normal é utilizada em alguns pacientes para aumentar o nível de  $\alpha_1$ AT no plasma, para corrigir o desequilíbrio elastase: $\alpha_1$ AT. Atualmente, ainda é incerto se a progressão da doença pulmonar é retardada pelo aumento de  $\alpha_1$ AT.



**FIGURA 12-10** Uma radiografia de tórax anteroposterior de um indivíduo portador de dois alelos Z do gene  $\alpha_1$ AT, mostrando a hiperinflação e hiperlucência basal características de enfisema. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

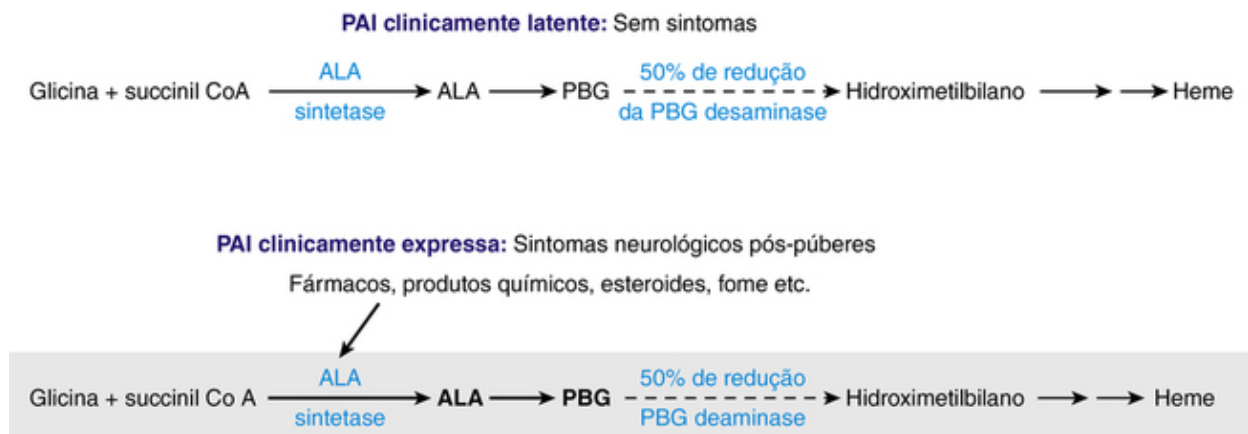
### Deficiência de $\alpha_1$ -Antitripsina como uma Doença Ecogenética

O desenvolvimento da doença pulmonar ou hepática em indivíduos com deficiência de  $\alpha_1$ AT é altamente variável, e embora ainda não tenham sido identificados genes modificadores, um importante fator ambiental, a fumaça de cigarro, influencia drasticamente na probabilidade de enfisema. O impacto do tabagismo sobre a progressão do enfisema é um poderoso exemplo do efeito que os fatores ambientais podem ter sobre o fenótipo de uma doença genética. Assim, para as pessoas com o genótipo Z/Z, a sobrevivência após os 60 anos de idade é de cerca de 60% em não fumantes, mas apenas de aproximadamente 10% em fumantes (Fig. 12-9). Uma explicação molecular para o efeito do tabagismo é que o local ativo da  $\alpha_1$ AT, na metionina 358, é oxidado tanto pelo fumo de cigarro quanto por células inflamatórias, reduzindo assim a sua afinidade pela elastase em 2.000 vezes.

O campo da **ecogenética**, ilustrado pela deficiência de  $\alpha_1$ AT, está preocupado com a interação entre fatores ambientais e diferentes genótipos humanos. Essa área da genética médica provavelmente terá uma importância crescente conforme são identificados os genótipos que implicam um risco aumentado de doença pela exposição a certos agentes ambientais (p. ex., fármacos, alimentos, produtos químicos industriais e vírus). Atualmente, a área mais desenvolvida da ecogenética é a **farmacogenética**, apresentada no [Capítulo 16](#).

### Desregulação de uma Via Biossintética: Porfiria Aguda Intermitente

A porfiria aguda **intermitente** (PAI) é uma doença autossômica dominante associada à disfunção neurológica intermitente. O defeito primário é uma deficiência de porfobilinogênio (PBG) desaminase, uma enzima na via biossintética do heme, necessária para a síntese da hemoglobina e das enzimas hepáticas citocromo p450 que metabolizam fármacos (Fig. 12-11). Todos os indivíduos com PAI têm uma redução de aproximadamente 50% na atividade enzimática da PBG desaminase, se a doença estiver clinicamente latente (90% dos pacientes ao longo do seu tempo de vida) ou clinicamente expressa (aproximadamente 10%). Essa redução é coerente com o padrão de herança autossômica dominante (Cap. 7). A deficiência em homozigose da PBG desaminase, uma enzima fundamental na biossíntese do heme, seria presumivelmente incompatível com a vida. A PAI ilustra um mecanismo molecular pelo qual uma doença autossômica dominante pode se manifestar apenas ocasionalmente.



**FIGURA 12-11** A patogênese da porfiria aguda intermitente (PAI). Pacientes com PAI que são clinicamente latentes ou clinicamente afetados têm cerca de metade dos níveis de porfobilinogênio (PBG) desaminase dos controles. Quando a atividade da ácido δ-aminolevulínico (ALA) sintase hepática está aumentada em portadores pela exposição a agentes indutores (p. ex., fármacos, produtos químicos), a síntese de ALA e PBG está aumentada. A atividade residual da PBG desaminase (aproximadamente 50% dos controles) está sobrecarregada, e o acúmulo de ALA e PBG causa a doença clínica. CoA, Coenzima A. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

A patogênese da doença do sistema nervoso é incerta, mas pode ser mediada diretamente pelos níveis aumentados de ácido δ-aminolevulínico (ALA) e PBG, que se acumulam devido à redução de 50% na PBG desaminase (Fig. 12-11). Os sistemas nervosos periférico, autônomo e central são afetados e as manifestações clínicas são diversas. De fato, esse distúrbio é uma das grandes simulações na medicina clínica, com manifestações que variam de dor abdominal aguda a psicose.

As crises clínicas na PAI são evocadas por uma variedade de fatores precipitantes: fármacos (mais proeminentemente os barbitúricos, e nessa medida, a PAI é uma **doença farmacogenética**, Cap. 18); alguns hormônios esteroides (a doença clínica é rara antes da puberdade ou depois da menopausa); e estados catabólicos, incluindo dietas de redução, doenças intercorrentes e cirurgia. Os fármacos provocam as manifestações clínicas através da interação com os receptores nucleares de detecção de medicamentos nos hepatócitos, que, em seguida, se ligam a elementos reguladores da transcrição do gene da ALA sintetase, aumentando a produção tanto de ALA quanto de PBG. Em indivíduos normais, o aumento relacionado com o fármaco na ALA sintetase é benéfico porque aumenta a síntese de heme, permitindo maior formação de enzimas hepáticas do citocromo P450 que metabolizam muitos medicamentos. Em doentes com PAI, no entanto, o aumento da ALA sintetase causa o acúmulo de ALA e PBG, devido à redução de 50% na atividade da PBG desaminase (Fig. 12-11). O fato de metade da atividade normal da PBG desaminase ser inadequada para lidar com o aumento da exigência para a síntese de heme, em algumas situações explica tanto a herança dominante da condição quanto a natureza episódica da doença clínica.

## Defeitos em proteínas receptoras

O reconhecimento de uma classe de doenças devido a defeitos em moléculas receptoras começou com a identificação feita por Goldstein e Brown do receptor da lipoproteína de baixa densidade (LDL, do inglês, *low-density lipoprotein*) como o polipeptídeo afetado na forma mais comum de hipercolesterolemia familiar. Esse distúrbio, que leva a um risco muito aumentado de infarto do miocárdio, é caracterizado por um aumento do colesterol do plasma transportado pela LDL, a principal proteína de transporte de colesterol no plasma. A descoberta de Goldstein e Brown esclareceu muito sobre o metabolismo normal do colesterol e sobre a biologia dos receptores de superfície celular em geral. A deficiência do receptor de LDL é representativa de vários distúrbios agora reconhecidos como resultantes de defeitos de receptor.

## Hipercolesterolemia Familiar: Uma Hiperlipidemia Genética

A hipercolesterolemia familiar pertence a um grupo de distúrbios metabólicos chamados de hiperlipoproteinemias. Essas doenças são caracterizadas por níveis elevados de lipídeos plasmáticos (colesterol, triglicérides ou ambos) transportados por lipoproteínas contendo apolipoproteína B (apoB). Outras hiperlipoproteinemias monogênicas, cada uma com fenótipos bioquímicos e clínicos distintos, também foram reconhecidas.

Além das mutações no gene do receptor de LDL (Tabela 12-2), anomalias em três outros genes também podem levar à hipercolesterolemia familiar (Fig. 12-12). Notavelmente, todos os quatro genes associados à hipercolesterolemia familiar alteram a função ou a abundância do receptor de LDL na superfície da célula ou da apoB, o principal componente proteico da LDL e um ligante para o receptor de LDL. Devido à sua importância, primeiramente revisaremos a hipercolesterolemia familiar devido a mutações no receptor da LDL. Também discutiremos as mutações no gene da protease PCSK9; embora as mutações de ganho de função neste gene causem hipercolesterolemia, a maior importância do PCSK9 reside no fato de que diversas variantes comuns de sequências de perda da função *reduzem* os níveis plasmáticos de colesterol LDL, conferindo *proteção* substancial contra doença cardíaca coronariana.

**Tabela 12-2**

**Quatro Genes Associados à Hipercolesterolemia Familiar**

Produto do Gene Mutante	Padrão de Herança	Efeito das Mutações que Causam Doença	Nível Típico de Colesterol LDL (Adultos Normais: ≈ 120 mg/dL)
Receptor de LDL	Autossômica dominante	Perda de função	Heterozigotos: 350 mg/dL Homozigotos: 700 mg/dL
Apoproteína B-100	Autossômica dominante*	Perda de função	Heterozigotos: 270 mg/dL Homozigotos: 320 mg/dL
Proteína adaptadora ARH	Autossômica recessiva†	Perda de função	Homozigotos: 470 mg/dL
PCSK9 protease	Autossômica dominante	Ganho de função	Heterozigotos: 225 mg/dL

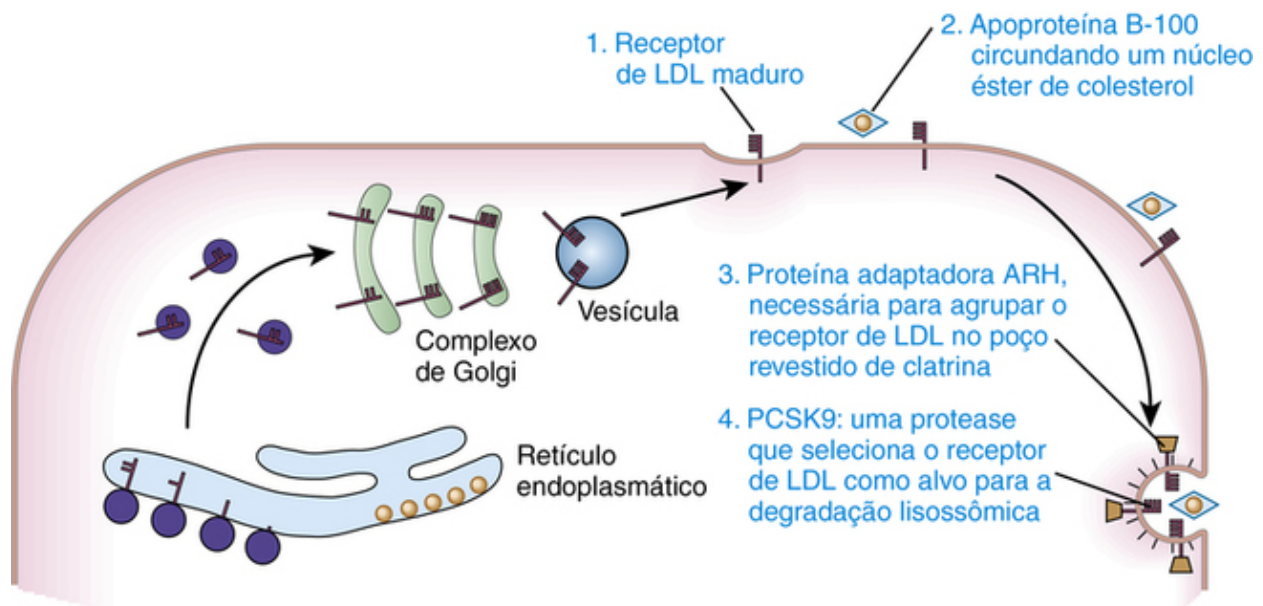
LDL, Lipoproteína de baixa densidade.

\*Principalmente em indivíduos de ascendência europeia.

†Principalmente em indivíduos de ascendência italiana e do oriente médio.

Parcialmente modificada de Goldstein JL, Brown MS: The cholesterol quartet. *Science* 292:1310–1312, 2001.





**FIGURA 12-12** As quatro proteínas associadas à hipercolesterolemia familiar.

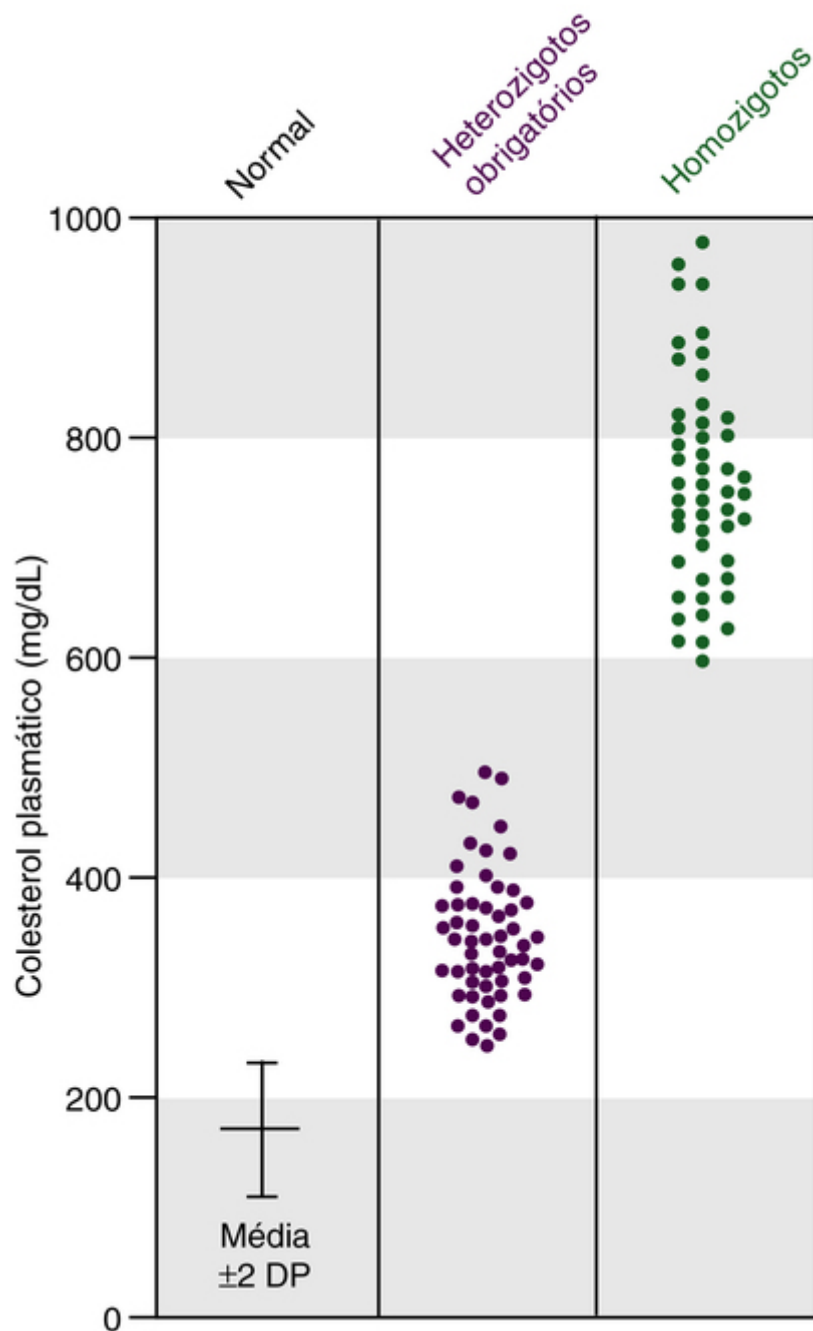
O receptor de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) se liga à apoproteína B-100. As mutações no domínio de ligação ao receptor de LDL da apoproteína B-100 impedem a ligação da LDL ao seu receptor, reduzindo a remoção do colesterol LDL da circulação. Agrupamentos do complexo receptor de LDL e apoproteína B-100 em poços revestidos por clatrina requerem a proteína adaptadora ARH, que liga o receptor à maquinaria de endocitose do poço revestido. Mutações homocigotas na proteína ARH prejudicam a internalização do complexo LDL:receptor de LDL, prejudicando assim a remoção do LDL. A atividade da protease PCSK9 seleciona os receptores de LDL como alvo para a degradação lisossômica, impedindo-os de se reciclarem de volta para a membrana plasmática (veja o texto).

### Hipercolesterolemia Familiar devido a Mutações no Receptor de LDL

Mutações no gene do receptor de LDL (*LDLR*) são as causas mais comuns de hipercolesterolemia familiar (**Caso 16**). O receptor é uma proteína da superfície celular responsável pela ligação da LDL e por entregá-la ao interior da célula. Concentrações plasmáticas elevadas de colesterol LDL levam à aterosclerose prematura (acúmulo de colesterol em macrófagos no espaço subendotelial de grandes artérias) e ao aumento do risco de ataque cardíaco e acidente vascular cerebral em ambos os portadores de alelos mutantes, heterocigotos e homocigotos não tratados. Estigmas físicos de hipercolesterolemia familiar incluem xantomas (depósitos de colesterol na pele e tendões) (**Caso 16**) e *arcus corneae* prematuros (depósitos de colesterol em torno da periferia da córnea). Poucas doenças têm sido tão minuciosamente caracterizadas; a sequência de eventos patológicos desde o *locus* afetado até o seu efeito nos indivíduos e populações tem sido meticulosamente documentada.

### Genética

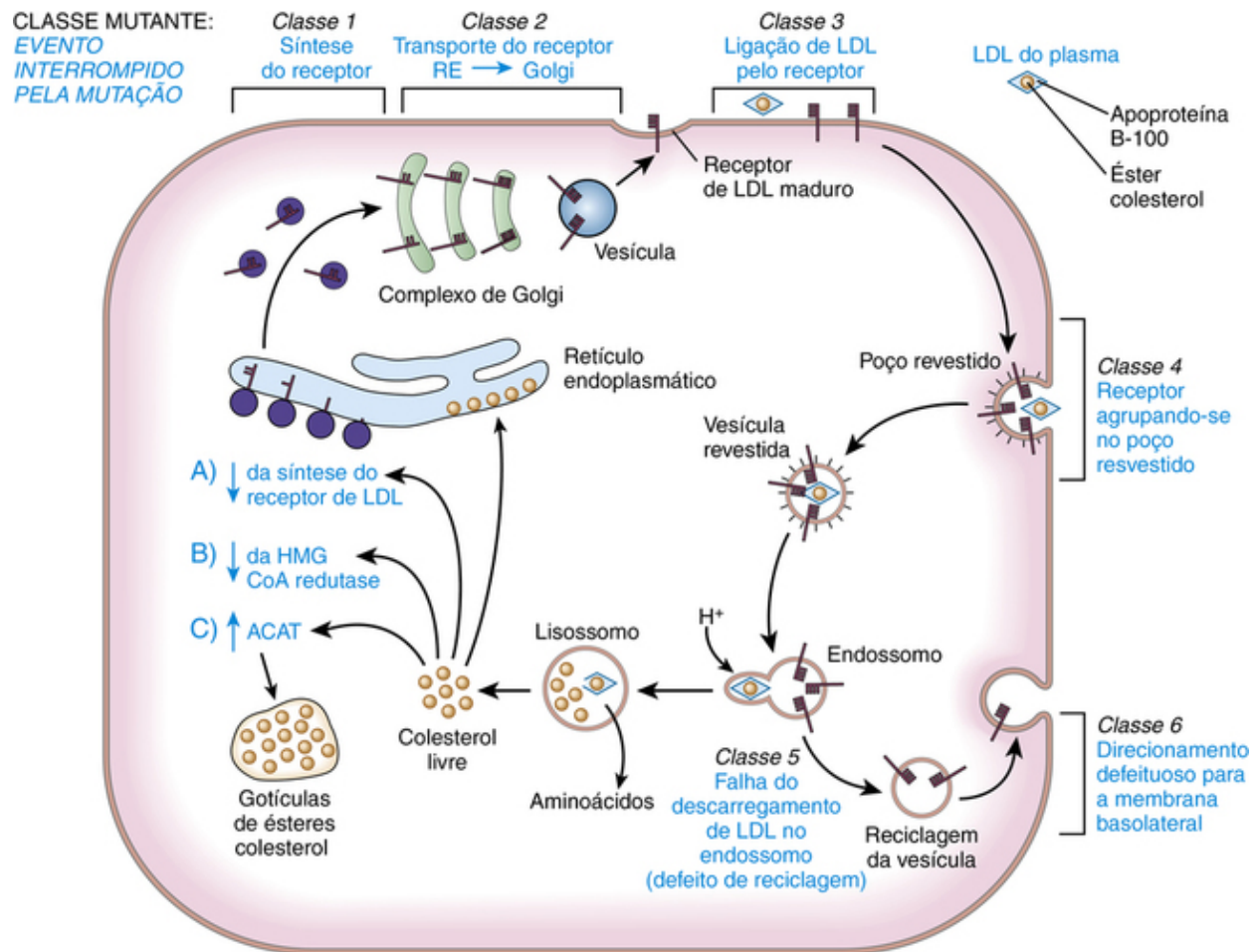
A hipercolesterolemia familiar decorrente de mutações no gene *LDLR* é herdada como uma característica autossômica semidominante. Ambos os fenótipos, homocigoto e heterocigoto, são conhecidos, e um claro efeito de dosagem gênica é evidente; a doença manifesta-se mais cedo e de forma muito mais severa em homocigotos do que em heterocigotos, refletindo a maior redução no número de receptores de LDL e a maior elevação do colesterol LDL no plasma (**Fig. 12-13**). Os homocigotos podem ter doença cardíaca coronariana clinicamente significativa na infância e, se não tratados, poucos vivem além da terceira década. A forma heterocigota da doença, com uma frequência populacional de aproximadamente dois para cada 1.000, é um dos distúrbios monogênicos mais comuns. Os heterocigotos têm níveis de colesterol plasmático que são aproximadamente o dobro dos controles (**Fig. 12-13**). Devido à natureza hereditária da hipercolesterolemia familiar, é importante fazer o diagnóstico nos cerca de 5% de sobreviventes de infarto do miocárdio precoce (< 50 anos de idade) que são heterocigotos para um defeito do receptor de LDL. É importante salientar, contudo, que entre aqueles na população geral com concentrações plasmáticas de colesterol acima do percentil 95 para idade e sexo, apenas um em cada 20 tem hipercolesterolemia familiar; a maioria desses indivíduos tem uma hipercolesterolemia não caracterizada, devido a múltiplas variantes genéticas comuns, conforme apresentado no **Capítulo 8**.



**FIGURA 12-13** Dosagem gênica na deficiência de lipoproteína de baixa densidade (LDL). É mostrada a distribuição dos níveis de colesterol plasmático total em 49 pacientes homocigotos para a deficiência do receptor de LDL, seus pais (heterocigotos obrigatórios) e os controles normais. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

### Captção de Colesterol pelo Receptor de LDL

As células normais obtêm colesterol a partir de síntese *de novo* ou pela captação a partir do plasma de colesterol exógeno ligado a lipoproteínas, especialmente de LDL. A maioria da captação de LDL é mediada pelo receptor de LDL, que reconhece a apoproteína B-100, a fração de proteína de LDL. Os receptores de LDL na superfície celular estão localizados em invaginações (depressões revestidas) delimitadas pela proteína clatrina (Fig. 12-14). A LDL ligada ao receptor é levada para dentro da célula pela endocitose das depressões revestidas, que por fim se expandem para lisossomos, nos quais a LDL é hidrolisada para libertar o colesterol livre. O aumento no colesterol intracelular livre reduz a formação de colesterol endógeno pela supressão da enzima limitante da velocidade da via sintética, a 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase. O colesterol desnecessário para o metabolismo celular ou para a síntese da membrana pode ser reesterificado para o armazenamento como ésteres de colesterol, um processo estimulado pela ativação de acil coenzima A:colesterol aciltransferase (ACAT). O aumento do colesterol intracelular também reduz a síntese do receptor de LDL (Fig. 12-14).



**FIGURA 12-14** A biologia celular e o papel bioquímico do receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e as seis classes de mutações que alteram a sua função.

Após a síntese no retículo endoplasmático (RE), o receptor é transportado para o aparelho de Golgi e, subsequentemente, para a superfície celular. Os receptores normais estão localizados em poços revestidos por clatrina, que se invaginam, criando vesículas revestidas e em seguida endossomas, os precursores dos lisossomos. Normalmente, o acúmulo intracelular de colesterol livre é impedido porque o aumento do colesterol livre (A) diminui a formação de receptores de LDL, (B) reduz a síntese *de novo* de colesterol, e (C) aumenta o armazenamento de ésteres de colesterol. O fenótipo bioquímico de cada classe de mutante é discutido no texto. ACAT, Acil-coenzima A:colesterol aciltransferase; HMG CoA redutase, 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

### Classes de Mutações no Receptor de LDL

Mais de 1.100 mutações diferentes foram identificadas no gene *LDLR*, e estas estão distribuídas por toda a sequência do gene e da proteína. Nem todas as mutações relatadas são funcionalmente significativas, e algumas atrapalham a função do receptor mais severamente do que outras. A grande maioria dos alelos é de substituições de um único nucleotídeo, pequenas inserções ou deleções; rearranjos estruturais representam apenas 2% a 10% dos alelos *LDLR* na maioria das populações. O receptor maduro da LDL tem cinco domínios estruturais distintos que geralmente têm funções distintas que medeiam as etapas no ciclo de vida de um receptor de LDL, mostrados na [Figura 12-14](#). A análise do efeito no receptor de mutações em cada domínio tem desempenhado um papel importante na definição da função de cada domínio. Esses estudos exemplificam a importante contribuição que a análise genética pode fazer na determinação das relações estrutura-função de uma proteína.

Fibroblastos cultivados de pacientes afetados têm sido usados para caracterizar os receptores mutantes e os distúrbios resultantes no metabolismo do colesterol celular. As mutações do *LDLR* podem ser agrupadas em seis classes, dependendo de qual etapa do itinerário celular normal do receptor é prejudicada pela mutação ([Fig. 12-14](#)).

- Mutações da classe 1 são *alelos nulos* que impedem a síntese de qualquer receptor detectável; elas são o tipo mais comum de mutações causadoras de doenças nesse *locus*. Nas cinco classes restantes, o receptor é sintetizado normalmente, mas a sua função está prejudicada.
- Mutações da classe 2 (como aquelas das classes 4 e 6) definem características do polipeptídeo críticas para a sua localização subcelular. As mutações relativamente comuns da classe 2 são designadas *deficientes de transporte* porque os receptores de LDL se acumulam no local da sua síntese, o RE, em vez de serem transportados para o complexo de Golgi. Supõe-se que estes alelos impeçam o dobramento apropriado da proteína, um aparente requisito para a saída do RE.
- Receptores mutantes da classe 3 atingem a superfície da célula, mas são *incapazes de se ligar à LDL*.

- Mutações da classe 4 *prejudicam a localização* do receptor na depressão revestida e, conseqüentemente, a LDL ligada não é internalizada. Essas mutações alteram ou removem o domínio citoplasmático na extremidade carboxiterminal do receptor, demonstrando que esta região normalmente orienta o receptor para a depressão revestida.
- Mutações da classe 5 são *alelos com defeito de reciclagem*. A reciclagem do receptor requer a dissociação do receptor e da LDL ligada no endossoma. As mutações no domínio de homologia do precursor do fator de crescimento epidérmico impedem a liberação do ligante de LDL. Essa falha leva à degradação do receptor, supostamente porque um receptor ocupado não pode retornar à superfície celular.
- Mutações de classe 6 levam à *identificação como alvo defeituosa* do receptor mutante para a membrana basolateral, um processo que depende de um sinal de triagem no domínio citoplasmático do receptor. Mutações que afetam o sinal podem perder a identificação do receptor mutante como alvo para a superfície apical das células hepáticas, prejudicando assim a reciclagem do receptor para a membrana basolateral e levando a uma redução global da endocitose do receptor de LDL.

### Protease PCSK9, um Alvo Potencial de Fármacos para Diminuir o Colesterol LDL

Casos raros de hipercolesterolemia familiar autossômica dominante têm sido encontrados resultando de mutações de sentido trocado de ganho de função no gene que codifica a protease PCSK9 (pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9). O papel da PCSK9 é marcar o receptor de LDL para a degradação lisossômica, reduzindo assim a abundância do receptor na superfície da célula (Fig. 12-12). Conseqüentemente, o aumento na atividade PCSK9 associado a mutações de ganho de função reduz os níveis do receptor de LDL na superfície celular abaixo do normal, levando ao aumento dos níveis sanguíneos de colesterol LDL e à doença cardíaca coronariana.

Por outro lado, as mutações de perda da função no gene *PCSK9* resultam num aumento do número de receptores de LDL na superfície da célula através da diminuição da atividade da protease. Mais receptores aumentam a captação celular de colesterol LDL, reduzindo o colesterol e fornecendo proteção contra a doença arterial coronariana. Notavelmente, a completa ausência de atividade PCSK9 nos poucos indivíduos conhecidos com dois alelos *PCSK9* nulos parece não ter conseqüências clínicas adversas.

### Algumas Variantes de Sequência PCSK9 Protegem contra Doenças Cardíacas Coronarianas

A ligação entre a hipercolesterolemia familiar monogênica e o gene *PCSK9* sugeriu que variantes de sequência comuns no *PCSK9* podem estar ligadas a níveis muito elevados ou muito baixos de colesterol LDL na população em geral. É importante ressaltar que diversas variantes de sequências *PCSK9* estão fortemente ligadas a baixos níveis de colesterol LDL no plasma (Tabela 12-3). Por exemplo, na população afro-americana, uma das duas variantes *PCSK9 nonsense* é encontrada em 2,6% de todos os indivíduos; cada variante está associada a uma redução média dos níveis de colesterol LDL de cerca de 40%. Essa redução nos níveis de colesterol LDL tem um poderoso efeito protetor contra a doença arterial coronariana, reduzindo o risco de cerca de 90%; apenas aproximadamente 1% dos indivíduos afro-americanos que carregam uma dessas duas variantes *PCSK9 nonsense* desenvolveu doença arterial coronariana ao longo de um período de 15 anos, em comparação com quase 10% dos indivíduos sem qualquer uma das variantes. Um alelo *missense* (Arg46Leu) é mais comum em populações caucasianas (3,2% dos indivíduos), mas parece conferir apenas uma redução de cerca de 50% na doença cardíaca coronariana. Esses resultados têm implicações importantes para a saúde pública, pois eles sugerem que reduções modestas, mas ao longo da vida, nos níveis de colesterol LDL do plasma de 20 a 40 mg/dL diminuiriam significativamente a incidência de doença cardíaca coronariana na população. O forte efeito protetor dos alelos *PCSK9* com perda de função, em conjunto com a aparente ausência de qualquer seqüela clínica em indivíduos com uma ausência total de atividade PCSK9, tem feito da *PCSK9* um alvo candidato forte para fármacos que inativam ou diminuem a atividade da enzima.

**Tabela 12-3**

#### Variantes *PCSK9* Associadas com Baixos Níveis de Colesterol LDL

Sequência Variante	Frequência na População	Nível de Colesterol LDL (Normal $\leq$ $\approx$ 100 mg/dL)	Impacto na Incidência de Doença Cardíaca Coronariana
Alelos nulos ou dominantes negativos	Compostos genéticos raros, um heterozigoto dominante negativo	7-16 mg/dL	Desconhecido, mas provavelmente reduz muito o risco
Tyr142Término ou Cys679Término	Heterozigotos afro-americanos: 2,6%	Média: 28% (38 mg/dL)	90% de redução
Arg46Leu	Heterozigotos caucasianos: 3,2%	Média: 15% (20 mg/dL)	50% de redução

LDL, Lipoproteína de baixa densidade.

Derivada de Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, Hobbs H: Sequence variants in *PCSK9*, low LDL, and protection against coronary heart disease, *N Engl J Med* 354:1264–1272, 2006.

Finalmente, essas descobertas enfatizam como a investigação de doenças genéticas raras pode levar a novos conhecimentos importantes sobre a contribuição genética para doenças comuns geneticamente complexas.

### Implicações Clínicas da Genética de Hipercolesterolemia Familiar

O diagnóstico precoce das hipercolesterolemias familiares é essencial não só para permitir a imediata aplicação de terapias para redução do colesterol e prevenção da doença arterial coronariana, como para iniciar a triagem genética de parentes de primeiro grau. Com a terapia medicamentosa adequada, heterozigotos para a hipercolesterolemia familiar têm uma expectativa de vida normal. Para homozigotos, o aparecimento da doença arterial coronariana pode ser extremamente atrasado pela aférese de plasma (que remove o plasma hipercolesterolêmico), mas acabará por necessitar de transplante de fígado.

Finalmente, a elucidação da base bioquímica da hipercolesterolemia familiar teve um profundo impacto sobre o tratamento das formas vastamente mais comuns de hipercolesterolemia esporádica, levando ao desenvolvimento da classe de medicamentos estatina, que inibe a biossíntese *de novo* do colesterol (Cap. 13). As terapias mais recentes incluem anticorpos monoclonais que têm como alvo diretamente a PCSK9, baixando o colesterol LDL em 60% adicionais em ensaios clínicos.

## Defeitos de transporte

### Fibrose Cística

Desde a década de 1960, a fibrose cística (FC) tem sido uma das doenças monogênicas humanas (**Caso 12**) mais visíveis ao público. É a doença genética autossômica recessiva fatal mais comum em crianças de populações caucasianas, com uma incidência de aproximadamente um em cada 2.500 nascimentos caucasianos (e, portanto, uma frequência portadora de aproximadamente um em 25), sendo muito menos prevalente em outros grupos étnicos, tais como afro-americanos (um em 15.000 nascimentos) e asiático-americanos (um em 31.000 nascimentos). O isolamento do gene da FC (chamado *CFTR*, para regulador transmembrana da FC, do inglês CF transmembrane regulator) (Cap. 10) mais de 25 anos atrás era uma das primeiras ilustrações do poder de abordagens genéticas moleculares e genômicas para identificar genes de doenças. Análises fisiológicas têm mostrado que a proteína CFTR é um canal de cloreto regulado, localizado na membrana apical das células epiteliais afetadas pela doença.

#### Os Fenótipos de Fibrose Cística

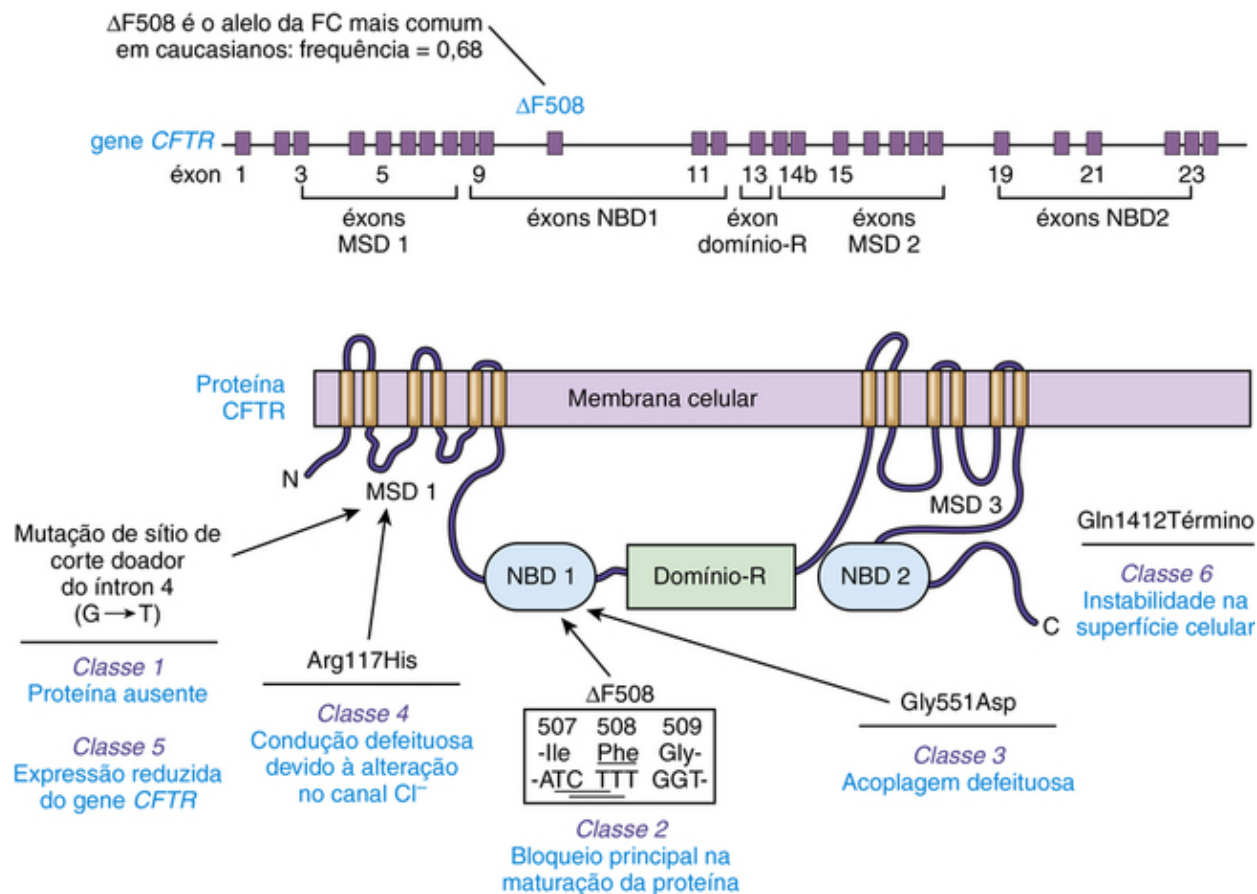
Os pulmões e o pâncreas exócrino são os principais órgãos afetados pela FC (**Caso 12**), mas um recurso de diagnóstico importante é o aumento das concentrações de sódio e cloro no suor (geralmente observado quando os pais beijam seus bebês). Na maioria dos pacientes com FC, o diagnóstico é inicialmente baseado nos achados clínicos pulmonares ou pancreáticos e num nível elevado de cloreto no suor. Menos de 2% dos pacientes têm concentração de cloreto no suor normal apesar de um quadro clínico típico; nesses casos, a análise molecular pode ser usada para verificar se eles têm mutações no gene *CFTR*.

O defeito pancreático na FC é uma síndrome de má digestão, devido à secreção deficiente de enzimas pancreáticas (lipase, tripsina, quimotripsina). Cerca de 5% a 10% dos pacientes com FC têm função pancreática exócrina residual suficiente para a digestão normal e são designados como *suficientes pancreáticos*. Além disso, os pacientes com FC que são suficientes pancreáticos têm melhores crescimento e prognóstico do que a maioria, que é *insuficiente pancreática*. A heterogeneidade clínica da doença pancreática é, pelo menos em parte, decorrente da heterogeneidade alélica, conforme discutido mais adiante.

Muitos outros fenótipos são observados em pacientes com FC. Por exemplo, a obstrução neonatal do trato intestinal inferior (**íleo meconial**) ocorre em 10% a 20% dos recém-nascidos com FC. O trato genital também é afetado; mulheres com FC têm alguma redução na fertilidade, porém mais de 95% dos homens com FC são inférteis porque lhes faltam os canais deferentes, um fenótipo conhecido como **ausência bilateral congênita dos canais deferentes (CBAVD)**. Em um exemplo marcante da heterogeneidade alélica que origina um fenótipo parcial, verificou-se que alguns homens inférteis que estão bem sob os demais aspectos (i.e., não têm nenhuma doença pulmonar ou pancreática) têm CBAVD associada a alelos mutantes específicos no gene *CFTR*. Da mesma forma, alguns indivíduos com **pancreatite crônica idiopática** são portadores de mutações no *CFTR*, embora sem outros sinais clínicos de FC.

#### O gene *CFTR* e a Proteína

O gene *CFTR* tem 27 éxons e abrange aproximadamente 190 kb de DNA. A proteína CFTR codifica uma grande proteína integral de membrana com cerca de 170 kD (Fig. 12-15). A proteína pertencente à chamada família ABC (do inglês ATP [trifosfato de adenosina] — binding cassette; cassete de ligação ao ATP) de proteínas de transporte. Pelo menos 22 transportadoras ABC têm sido implicadas em distúrbios mendelianos e fenótipos característicos complexos.



**FIGURA 12-15** A estrutura do gene *CFTR* e uma representação esquemática da proteína CFTR. Mutações selecionadas são mostradas. Os éxons, íntrons, e domínios da proteína não estão desenhados em escala. A  $\Delta F508$  resulta da deleção de TCT ou CTT, que substitui o códon Ile com ATT, e deleta o códon Phe. FC, fibrose cística; MSD, domínio que atravessa a membrana; NBD, domínio de ligação de nucleotídeo; Domínio-R, domínio regulatório. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

O canal de cloreto CFTR tem cinco domínios, mostrados na [Figura 12-15](#): dois domínios membranares, cada um com seis sequências transmembranares; dois domínios de ligação (ATP) de nucleotídeos; e um domínio regulador com múltiplos sítios de fosforilação. A importância de cada domínio é demonstrada pela identificação de mutações *missense* causando FC em cada um deles ([Fig. 12-15](#)). O poro do canal de cloreto é formado por 12 segmentos transmembranares. O ATP é ligado e hidrolisado pelos domínios de ligação de nucleotídeos, e a energia liberada é usada para abrir e fechar o canal. A regulação do canal é mediada, pelo menos em parte, pela fosforilação do domínio regulador.

### A Fisiopatologia da Fibrose Cística

A FC é decorrente de um transporte anormal de fluido e eletrólitos através das membranas apicais epiteliais. Essa anormalidade leva à doença no pulmão, pâncreas, intestino, árvore hepatobiliar e trato genital masculino. As anomalias fisiológicas têm sido mais claramente elucidadas para as glândulas sudoríparas. A perda da função de CFTR significa que o cloreto no ducto da glândula sudorípara não pode ser reabsorvido, levando à redução no gradiente eletroquímico que normalmente guia a entrada de sódio através da membrana apical. Esse defeito leva, por sua vez, a concentrações de cloreto e sódio aumentadas no suor. Os efeitos sobre o transporte de eletrólitos devido às alterações na proteína CFTR também foram cuidadosamente estudados no epitélio das vias aéreas e do pâncreas. No pulmão, a hiperabsorção de sódio e a secreção reduzida de cloreto resultam numa depleção de líquido da superfície das vias respiratórias. Conseqüentemente, a camada mucosa do pulmão pode se tornar aderente às superfícies celulares, desregulando a tosse e a depuração de muco dependente dos cílios e proporcionando um nicho favorável para a *Pseudomonas aeruginosa*, a principal causa de infecção pulmonar crônica na FC.

### A Genética da Fibrose Cística

#### Mutações no Polipeptídeo Regulador Transmembrana da Fibrose Cística

A mutação mais comum da FC é uma deleção de um resíduo de fenilalanina na posição 508 ( $\Delta F508$ ) na primeira dobra de ligação de ATP (NBD1; veja [Fig. 12-15](#)), sendo responsável por aproximadamente 70% de todos os alelos de FC em populações caucasianas. Nessas populações, apenas outras sete mutações são mais frequentes do que 0,5%, e as restantes são bastante raras. Mutações de todos os tipos foram identificadas, mas o maior grupo isolado (cerca da metade) é de substituições *missense*. O restante são mutações pontuais de outros tipos, e menos de 1% é de rearranjos genômicos. Embora

cerca de 2.000 variantes de sequências do gene *CFTR* tenham sido associadas à doença, o número real de mutações missense que são causadoras de doença é incerto, pois poucas foram submetidas à análise funcional. No entanto, um novo projeto chamado *Clinical and Functional Translation of CFTR* (projeto CFTR2; [cftr2.org](http://cftr2.org)) tem sido bem-sucedido em atribuir patogenicidade a mais de 125 mutações de *CFTR*, que juntas contribuem por pelo menos 96% de todos os alelos *CFTR* em todo o mundo.

Embora as alterações bioquímicas específicas associadas à maioria das mutações FC não sejam conhecidas, seis classes gerais de disfunções da proteína CFTR foram identificadas até o momento. Os alelos representativos de cada classe são mostrados na [Figura 12-15](#).

- Mutações de classe 1 são alelos nulos — nenhum polipeptídeo CFTR é produzido. Essa classe inclui os alelos com códons de término prematuros ou que geram RNAs altamente instáveis. Uma vez que a CFTR é uma proteína glicosilada de membrana, deve ser processada no retículo endoplasmático e no aparelho de Golgi para ser glicosilada e secretada.
- Mutações de classe 2 prejudicam a dobramento da proteína CFTR, impedindo assim a sua maturação. O  $\Delta F508$  mutante exemplifica essa classe; essa proteína mal dobrada não pode sair do retículo endoplasmático. Contudo, o fenótipo bioquímico da proteína  $\Delta F508$  é complexo, pois também apresenta defeitos de estabilidade e ativação, além do dobramento prejudicado.
- Mutações de classe 3 permitem a distribuição normal da proteína CFTR à superfície da célula, mas interrompem a sua função ([Fig. 12-15](#)). O principal exemplo é a mutação Gly551Asp, que impede a abertura e o fechamento do canal de íons da CFTR na superfície da célula. Essa mutação é particularmente notável porque, embora constitua apenas aproximadamente 2% dos alelos de *CFTR*, o fármaco ivacaftor tem mostrado ser extremamente eficaz na correção da função da proteína mutante Gly551Asp na superfície celular, resultando em melhora fisiológica e clínica ([Cap. 13](#)).
- Mutações de classe 4 estão localizadas nos domínios de membrana e, de acordo com esta localização, têm condução defeituosa de íons cloreto.
- Mutações de classe 5 reduzem o número de transcritos de *CFTR*.
- Proteínas mutantes de classe 6 são sintetizadas normalmente, mas são instáveis na superfície celular.

### Genocópia da Fibrose Cística: Mutações no Gene do Canal de Sódio Epitelial *SCNN1*

Embora o *CFTR* seja o único gene que tem sido associado à FC clássica, várias famílias com apresentações não clássicas (incluindo infecções pulmonares semelhantes à FC, doença intestinal menos grave, níveis elevados de cloro no suor) foram encontradas carregando mutações no gene *SCNN1* do canal de sódio epitelial, o que é então denominado de **genocópia**, isto é, um fenótipo que, embora geneticamente distinto, tem um fenótipo muito estreitamente relacionado. Essa constatação é consistente com a interação funcional entre a proteína CFTR e o canal de sódio epitelial. Seu principal significado clínico, atualmente, é a demonstração de que os pacientes com a FC não clássica apresentam heterogeneidade de *locus*, e que se as mutações *CFTR* não forem identificadas em um caso em particular, anormalidades no *SCNN1* devem ser consideradas.

### Correlações Genótipo-Fenótipo na Fibrose Cística

Uma vez que todos os pacientes com a forma clássica da FC parecem ter mutações no gene *CFTR*, a heterogeneidade clínica na FC deve resultar de heterogeneidade alélica, a partir dos efeitos de outros *loci* modificadores, ou de fatores não genéticos. Independentemente dos alelos *CFTR* que um paciente particular possa ter, tem sido reconhecida uma contribuição genética significativa de outros genes (modificadores) para vários fenótipos da FC, com efeitos sobre a função pulmonar, a obstrução intestinal neonatal, e o diabetes.

Duas generalizações surgiram a partir da análise genética e clínica dos pacientes com FC. Em primeiro lugar, o genótipo *CFTR* específico é um *bom* preditor da função pancreática exócrina. Por exemplo, pacientes homocigotos para a mutação comum  $\Delta F508$  ou para alelos nulos previstos geralmente têm insuficiência pancreática. Por outro lado, os alelos que permitem a síntese de uma proteína CFTR parcialmente funcional, tal como a Arg117His ([Fig. 12-15](#)), tendem a estar associados à suficiência pancreática.

Em segundo lugar, no entanto, o genótipo *CFTR* específico é um *mau* indicador da gravidade da doença pulmonar. Por exemplo, entre os pacientes homocigóticos para a mutação  $\Delta F508$ , a gravidade da doença pulmonar é variável. Uma razão para essa correlação genótipo-fenótipo ruim é a variação hereditária no gene que codifica o fator transformador de crescimento- $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), também discutido no [Capítulo 8](#). No geral, as evidências indicam que os alelos *TGF $\beta$ 1* que aumentam a expressão de TGF- $\beta 1$  levam à doença pulmonar mais grave da FC, talvez pela modulação da remodelação do tecido e das respostas inflamatórias. Outros modificadores genéticos de doença pulmonar da FC, incluindo os alelos do gene do regulador do desenvolvimento relacionado ao interferon 1 (*IFRD1*) e o gene da interleucina-8 (*IL-8*), podem atuar influenciando a capacidade do pulmão com FC para tolerar a infecção. De modo semelhante, alguns genes modificadores têm sido identificados para outros fenótipos relacionados à FC, incluindo diabetes, doença hepática e íleo meconial.

### O Gene da Fibrose Cística nas Populações

Atualmente, não é possível explicar a alta frequência do alelo mutante de *CFTR* de um em 50 que é observada em populações caucasianas ([Cap. 9](#)). A doença é muito menos frequente em não caucasianos, embora tenha sido relatada em nativos americanos, afro-americanos e asiáticos (p. ex., cerca de um em 90.000 havaianos de ascendência asiática). O alelo  $\Delta F508$  é o

único encontrado até hoje que é comum em praticamente todas as populações caucasianas, mas a sua frequência entre todos os alelos mutantes varia significativamente em diferentes populações europeias, desde 88% na Dinamarca até 45% no sul da Itália.

Em populações em que a frequência do alelo  $\Delta F508$  é de aproximadamente 70% de todos os alelos mutantes, aproximadamente 50% dos pacientes são homocigotos para o alelo  $\Delta F508$ ; e os 40% adicionais são compostos genéticos para  $\Delta F508$  e outro alelo mutante. Além disso, aproximadamente 70% dos portadores de FC têm a mutação  $\Delta F508$ . Como observado anteriormente, exceto para  $\Delta F508$ , outras mutações no *locus CFTR* são raras, embora em populações específicas, alguns alelos sejam relativamente comuns.

### Triagem Populacional

As complexas questões levantadas ao se considerar a triagem populacional para doenças como FC são discutidas no [Capítulo 18](#). Atualmente, a FC atende à maioria dos critérios para um programa de triagem neonatal, exceto que ainda não está claro se a identificação precoce das crianças afetadas melhora significativamente o prognóstico em longo prazo. No entanto, as vantagens do diagnóstico precoce (como a melhoria da nutrição pelo fornecimento de enzimas pancreáticas) levaram algumas jurisdições a implementar programas de triagem neonatal. Em geral, é aceito que a triagem universal para portadores não deve ser considerada até que pelo menos 90% das mutações numa população possam ser detectadas. Apesar de a triagem populacional para casais estar em curso nos Estados Unidos há vários anos, a sensibilidade da triagem de portadores para FC só ultrapassou 90% recentemente.

### Análise Genética de Famílias de Pacientes e Diagnóstico Pré-natal

A alta frequência do alelo  $\Delta F508$  é útil quando os pacientes com FC sem história familiar se apresentam para um diagnóstico de DNA. A identificação do alelo  $\Delta F508$ , em combinação com um painel de 127 mutações comuns sugeridas pelo *American College of Medical Genetics*, pode ser utilizada para prever o estado dos membros da família para confirmação da doença (p. ex., em um recém-nascido ou um irmão com uma apresentação ambígua), a detecção de portadores e o diagnóstico pré-natal. Dado o vasto conhecimento sobre as mutações da FC em muitas populações, a detecção direta da mutação é o método de escolha para a análise genética. No entanto, se a ligação é utilizada na ausência de conhecimento sobre uma mutação específica, é possível um diagnóstico preciso em praticamente todas as famílias. Para fetos com um risco de um em quatro, o método de escolha é o diagnóstico pré-natal por análise de DNA entre 10 a 12 semanas, com o tecido obtido por biópsia de vilosidades coriônicas ([Cap. 17](#)).

### Genética Molecular e o Tratamento da Fibrose Cística

Em termos históricos, o tratamento de FC tem sido dirigido para o controle da infecção pulmonar e a melhoria da nutrição. O maior conhecimento sobre a patogênese molecular tornou possível projetar intervenções farmacológicas, incluindo o fármaco ivacaftor, que modula a função da CFTR em alguns pacientes ([Cap. 13](#)). Alternativamente, a terapia de transferência gênica pode ser possível na FC, mas existem muitas dificuldades.

## Distúrbios de proteínas estruturais

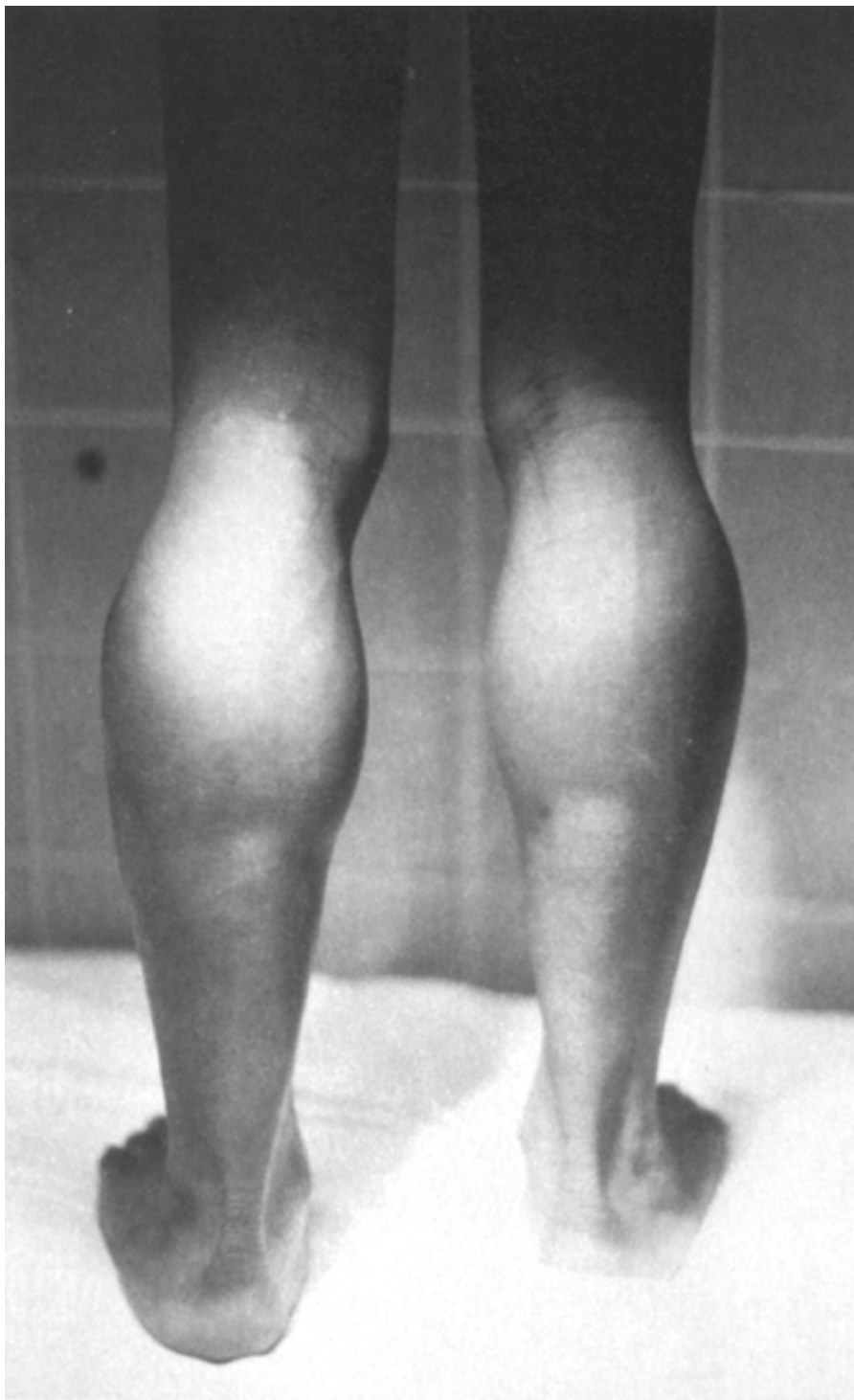
### Complexo Distrofina-Glicoproteína: Distrofias Musculares de Duchenne, Becker e Outras

Como a FC, a **distrofia muscular de Duchenne (DMD)** tem recebido atenção da comunidade geral e médica por ser uma doença de perda muscular relativamente comum, severa e progressiva, com grande deterioração clínica ([Caso 14](#)). O isolamento do gene afetado nesse distúrbio ligado ao X e a caracterização de sua proteína (chamada distrofina por causa da sua associação à DMD) deram informações sobre todos os aspectos da doença, melhoraram muito o aconselhamento genético das famílias afetadas, e sugeriram estratégias para o tratamento. O estudo da distrofina levou à identificação de um complexo principal de outras proteínas musculares de membrana associadas à distrofia muscular, o complexo de distrofina-glicoproteína (DGC), descrito mais adiante nesta seção.

#### O Fenótipo Clínico da Distrofia Muscular de Duchenne

Meninos afetados são normais no primeiro ou nos dois primeiros anos de vida, mas desenvolvem uma fraqueza muscular no período de 3 a 5 anos de idade ([Fig. 12-16](#)), quando eles começam a ter dificuldade para subir escadas e se levantar da posição sentada. A criança fica normalmente confinada a uma cadeira de rodas aos 12 anos de idade. Embora a DMD seja atualmente incurável, os avanços recentes no tratamento das complicações pulmonares e cardíacas (que eram as principais causas de morte em meninos com DMD) têm mudado a doença de um distúrbio que limita a vida para um que ameaça à vida. Nos estágios pré-clínicos e iniciais da doença, o nível sérico de creatina quinase é muito elevado (50 a 100 vezes o limite superior do normal) por causa de sua liberação pelo músculo doente. O cérebro também é afetado; em média, há uma diminuição moderada do QI de cerca de 20 pontos.

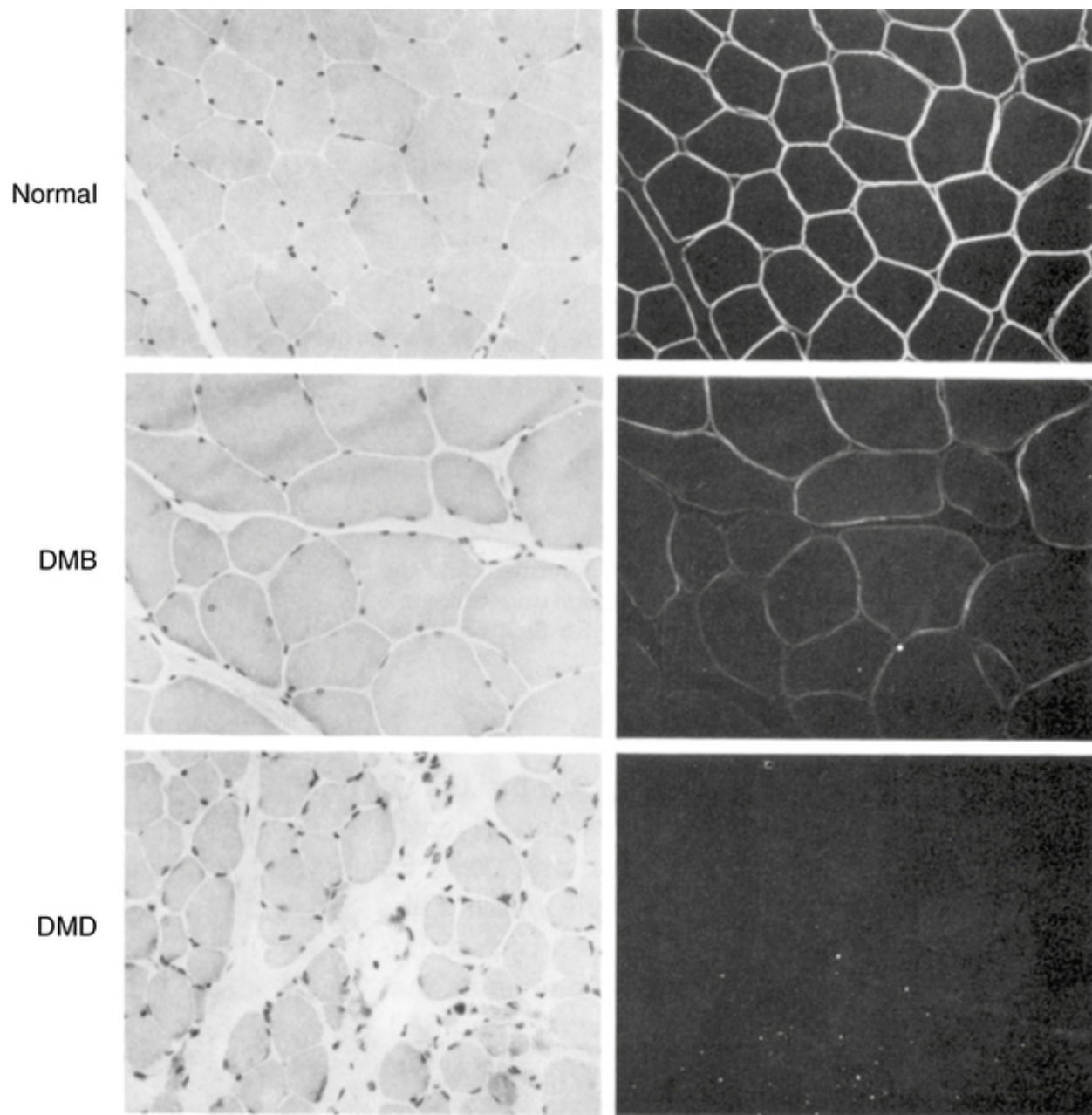




**FIGURA 12-16** Pseudo-hipertrofia das panturrilhas devido à substituição do tecido muscular normal por tecido conjuntivo e gordura em um menino de 8 anos de idade com distrofia muscular de Duchenne. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

#### **O Fenótipo Clínico da Distrofia Muscular de Becker**

A distrofia muscular de Becker (DMB) também é decorrente de mutações no gene da distrofina, mas os alelos *DMB* produzem um fenótipo muito mais brando. Diz-se que os pacientes têm DMB se eles ainda estiverem andando aos 16 anos de idade. Existe uma variabilidade significativa na progressão da doença, e alguns pacientes permanecem capazes de andar durante muitos anos. Em geral, os pacientes com DMB portam alelos mutantes que mantêm a matriz de leitura da proteína, e assim, expressam algumas distrofina, embora muitas vezes um produto alterado em níveis reduzidos. A distrofina é geralmente demonstrável no músculo dos pacientes com a DMB (Fig. 12-17). Em contraste, os pacientes com DMD têm pouca ou nenhuma distrofina detectável.



**FIGURA 12-17** Visualização microscópica do efeito de mutações no gene da distrofina em um paciente com distrofia muscular de Becker (DMB) e um paciente com distrofia muscular de Duchenne (DMD). *Coluna da esquerda*, coloração do músculo pela hematoxilina e eosina. *Coluna da direita*, Microscopia de imunofluorescência marcada com um anticorpo específico para distrofina. Observe a localização da distrofina na membrana de miócitos no músculo normal, a quantidade reduzida de distrofina no músculo com DMB, e a completa ausência de distrofina dos miócitos do músculo com DMD. A quantidade de tecido conjuntivo entre os miócitos do músculo com DMD está aumentada. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

## A Genética da Distrofia Muscular de Duchenne e Distrofia Muscular de Becker

### Herança

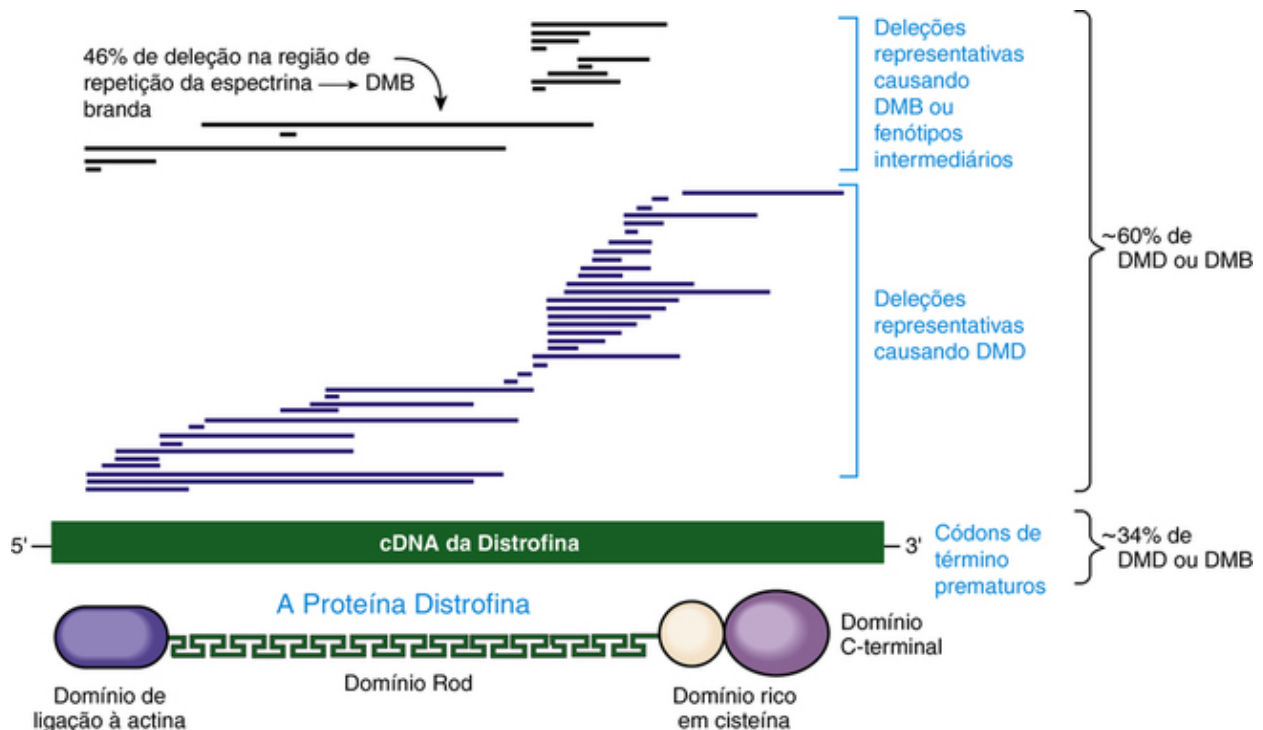
A DMD tem uma incidência de aproximadamente 1 em 3.300 nativos do sexo masculino, com uma taxa de mutação calculada em  $10^{-4}$ , uma ordem de grandeza maior do que a taxa observada em genes envolvidos na maioria das outras doenças genéticas (Cap. 4). De fato, considerando-se uma produção de aproximadamente  $8 \times 10^7$  de espermatozoides por dia, um homem normal produz um espermatozoide com uma mutação nova no gene *DMD* a cada 10 a 11 segundos! No Capítulo 7, a DMD foi apresentada como um típico distúrbio recessivo ligado ao X que é letal nos homens, de modo que se prevê que um terço dos casos seja de mutações novas e que dois terços dos pacientes tenham mães portadoras (Cap. 16). A grande maioria das mulheres portadoras não tem manifestações clínicas, embora cerca de 70% tenham níveis ligeiramente elevados de creatina quinase sérica. De acordo com a inativação aleatória do cromossomo X (Cap. 6), no entanto, o cromossomo X que carrega o alelo *DMD* normal parece ser inativado acima de um limiar crítico das células em algumas mulheres heterozigotas. Quase 20% das mulheres portadoras adultas têm alguma fraqueza muscular, enquanto em 8% ocorrem cardiomiopatia com risco de morte e grave deficiência muscular proximal. Em casos raros, mulheres com DMD

foram descritas. Algumas possuem translocações entre o cromossomo X e autossomos (Cap. 6), enquanto outras têm apenas um cromossomo X (síndrome de Turner) com uma mutação *DMD* nesse cromossomo.

A DMB é responsável por aproximadamente 15% das mutações no *locus*. Uma importante distinção genética entre estes fenótipos alélicos é que, enquanto a DMD é um letal genético, a aptidão reprodutiva dos homens com DMB é alta (até cerca de 70% do normal), de modo que eles podem transmitir o gene mutante para suas filhas. Consequentemente, e em contraste com a DMD, uma proporção elevada de casos de DMB é herdada, e relativamente poucos (apenas cerca de 10%) representam mutações novas.

### O Gene *DMD* e seu produto

A característica mais marcante do gene *DMD* é o seu tamanho, estimado em 2.300 kb, ou 1,5% da totalidade do cromossomo X. Esse gene enorme está entre os maiores conhecidos em qualquer espécie, em ordem de magnitude. A alta taxa mutacional pode ser pelo menos parcialmente explicada pelo fato de o *locus* ser um alvo grande para a mutação, mas, como descrito mais adiante, também é estruturalmente propenso a deleções e duplicações. O gene *DMD* é complexo, com 79 éxons e sete promotores tecido-específicos. No músculo, o grande transcrito de distrofina (14 kb) codifica uma enorme proteína de 427 kD (Fig. 12-18). De acordo com o fenótipo clínico, a proteína é mais abundante nos músculos esquelético e cardíaco, embora muitos tecidos expressem pelo menos uma isoforma de distrofina.

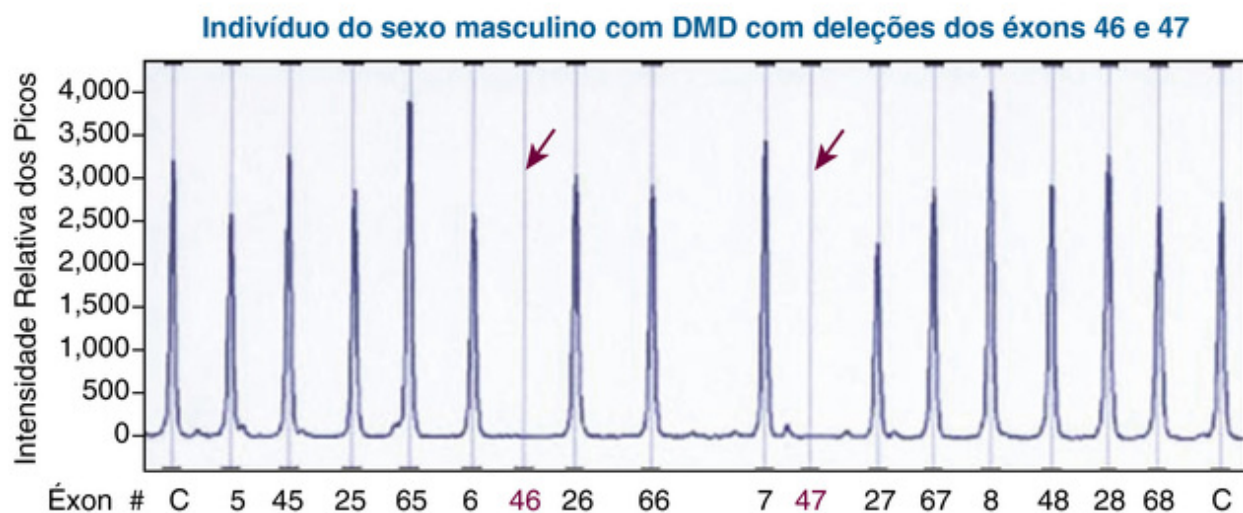
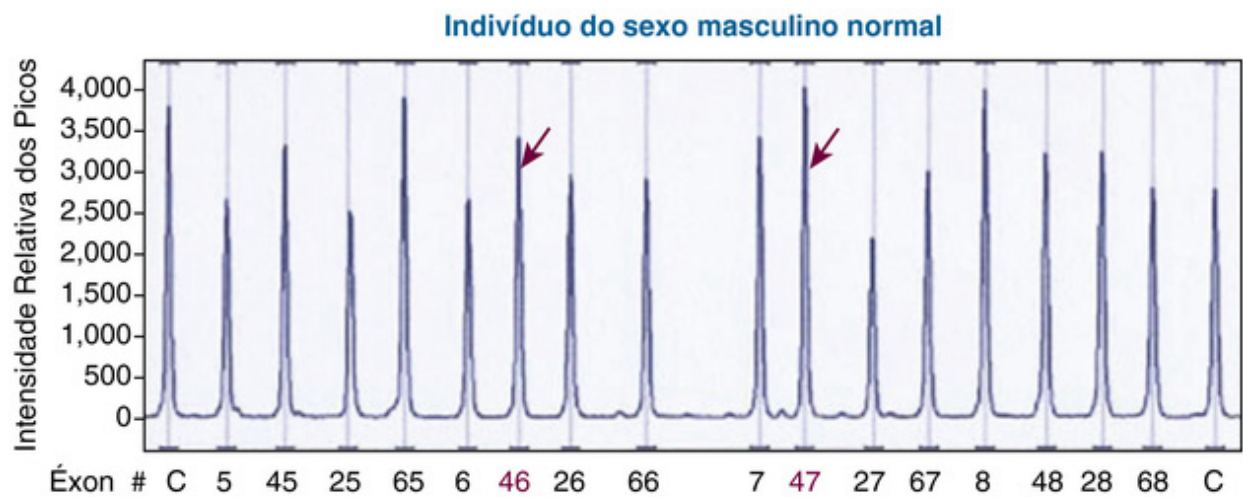


**FIGURA 12-18** Uma representação da proteína distrofina de comprimento completo, o cDNA correspondente e a distribuição de deleções representativas em pacientes com distrofia muscular de Becker (DMB) e distrofia muscular de Duchenne (DMD).

Duplicações parciais do gene (não mostradas) são responsáveis por cerca de 6% dos alelos de DMD ou DMB. O domínio de ligação da actina liga a proteína ao citoesqueleto filamentoso de actina. O domínio Rod presumivelmente atua como um espaçador entre os domínios N-terminal e C-terminal. O domínio rico em cisteína medeia interações proteína-proteína. O domínio C-terminal, que se associa com um grande complexo de glicoproteína transmembrana (Fig 12-19), é também encontrado em três proteínas relacionadas à distrofina (DRPs): utrofina (DRP-1), DRP-2, e distrobrevina. Os domínios proteicos não estão desenhados em escala.

### Os Defeitos Moleculares e Fisiológicos na Distrofia Muscular de Becker e na Distrofia Muscular de Duchenne

Os defeitos moleculares mais comuns em pacientes com a DMD são deleções (60% dos alelos) (Figs. 12-18 e 12-19), que não estão distribuídas de forma aleatória. Em vez disso, elas estão agrupadas tanto na metade 5' do gene ou numa região central que compreende um aparente ponto quente (*hot spot*) de deleção (Fig 12-18). O mecanismo de deleção na região central é desconhecido, mas parece envolver a estrutura terciária do genoma e, em alguns casos, a recombinação entre sequências de repetição *Alu* (Cap. 2) em grandes íntrons centrais. As mutações pontuais contribuem com aproximadamente um terço dos alelos e são distribuídas aleatoriamente ao longo do gene.

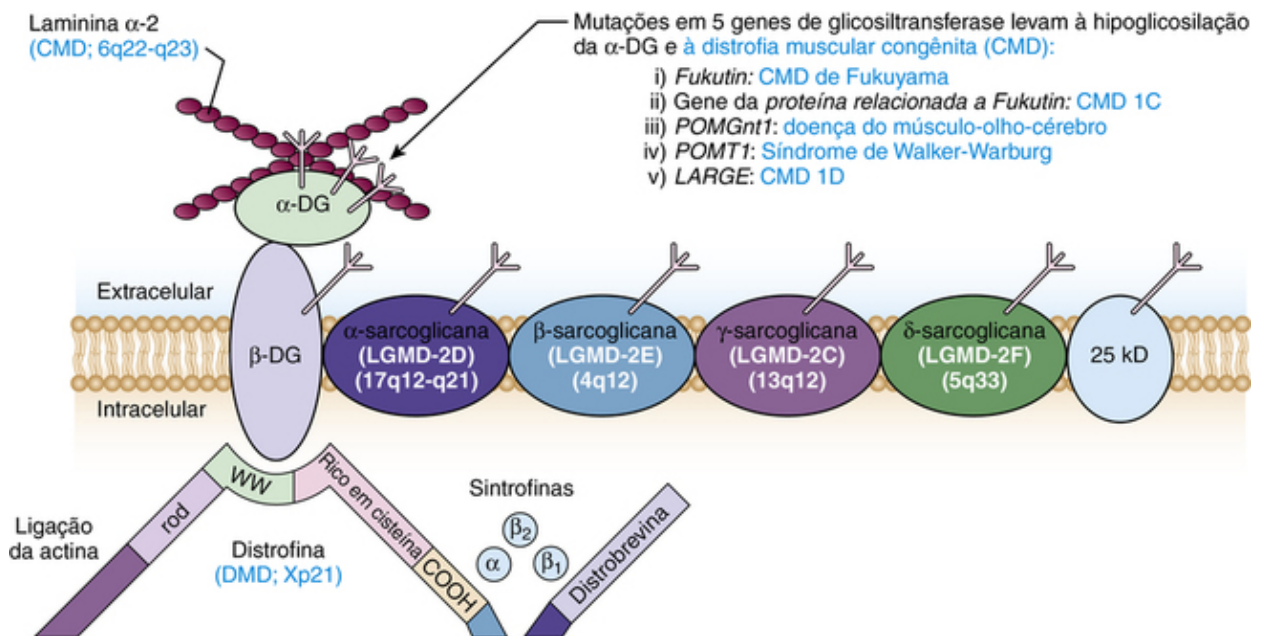


**FIGURA 12-19** O diagnóstico da distrofia muscular de Duchenne (DMD) envolve a triagem para deleções e duplicações por um procedimento chamado de amplificação multiplex de sondas dependente de ligação (MLPA). A MLPA permite a análise simultânea de todos os 79 éxons do gene *DMD* em uma única amostra de DNA e pode detectar deleções e duplicações exônicas em indivíduos dos sexos masculino e feminino. Cada pico de amplificação representa um único éxon do gene *DMD*, após a separação dos produtos da amplificação por eletroforese capilar. *Painel superior*, Perfil de amplificação de 16 éxons de uma amostra masculina normal. DNAs-controle (C) estão incluídos em cada extremidade da digitalização. Os fragmentos de DNA da MLPA eluem de acordo com o tamanho, razão pela qual os éxons não estão numerados sequencialmente. *Painel inferior*, Perfil de amplificação correspondente de um paciente com DMD com uma deleção dos éxons 46 e 47. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

A ausência de distrofina na DMD desestabiliza a membrana da miofibrila, aumentando a sua fragilidade e permitindo o aumento da entrada de  $\text{Ca}^{++}$  na célula, com a subsequente ativação de vias inflamatórias e degenerativas. Além disso, a degeneração crônica das miofibrilas eventualmente esgota o conjunto de células-tronco miogênicas que são normalmente ativadas para regenerar o músculo. Essa redução da capacidade regenerativa, eventualmente, leva à substituição do músculo com gordura e tecido fibrótico.

### O Complexo Distrofina-Glicoproteína (DGC)

A distrofina é uma proteína estrutural que ancora o DGC na membrana celular. O DGC é uma verdadeira constelação de polipeptídeos associados a uma dúzia de distrofias musculares geneticamente distintas (Fig. 12-20). Esse complexo apresenta várias funções importantes. Em primeiro lugar, pensa-se ser essencial para a manutenção da integridade da membrana muscular, através da ligação do citoesqueleto de actina à matriz extracelular. Em segundo, é necessário para posicionar as proteínas no complexo no sarcolema. Embora a função de muitas das proteínas no complexo seja desconhecida, a sua associação com doenças musculares indica que elas são componentes essenciais do complexo. Mutações em várias dessas proteínas causam distrofias musculares autossômicas recessivas do tipo cintura e outras distrofias musculares congênitas (Fig. 12-20).



**FIGURA 12-20** No músculo, a distrofina liga a matriz extracelular (laminina) ao citoesqueleto de actina. A distrofina interage com um complexo multimérico composto por distroglicanas (DG), sarcoglicanas, sintrofinas, e distrobrevina. O complexo  $\alpha,\beta$ - distroglicana é um receptor de laminina e agrina na matriz extracelular. A função do complexo sarcoglicana é incerta, mas é essencial para a função do músculo; mutações nas sarcoglicanas foram identificadas nas distrofias musculares tipo cinturas (LGMDs) tipos 2C, 2D, 2E e 2F. As mutações na laminina tipo 2 (merosina) causam uma distrofia muscular congênita (CMD). As estruturas ramificadas representam glicanas. O domínio WW de distrofina é um motivo de ligação proteína, rico em triptofano.

O fato de cada componente de DGC ser afetado por mutações que causam outros tipos de distrofias musculares destaca o princípio de que nenhuma proteína funciona isoladamente, mas é, sim, um componente de uma via biológica ou de um complexo multiproteico. Mutações nos genes que codificam outros componentes de uma via ou complexo muitas vezes levam a genocópias, como vimos anteriormente, no caso da FC.

### Modificação Pós-traducional do Complexo Distrofina-Glicoproteína

Cinco das distrofias musculares associadas à DGC resultam de mutações em glicosiltransferases, levando à hipoglicosilação da  $\alpha$ -distroglicana (Fig. 12-20). Essas cinco proteínas são necessárias para a modificação pós-traducional de outro polipeptídeo, atestando a natureza essencial da glicosilação para a função da  $\alpha$ -distroglicana em particular, porém, de forma mais geral, para a importância das modificações pós-traducionais para a função normal da maioria das proteínas.

### Aplicações Clínicas do Teste Genético na Distrofia Muscular

#### Diagnóstico Pré-natal e Detecção de Portadores

Com as tecnologias moleculares, a detecção precisa de portadores e o diagnóstico pré-natal estão disponíveis para a maioria das famílias com história de DMD. Em 60% a 70% das famílias, nas quais a mutação resulta de uma deleção ou duplicação, a presença ou ausência do defeito pode ser avaliada por exame de DNA fetal usando métodos que avaliam a continuidade e o tamanho genômico do gene (Fig. 12-19). Na maioria das outras famílias, mutações pontuais podem ser identificadas por sequenciamento da região codificante e dos limites íntron-éxon. Uma vez que a doença tem uma frequência muito alta de mutações novas e não se manifesta em mulheres portadoras, aproximadamente 80% dos meninos com Duchenne nascem em famílias sem história prévia de doença (Cap. 7). Assim, a incidência de DMD não irá diminuir substancialmente até que a triagem universal pré-natal ou pré-concepção para a doença seja possível.

#### Mosaicismo Materno

Se um menino com DMD é o primeiro membro afetado de sua família, e se sua mãe não é portadora da mutação nos seus linfócitos, a explicação mais comum é que ele tem uma mutação nova no *locus DMD*. No entanto, cerca de 5% a 15% de tais casos parecem ser decorrentes de mosaicismo na linhagem germinativa materna, e neste caso o risco de recorrência é significativo (Cap. 7).

#### Terapia

Atualmente, apenas o tratamento sintomático está disponível para a DMD. As possibilidades de terapia racional para a DMD aumentaram substancialmente com a compreensão do papel normal da distrofina no miócito. Algumas das considerações terapêuticas são discutidas no Capítulo 13.

## Mutações em Genes que Codificam o Colágeno ou Outros Componentes da Formação Óssea: Osteogênese Imperfeita

A **Osteogênese imperfeita (OI)** é um grupo de distúrbios hereditários que predisõem à deformidade esquelética e à fratura fácil dos ossos, mesmo com traumas pequenos (Fig. 12-21). A incidência combinada de todas as formas da doença é de aproximadamente um em 10.000. Aproximadamente 95% dos indivíduos afetados têm mutações heterozigotas em um dos dois genes, *COL1A1* e *COL1A2*, que codificam as cadeias de colágeno tipo I, a principal proteína no osso. Um notável grau de variação clínica tem sido reconhecido, desde a letalidade no período perinatal até apenas um leve aumento da frequência de fratura. A heterogeneidade clínica é explicada tanto pela heterogeneidade de *locus* quanto alélica; os fenótipos são influenciados por qual cadeia de pró-colágeno tipo I é afetada e de acordo com o tipo e a localização da mutação no *locus*. Os principais fenótipos e genótipos associados a mutações nos genes de colágeno tipo I são descritos na Tabela 12-4.

**Tabela 12-4**

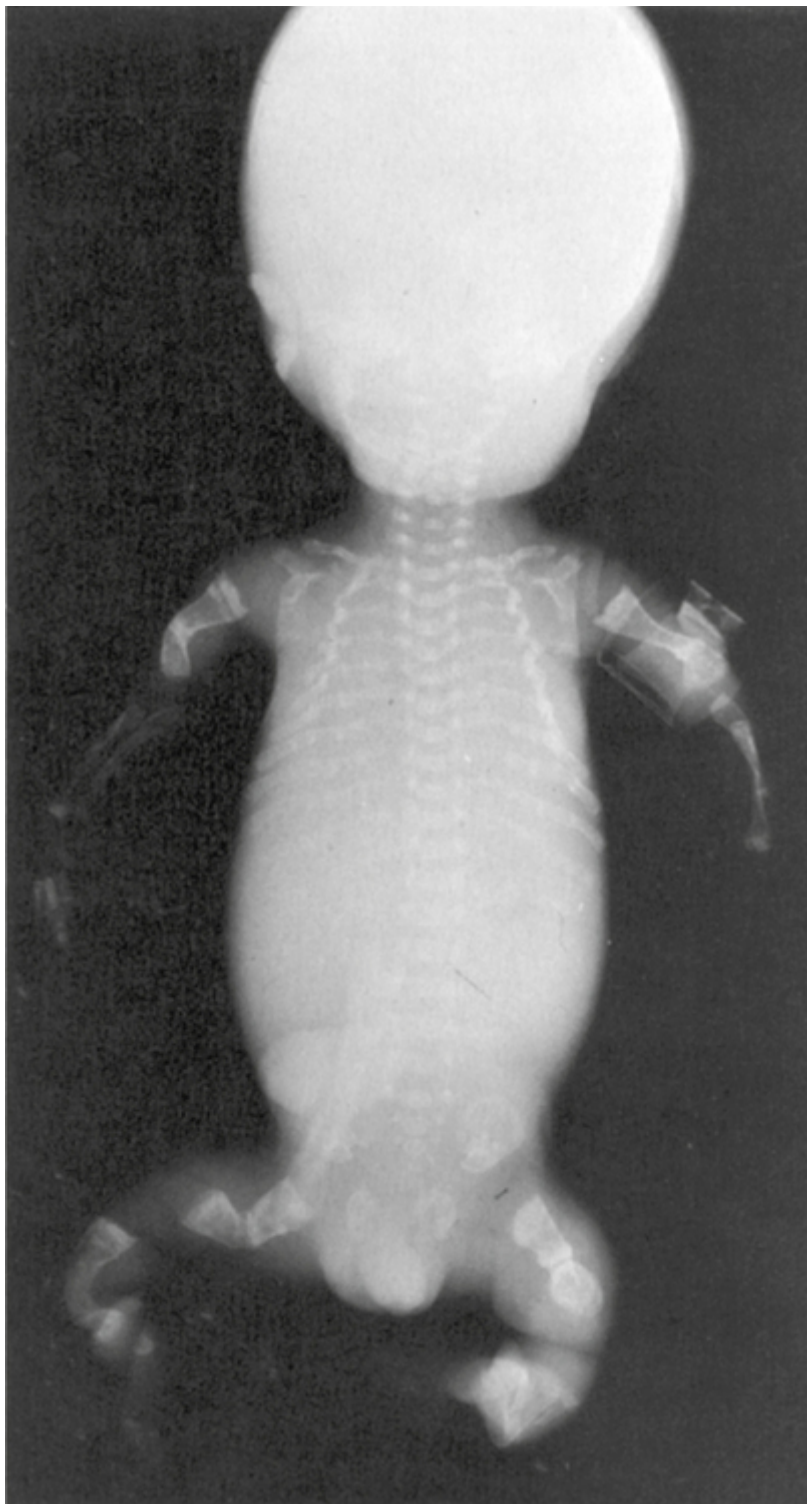
**Resumo das Características Genéticas, Bioquímicas e Moleculares dos Tipos de Osteogênese Imperfeita devido a Mutações nos Genes de Colágeno Tipo 1**

Tipo	Fenótipo	Herança	Defeito Bioquímico	Defeito do Gene
Produção Defeituosa de Colágeno Tipo I*				
I	<b>Branda:</b> esclera azul, ossos frágeis, mas sem deformidade óssea	Autossômica dominante	Todo o colágeno é produzido (i.e., exclusivamente a partir do alelo normal), mas a quantidade é <i>reduzida</i> pela metade	Alelos nulos em grande parte que prejudicam a produção de cadeias pró- $\alpha 1$ (I), tais como defeitos que interferem na síntese de RNAm
Defeitos Estruturais no Colágeno Tipo I				
II	<b>Letal Perinatal:</b> anomalias esqueléticas graves, esclera escura, morte dentro de 1 mês (Fig. 12-21)	Autossômica dominante (mutação nova)	Produção de moléculas de colágeno <i>anormal</i> devido à substituição da glicina na Gly-X-Y do domínio helicoidal triplo, em geral, em toda a proteína	Mutações <i>missense</i> nos códons de glicina dos genes para as cadeias $\alpha 1$ e $\alpha 2$
III	<b>Deformação progressiva:</b> com esclera azul; fraturas, muitas vezes ao nascimento; deformidade óssea progressiva, crescimento limitado	Autossômica dominante <sup>†</sup>		
IV	<b>Esclera normal, deformação:</b> deformidade óssea leve a moderada, fraturas de baixa estatura	Autossômica dominante		

\*Poucos pacientes com doença tipo I têm substituições de glicina em uma das cadeias de colágeno tipo I.

<sup>†</sup>casos raros são autossômicos recessivos. RNAm, RNA mensageiro

Modificada de Byers PH: Disorders of collagen biosynthesis and structure. Em Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors: *The metabolic basis of inherited disease*, ed 6, New York, 1989, McGraw-Hill, pp 2805–2842; e Byers PH: Brittle bones—fragile molecules: disorders of collagen structure and expression. *Trends Genet* 6:293–300, 1990.

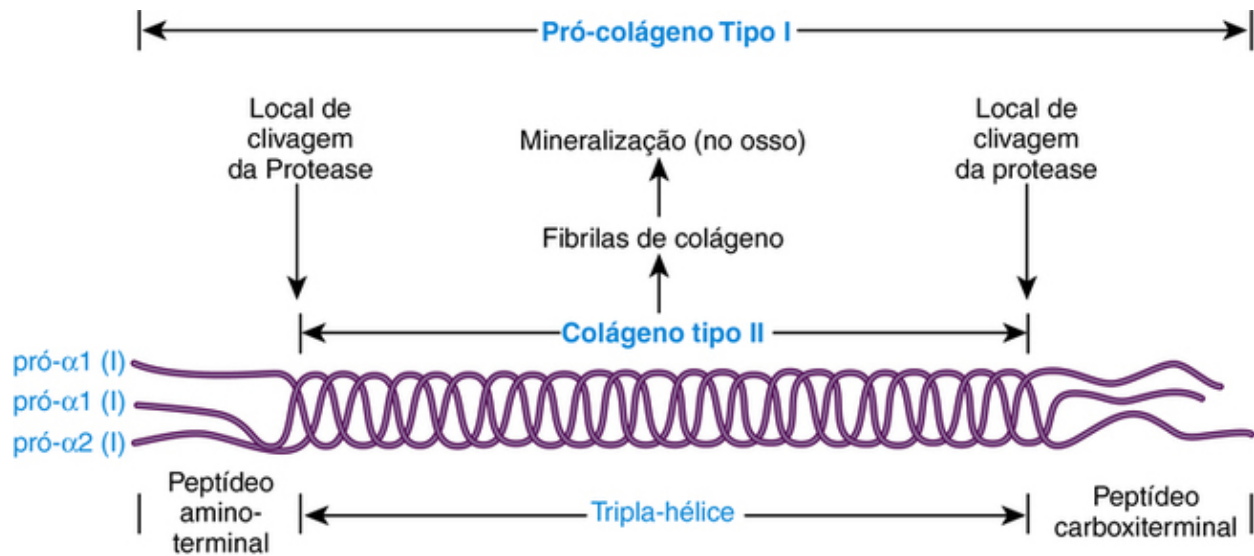


**FIGURA 12-21** Radiografia de um bebê prematuro (26 semanas de gestação) com a forma perinatal letal (tipo II) de osteogênese imperfeita.

O crânio é relativamente grande e não mineralizado e macio à palpação. A cavidade torácica é pequena, os ossos longos dos braços e pernas são curtos e deformados, e os corpos vertebrais são achatados. Todos os ossos são não mineralizados. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

### **Estrutura Normal do Colágeno e sua Relação com a Osteogênese Imperfeita**

É importante ter em mente as principais características do colágeno tipo I normal para compreender a patogênese da OI. A molécula de pró-colágeno tipo I é formada a partir de duas cadeias pró- $\alpha$ 1 (I) (codificadas pelo *COL1A1*) e uma semelhante, porém distinta, a cadeia pró- $\alpha$ 2 (I) (codificada pelo *COL1A2*) (Fig. 12-22).



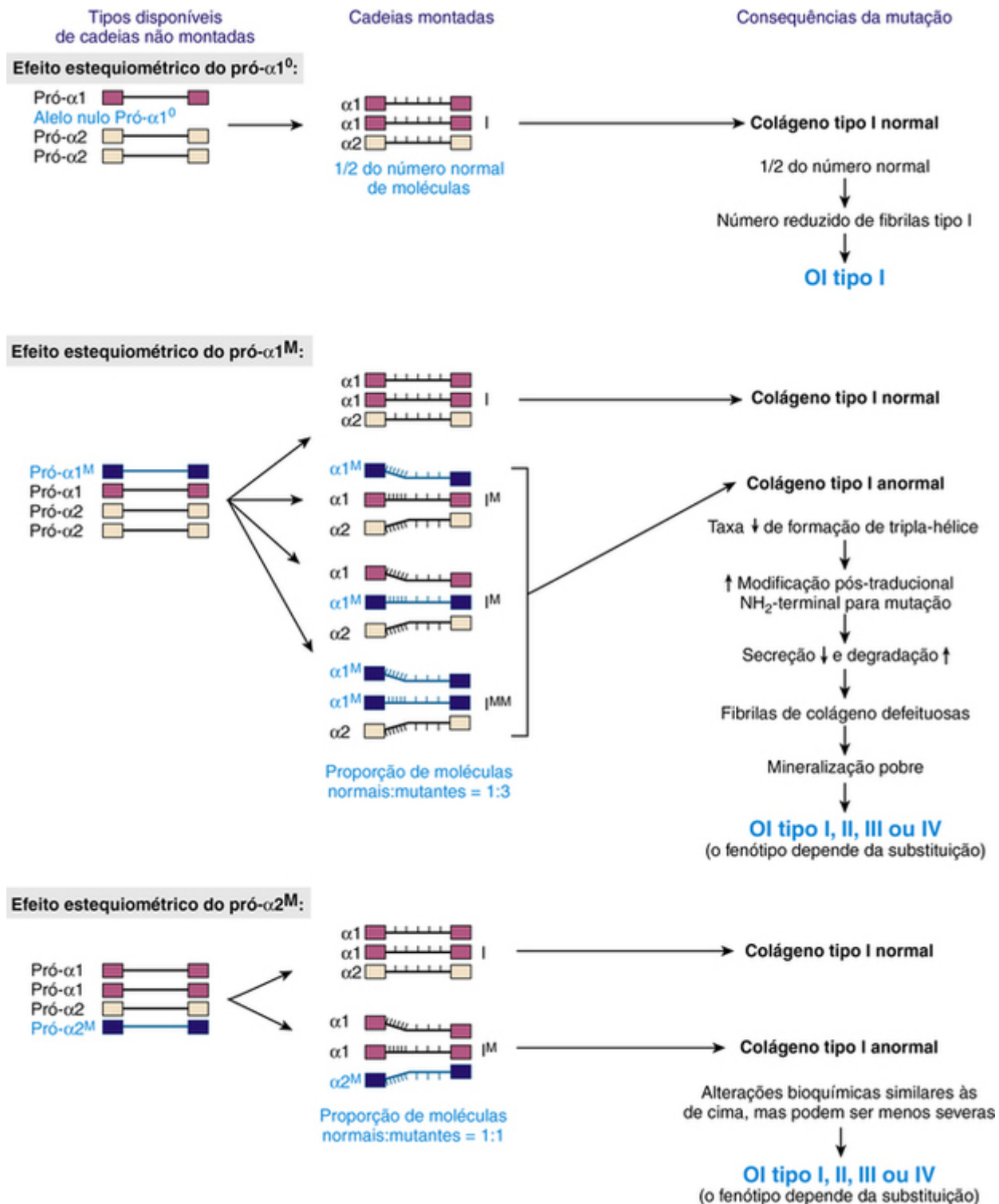
**FIGURA 12-22** A estrutura do pró-colágeno tipo I.

Cada cadeia de colágeno é feita como uma tripla-hélice de pró-colágeno que é secretada no espaço extracelular. Os domínios carboxi e aminoterminal são clivados extracelularmente para formar colágeno; fibrilas maduras de colágeno são então montadas e mineralizadas no osso. Note que o procolágeno tipo I é composto por duas cadeias pró- $\alpha$ 1 (I) e uma cadeia pró- $\alpha$ 2 (I). *Veja Fontes & Agradecimentos.*

Proteínas compostas de subunidades, como o colágeno, são frequentemente sujeitas a mutações que impedem a associação das subunidades, alterando as interfaces das subunidades. A seção de tripla-hélice (colágeno) é composta por 338 repetições Gly-X-Y dispostas em *tandem*; a prolina está muitas vezes na posição X, e a hidroxiprolina ou a hidroxilisina estão muitas vezes na posição Y. A glicina, o menor aminoácido, é o único resíduo compacto o suficiente para ocupar a posição axial da hélice, e conseqüentemente, as mutações que substituem outros resíduos por essas glicinas são altamente prejudiciais para a estrutura helicoidal.

Várias características da maturação do pró-colágeno são de especial importância para a fisiopatologia da OI. Em primeiro lugar, a montagem das cadeias individuais pró- $\alpha$  no trímero começa na extremidade carboxiterminal, e a formação da tripla-hélice progride para a extremidade aminoterminal. Conseqüentemente, as mutações que alteram os resíduos na parte da extremidade carboxiterminal do domínio da tripla-hélice são mais perturbadoras, uma vez que interferem mais cedo na propagação da tripla-hélice (Fig. 12-23). Em segundo lugar, a modificação pós-traducional (p. ex., hidroxilação da prolina ou lisina; glicosilação da hidroxilisina) do pró-colágeno continua em qualquer parte de uma cadeia não montada na tripla-hélice. Assim, quando a montagem da tripla-hélice é atrasada por uma mutação, os trechos não montados das cadeias aminoterminal para o defeito são excessivamente modificados, o que retarda a sua secreção para o espaço extracelular. Uma grande modificação também pode interferir na formação das fibrilas de colágeno. Como resultado de todas essas alterações, o número de moléculas de colágeno secretadas é reduzido, e muitas delas são anormais. No osso, as cadeias anormais e seu número reduzido levam à mineralização defeituosa das fibrilas de colágeno (Fig. 12-21).





**FIGURA 12-23** A patogênese das principais classes de colágeno tipo I mutantes.

*Coluna 1*, Os tipos de cadeias de pró-colágeno disponíveis para montagem numa tripla-hélice. Embora existam dois genes/genoma de colágeno  $\alpha 1$  e  $\alpha 2$ , como implicado na coluna da esquerda, o dobro de moléculas de colágeno  $\alpha 1$  é produzido, em comparação com as moléculas de colágeno  $\alpha 2$ , como mostrado na coluna central. *Coluna 2*, O efeito da estequiometria do pró-colágeno tipo I na proporção de moléculas de colágeno normal para moléculas defeituosas formadas em mutantes com cadeia pró- $\alpha 1$  contra mutações da cadeia pró- $\alpha 2$ . As pequenas barras verticais em cada cadeia de pró-colágeno indicam modificações pós-traducionais (veja o texto). *Coluna 3*, O efeito das mutações no processamento bioquímico do colágeno. OI, Osteogênese imperfeita; Pró- $\alpha 1^M$ , uma cadeia pró  $\alpha 1$  com uma mutação *missense*; Pró- $\alpha 2^M$ , uma cadeia pró- $\alpha 2$  com uma mutação *missense*; Pró- $\alpha 1^0$ , uma cadeia  $\alpha 1$  de alelo nulo.

### Alterações Moleculares do Colágeno na Osteogênese Imperfeita

Mais de 2.000 mutações diferentes que afetam a síntese ou a estrutura do colágeno tipo I foram encontradas em indivíduos com OI. A heterogeneidade clínica dessa doença reflete uma heterogeneidade ainda maior em nível molecular (Tabela 12-4).

Para os genes de colágeno tipo I, as mutações enquadram-se em duas classes gerais, aquelas que reduzem a *quantidade* de pró-colágeno tipo I feita e aquelas que alteram a *estrutura* das moléculas montadas.

### Tipo I: Produção Diminuída de Colágeno

A maioria dos indivíduos com OI tipo I apresenta mutações que resultam na produção celular de aproximadamente metade da quantidade normal de pró-colágeno tipo I. A maior parte dessas mutações resulta em códons de término prematuros em um alelo *COL1A1* que tornam o RNAm deste alelo intraduzível. Uma vez que as moléculas de pró-colágeno tipo I devem ter duas cadeias pró- $\alpha 1$  (I) para montar uma tripla-hélice, a perda de metade do RNAm leva à produção de metade da quantidade normal de moléculas pró-colágeno tipo I, embora essas moléculas sejam normais (Fig. 12-23). Mutações de sentido trocado também podem dar origem a esta forma mais branda de OI quando a alteração do aminoácido está localizada na extremidade aminoterminal. Isso ocorre porque as substituições aminoterminais tendem a ser menos prejudiciais à montagem da cadeia de colágeno, que ainda pode iniciar como o habitual na extremidade carboxiterminal.

### Tipos II, III, e IV: Colágenos Estruturalmente Defeituosos

Os fenótipos tipo II, III e IV de OI normalmente resultam de mutações que produzem cadeias pró- $\alpha 1$  (I) ou pró- $\alpha 2$  (I) estruturalmente anormais (Fig 12-23 e Tabela 12-4). A maioria desses pacientes tem substituições na tripla-hélice que convertem uma glicina em um resíduo mais volumoso que perturba a formação da tripla-hélice. O colágeno específico afetado, a localização da substituição, e a natureza do resíduo de substituição são todos determinantes fenotípicos importantes, mas são possíveis algumas generalizações sobre o fenótipo mais provável resultante de uma substituição específica. Assim, as substituições na cadeia pró- $\alpha 1$  (I) são mais prevalentes em pacientes com OI tipos III e IV e são mais frequentemente letais. Em qualquer cadeia, a substituição da glicina (um resíduo neutro) por um resíduo carregado (ácido aspártico, ácido glutâmico, arginina) ou um resíduo grande (triptofano) geralmente é muito disruptiva e muitas vezes associada a um fenótipo grave (tipo II) (Fig. 12-23). Algumas vezes, uma substituição específica está associada a mais de um fenótipo, um resultado que provavelmente reflete a influência de genes modificadores potentes.

### Novas Formas de Osteogênese Imperfeita que Não Resultam de Mutações no Colágeno

Três novas formas de OI clinicamente definidas (tipos V, VI e VII) não resultam de mutações nos genes de colágeno tipo I, mas envolvem defeitos de outros genes. Esses 5% dos indivíduos com OI que apresentam genes de colágeno normais têm mutações dominantes no gene *IFITM5* (que codifica a proteína transmembrana induzida por interferon 5) ou mutações bialélicas em algum da quase uma dúzia de outros genes que codificam proteínas que regulam o desenvolvimento de osteoblastos e facilitam a formação do osso ou que medeiam a montagem do colágeno através da interação com colágenos durante a síntese e secreção. Esses genes incluem, por exemplo, o *WNT1*, que codifica uma proteína de sinalização secretada, e o *BMP1*, que codifica uma proteína morfogenética do osso, uma indutora da formação de cartilagem.

### A Genética da Osteogênese Imperfeita

Como discutido, a maioria das mutações em genes de colágeno tipo I que causam OI age de uma forma dominante. Esse grupo de distúrbios genéticos ilustra as complexidades que resultam quando mutações alteram proteínas estruturais, particularmente as compostas por múltiplas subunidades diferentes, ou alteram proteínas que estão envolvidas na dobradura e transporte de colágenos ao seu local de ação.

O fenótipo relativamente brando e a herança dominante da OI tipo I são compatíveis com o fato de que embora apenas metade do número normal de moléculas seja produzida, elas são de qualidade normal (Fig. 12-23). As consequências mais graves da produção de cadeias pró- $\alpha 1$  (I) estruturalmente defeituosas de um alelo (em comparação à não produção de cadeias) reflete, em parte, a estequiometria do colágeno tipo I, que contém duas cadeias pró- $\alpha 1$  (I) e uma cadeia pró- $\alpha 2$  (I) (Fig. 12-23). Por conseguinte, se metade das cadeias pró- $\alpha 1$  (I) são anormais, três das quatro moléculas tipo I têm pelo menos uma cadeia anormal; em contraste, se metade das cadeias pró- $\alpha 2$  (I) são defeituosas, apenas uma em cada duas moléculas é afetada. As mutações, tais como o alelo pró- $\alpha 1$  (I) de sentido trocado (Pró- $\alpha 1^M$ ) mostrado na Figura 12-23 são, portanto, **alelos dominantes negativos**, porque eles prejudicam a contribuição das cadeias pró- $\alpha 1$  (I) e pró- $\alpha 2$  (I) normais. Em outras palavras, o efeito do alelo mutante é amplificado devido à natureza trimérica da molécula de colágeno. Consequentemente, em doenças de herança dominante, tais como a OI, na verdade é melhor ter uma mutação que não gere nenhum produto gênico do que um produto gênico anormal. O mecanismo bioquímico na OI pelo qual o efeito dominante negativo de **alelos dominantes negativos** dos genes *COL1A1* é exercido é um dos mais compreendidos em toda a genética humana (Caso 8 e Caso 30 para outros exemplos de alelos dominantes negativos).

Embora as mutações que produzem cadeias pró- $\alpha 2$  (I) estruturalmente anormais reduzam o número de moléculas de colágeno tipo I normal pela metade, esta redução é, no entanto, suficiente, no caso de algumas mutações, para causar o grave fenótipo letal perinatal (Tabela 12-4). A maioria das crianças com a OI tipo II, a forma letal perinatal, tem uma mutação dominante *de novo*, e conseqüentemente, há uma probabilidade muito baixa de recorrência na família. Em famílias ocasionais, no entanto, mais de um irmão é afetado com a OI tipo II. Tais recorrências são geralmente decorrentes de mosaïcismo da linhagem germinativa parental, conforme descrito no Capítulo 7.

### Tratamento Clínico

Se o defeito molecular de um paciente pode ser determinado, aumentando o conhecimento da correlação entre genótipos e fenótipos da OI, torna-se possível prever, pelo menos em alguma extensão, a história natural da doença. O tratamento de crianças com as formas clinicamente mais significativas da OI é baseado em abordagens na medicina clínica para aumentar a capacidade de andar e a mobilidade, muitas vezes no contexto do tratamento com bisfosfonatos parenterais, uma classe de fármacos que atua através da redução da reabsorção óssea, para aumentar a densidade óssea e reduzir a taxa de fratura. Esses medicamentos parecem ser menos eficientes em indivíduos com as formas recessivas da OI. O desenvolvimento de medicamentos melhores e específicos é uma questão crítica para melhorar o atendimento.

## Distúrbios neurodegenerativos

Até recentemente, os mecanismos bioquímicos e moleculares subjacentes a quase todas as doenças neurodegenerativas eram completamente obscuros. Nesta seção, discutimos três condições diferentes, cada uma com uma base genética e genômica diferente e ilustrando diferentes mecanismos de patogênese:

- Doença de Alzheimer
- Distúrbios do DNA mitocondrial
- Doenças decorrentes de expansão de sequências repetitivas instáveis

### Doença de Alzheimer

Uma das condições neurodegenerativas de início na vida adulta mais comuns é a **doença de Alzheimer (DA) (Caso 4)**, apresentada no [Capítulo 8](#), no contexto de distúrbios genéticos complexos. A DA geralmente se manifesta entre a 6ª e a 9ª década de vida, mas há formas monogênicas que frequentemente se apresentam mais cedo, às vezes, tão cedo quanto a 3ª década. O quadro clínico da DA é caracterizado por uma deterioração progressiva da memória e das funções cognitivas superiores, tais como o raciocínio, além de alterações comportamentais. Essas anormalidades refletem a degeneração dos neurônios em regiões específicas do córtex cerebral e do hipocampo. A DA afeta aproximadamente 1,4% das pessoas nos países desenvolvidos e é responsável por pelo menos 100.000 mortes por ano apenas nos Estados Unidos.

#### A Genética da Doença de Alzheimer

O risco para a DA na população em geral é de 12,1% nos homens e de 20,3% nas mulheres aos 85 anos. A maior parte do aumento do risco em parentes de indivíduos afetados não é devido à herança mendeliana; em vez disso, conforme descrito no [Capítulo 8](#), essa agregação familiar resulta de uma contribuição genética complexa que envolve um ou mais genes incompletamente penetrantes que atuam de forma independente, a partir de múltiplos genes que interagem, ou de alguma combinação de fatores genéticos e ambientais.

Aproximadamente 7% a 10% dos pacientes, no entanto, têm uma forma monogênica altamente penetrante da DA que é herdada de forma autossômica dominante. Na década de 1990, foram identificados quatro genes associados à DA ([Tabela 12-5](#)). Mutações em três destes genes — que codificam a proteína precursora de  $\beta$ -amiloide (APP $\beta$ ), a presenilina 1 e a presenilina 2 — levam à DA autossômica dominante. O quarto gene, o *APOE*, codifica a apolipoproteína E (apoE), um componente proteico de várias lipoproteínas plasmáticas. Mutações no *APOE* não estão associadas à DA monogênica. Pelo contrário, como vimos no [Capítulo 8](#), o alelo  $\epsilon 4$  do *APOE* aumenta modestamente a suscetibilidade à DA não familiar e influencia a idade de início em pelo menos algumas das formas monogênicas (veja mais adiante).

**Tabela 12-5****Genes e Proteínas Associados à Suscetibilidade Herdada à Doença de Alzheimer**

Gene	Herança	% de DAF	Proteína	Função Normal	Papel na DAF
<i>PSEN1</i>	AD	50%	Presenilina 1 (PS1): proteína de domínio que atravessa a membrana encontrada em todos os tipos celulares tanto dentro quanto fora do cérebro	Desconhecida, mas é necessária para a clivagem da APP $\beta$ pela $\gamma$ -secretase	Pode participar na clivagem anormal na posição 42 da APP $\beta$ e suas proteínas derivadas. Mais de 100 mutações identificadas na doença de Alzheimer
<i>PSEN2</i>	AD	1%-2%	Presenilina 2 (PS2): Estrutura semelhante a PS1, expressão máxima fora do cérebro	Desconhecida, provavelmente semelhante à PS1	Pelo menos cinco mutações <i>missense</i> identificadas
<i>APP</i>	AD	1%-2%	Proteína precursora de amiloide (APP $\beta$ ): Uma proteína transmembrana intracelular. Normalmente, a APP $\beta$ é clivada de forma endoproteolítica dentro do domínio transmembrana (Fig. 12-24), de modo que pouco do peptídeo $\beta$ -amiloide (A $\beta$ ) é formado	Desconhecida	O peptídeo $\beta$ -amiloide (A $\beta$ ) é o principal componente das placas senis. A produção aumentada de A $\beta$ , especialmente da forma A $\beta_{42}$ , é um evento patogênico chave. Aproximadamente 10 mutações têm sido identificadas na DAF
<i>APOE</i>	Veja Tabela 12-6	NA	Apolipoproteína E (apoE): Uma proteína componente de diversas lipoproteínas do plasma. A proteína apoE é importada para o citoplasma dos neurônios a partir do espaço extracelular	A função normal em neurônios é desconhecida. Fora do cérebro, a apoE participa no transporte de lipídeos entre tecidos e células. A perda da função causa uma forma (tipo III) de hiperlipoproteíemia	Um gene de suscetibilidade à doença de Alzheimer (Tabela 12-6). A ApoE é um componente das placas senis

AD, Autossômica dominante; DAF, doença de Alzheimer familiar; NA, não aplicável.

Dados derivados de St. George-Hyslop PH, Farrer LA: Alzheimer's disease and the fronto-temporal dementias: diseases with cerebral deposition of fibrillar proteins. Em Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors: *The molecular and metabolic bases of inherited disease*, ed 8, New York, 2000, McGraw-Hill; e Martin JB: Molecular basis of the neurodegenerative disorders. *N Engl J Med* 340:1970-1980, 1999.

A identificação dos quatro genes associados à DA proporcionou grande esclarecimento não só sobre a patogênese da DA monogênica, mas também, como é comumente o caso na genética médica, sobre os mecanismos que fundamentam a forma de DA mais comum, não familiar ou esporádica. De fato, a superprodução de um produto proteolítico da APP $\beta$ , chamado peptídeo A $\beta$ , parece estar no centro da patogênese da DA, e a atual evidência experimental disponível sugere que as proteínas APP $\beta$ , presenilina 1 e presenilina 2 desempenham um papel direto na patogênese da DA.

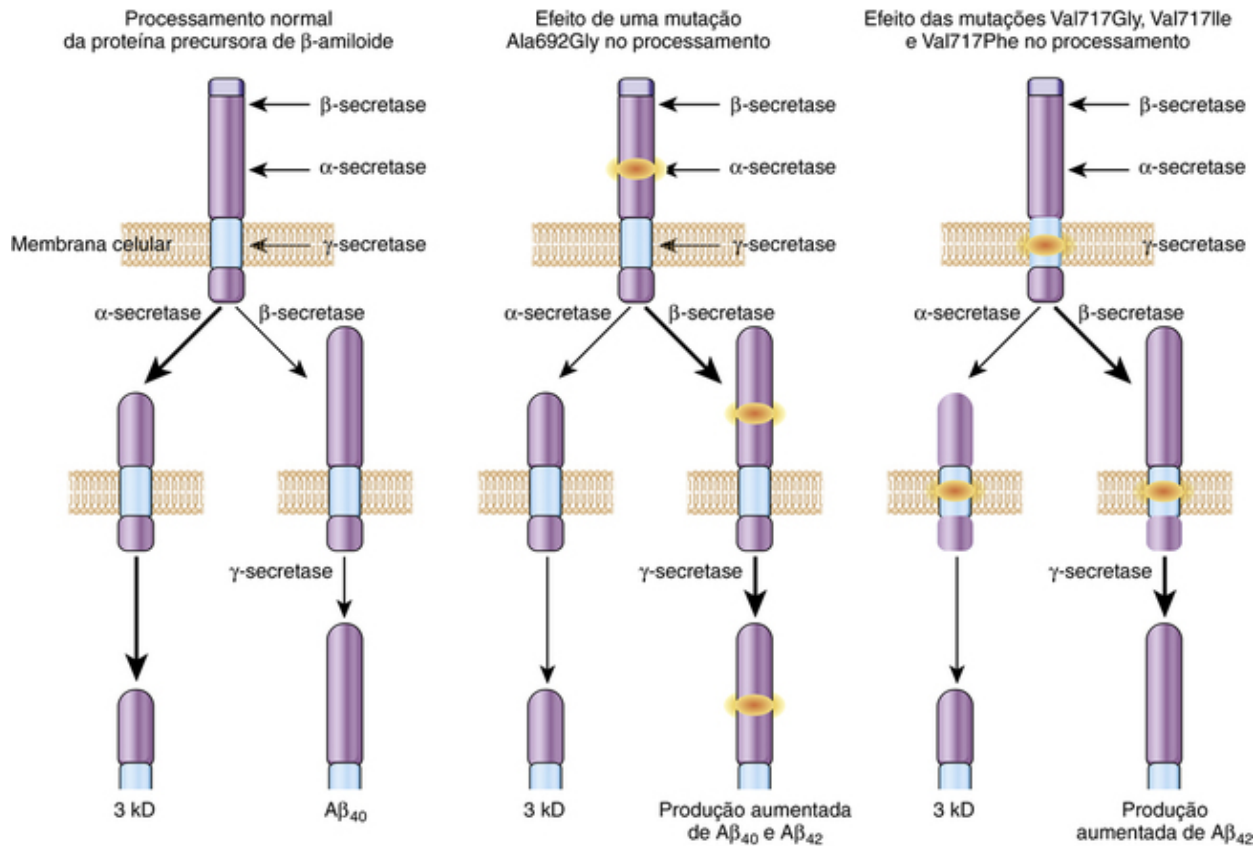
### A Patogênese da Doença de Alzheimer: Depósitos de Proteína Tau e do Peptídeo $\beta$ -amiloide

As alterações patológicas mais importantes da DA são a deposição no cérebro de duas proteínas fibrilares, o peptídeo  $\beta$ -amiloide (A $\beta$ ) e a proteína tau. O peptídeo A $\beta$  é gerado a partir de uma proteína APP $\beta$  maior (Tabela 12-5), como discutido na próxima seção, e é encontrado em placas amiloides ou senis no espaço extracelular cerebral dos cérebros com DA. As placas amiloides contêm outras proteínas além do peptídeo A $\beta$ , especialmente a apoE (Tabela 12-5). A tau é uma proteína associada a microtúbulos expressa abundantemente nos neurônios do cérebro. Formas hiperfosforiladas da tau compõem os emaranhados neurofibrilares que, em contraste com as placas amiloides extracelulares, são encontrados *dentro* dos neurônios com DA. A proteína tau normalmente promove a montagem e a estabilidade dos microtúbulos, funções que estão diminuídas pela fosforilação. Embora a formação de emaranhados neurofibrilares de tau pareça ser uma das causas da degeneração neuronal na DA, as mutações no gene *TAU* não estão associadas à DA, mas a outra demência autossômica dominante, a **demência frontotemporal**.

### A Proteína Precursora da Amiloide Origina o Peptídeo $\beta$ -Amiloide

As principais características da APP $\beta$  e seu gene correspondente estão resumidas na Tabela 12-5. A APP $\beta$  é uma proteína transmembrana intracelular de passagem única encontrada em endossomas, lisossomos, RE e aparelho de Golgi. É sujeita a três destinos proteolíticos distintos, dependendo da atividade relativa de três proteases diferentes:  $\alpha$ -secretase e  $\beta$ -secretase, que são proteases da superfície celular; e  $\gamma$ -secretase, que é uma protease atípica que cliva proteínas de membrana dentro dos seus domínios transmembranares. O destino predominante de aproximadamente 90% das APP $\beta$  é a clivagem pela  $\alpha$ -

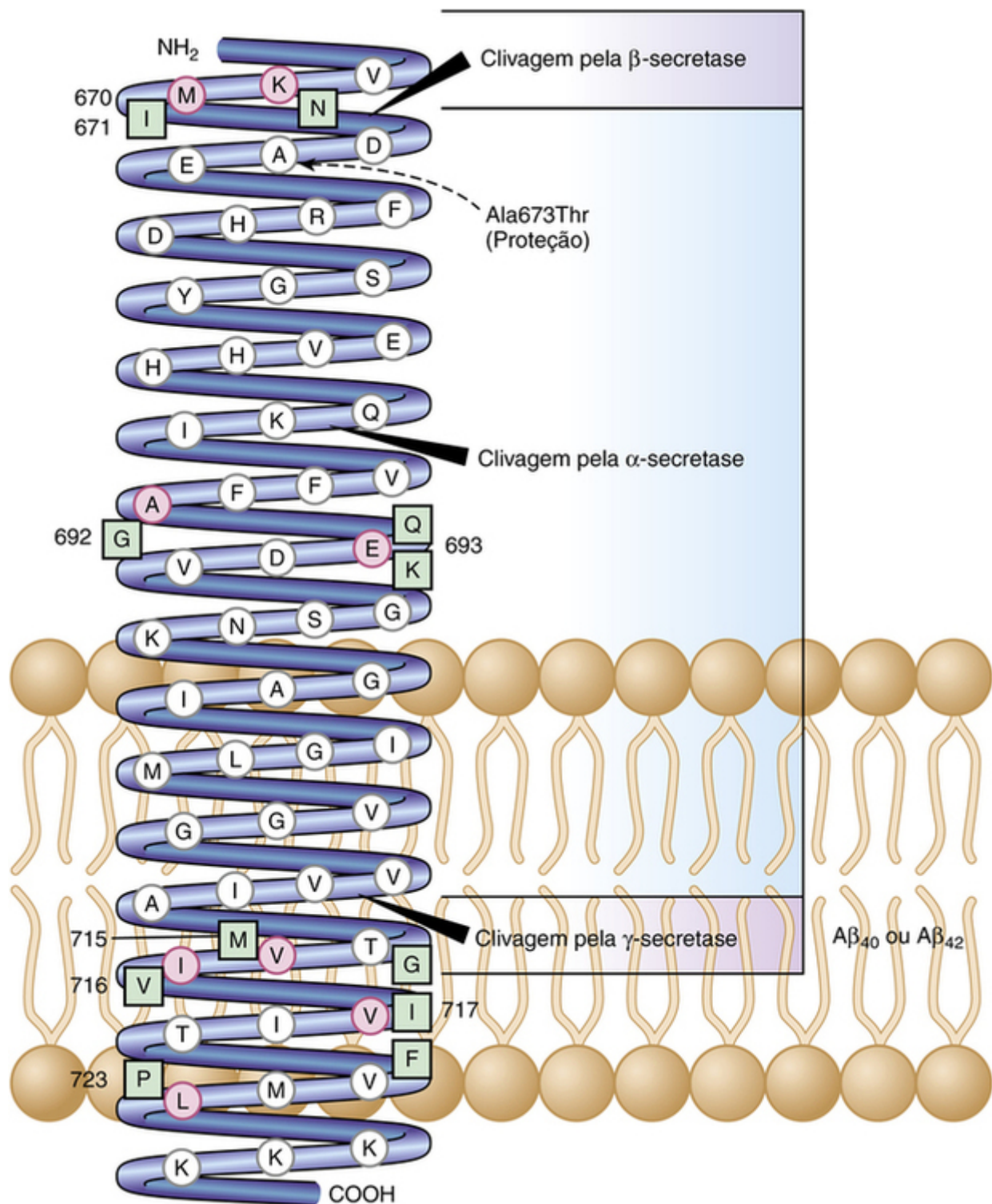
secretase (Fig. 12-24), um evento que impede a formação do peptídeo A $\beta$ , porque a  $\alpha$ -secretase cliva dentro do domínio do peptídeo A $\beta$ . Os outros aproximadamente 10% da APP $\beta$  são clivados pela  $\beta$ - e  $\gamma$ -secretases para formar o peptídeo A $\beta_{40}$  não tóxico ou o peptídeo A $\beta_{42}$ . O peptídeo A $\beta_{42}$  é considerado neurotóxico porque é mais propenso à agregação do que a sua contraparte A $\beta_{40}$ , uma característica que faz da DA uma doença conformacional como a deficiência de  $\alpha$ 1AT (descrita anteriormente neste capítulo). Normalmente, pouco peptídeo A $\beta_{42}$  é produzido, e os fatores que determinam se a clivagem da  $\gamma$ -secretase irá produzir o peptídeo A $\beta_{40}$  ou A $\beta_{42}$  não estão bem definidos.



**FIGURA 12-24** O processamento normal da proteína precursora de  $\beta$ -amiloide (APP $\beta$ ) e o efeito sobre o processamento de mutações *missense* no gene da APP $\beta$  associado à doença de Alzheimer familiar. Os destaques com forma oval mostram as localizações das mutações *missense*. Veja Fontes & Agradecimentos.

Na DA monogênica devido a substituições de sentido trocado no gene que codifica a APP $\beta$  (APP), no entanto, várias mutações levam a uma superprodução relativa do peptídeo A $\beta_{42}$ . Este aumento leva ao acúmulo de A $\beta_{42}$  neurotóxico, uma ocorrência que parece ser o evento patogênico central de todas as formas da DA, monogênica ou esporádica. Consistente com este modelo é o fato de que os pacientes com síndrome de Down, que possuem três cópias do gene APP (que está no cromossomo 21), geralmente desenvolvem as alterações neuropatológicas da DA aos 40 anos de idade. Além disso, as mutações nos genes da DA presenilina 1 e presenilina 2 (Tabela 12-5) também levam a um aumento da produção de A $\beta_{42}$ . Notavelmente, a quantidade do peptídeo neurotóxico A $\beta_{42}$  está aumentada no soro de indivíduos com mutações nos genes APP $\beta$ , presenilina 1 e presenilina 2; além disso, em sistemas de células em cultura, a expressão da APP $\beta$ , presenilina 1 e presenilina 2 mutantes aumenta a produção relativa do peptídeo A $\beta_{42}$  de duas a dez vezes.

O papel central do peptídeo A $\beta_{42}$  na DA é realçado pela descoberta de uma mutação codificante (Ala673Thr) no gene APP (Fig. 12-25), que protege contra a DA e o declínio cognitivo em adultos mais idosos. O efeito protetor é provavelmente devido à formação reduzida de peptídeo A $\beta_{42}$ , refletindo a proximidade entre o local de clivagem da  $\beta$ -secretase e a Thr673 (Fig. 12-25).



**FIGURA 12-25** A topologia da proteína precursora de amiloide (APP $\beta$ ), a sua clivagem não amiloidogênica pela  $\alpha$ -secretase, e sua clivagem alternativa suposta pela  $\beta$ -secretase e  $\gamma$ -secretase para gerar o peptídeo  $\beta$ -amiloide amiloidogênico (A $\beta$ ).

As letras são o código de uma única letra para aminoácidos na proteína precursora de  $\beta$ -amiloide, e os números indicam a posição do aminoácido afetado. Resíduos normais envolvidos em mutações *missense* são mostrados em *círculos destacados*, ao passo que os resíduos de aminoácidos que representam as várias mutações *missense* são apresentados em quadros. Os resíduos de aminoácidos mutados estão perto dos locais de clivagem da  $\beta$ -,  $\alpha$ - e  $\gamma$ -secretase (*setas pretas*). As mutações levam ao acúmulo tóxico do peptídeo A $\beta_{42}$  em vez do tipo selvagem do peptídeo A $\beta_{40}$ . A localização do alelo de proteção Ala673Thr está indicada pela seta tracejada. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

## Os Genes das Presenilinas 1 e 2

Os genes que codificam a presenilina 1 e a presenilina 2 (Tabela 12-5) foram identificados em famílias com DA autossômica dominante. A presenilina 1 é necessária para a clivagem de  $\gamma$ -secretase dos derivados de APP $\beta$ . De fato, algumas evidências sugerem que a presenilina 1 é uma proteína cofator crítica da  $\gamma$ -secretase. As mutações na presenilina 1 associadas à DA, por

um mecanismo não esclarecido, aumentam a produção do peptídeo A $\beta$ <sub>42</sub>. A principal diferença entre as mutações da presenilina 1 e da presenilina 2 é que a idade de início da última é muito mais variável (presenilina 1, 35 a 60 anos; presenilina 2, de 40 a 85 anos); de fato, em uma família, um octagenário assintomático portador de uma mutação na presenilina 2 transmitiu a doença à sua prole. A base dessa variação é, em parte, dependente do número de alelos *APOE*  $\epsilon$ 4 (Tabela 12-5 e discussão posterior) carregados por indivíduos com uma mutação na presenilina 2; a presença de dois alelos  $\epsilon$ 4 está associada a uma idade mais precoce de início do que a de um alelo, e confere um início mais precoce do que outros alelos *APOE*.

### O Gene *APOE* é um Locus de Suscetibilidade à Doença de Alzheimer

Conforme apresentado no Capítulo 8, o alelo  $\epsilon$ 4 do gene *APOE* é um importante fator de risco para o desenvolvimento da DA. O papel do *APOE* como um locus importante de suscetibilidade à DA foi sugerido por múltiplas linhas de evidência, incluindo a ligação à DA em famílias de início tardio, associação aumentada do alelo  $\epsilon$ 4 em pacientes com DA em comparação com controles, e o achado de que a apoE liga-se ao peptídeo A $\beta$ . A proteína *APOE* tem três formas comuns codificadas pelos alelos *APOE* correspondentes (Tabela 12-6). O alelo  $\epsilon$ 4 é significativamente mais presente nos pacientes com DA ( $\approx$  40% vs.  $\approx$  15% na população em geral) e está associado a um início precoce da DA (para homocigotos  $\epsilon$ 4/ $\epsilon$ 4, a idade de início da DA é de aproximadamente 10 a 15 anos mais cedo do que na população em geral; Cap. 8). Além disso, a relação entre o alelo  $\epsilon$ 4 e a doença é dose-dependente; duas cópias de  $\epsilon$ 4 estão associadas a uma idade mais precoce de início (média de início antes dos 70 anos) do que com uma cópia (início após os 70 anos) (Fig. 8-11 e Tabela 8-14). Em contraste, o alelo  $\epsilon$ 2 tem um efeito protetor e correspondentemente é mais comum em indivíduos idosos que não são afetados pela DA (Tabela 12-6).

**Tabela 12-6**

#### Substituições de Aminoácidos Subjacentes a Três Polimorfismos Comuns da Apolipoproteína E

Alelo	$\epsilon$ 2	$\epsilon$ 3	$\epsilon$ 4
Resíduo 112	Cys	Cys	Arg
Resíduo 158	Cys	Arg	Arg
Frequência em populações caucasianas	10%	65%	25%
Frequência em pacientes com doença de Alzheimer	2%	58%	40%
Efeito na doença de Alzheimer	Protetor	Nenhum conhecido	30%-50% do risco genético para doença de Alzheimer

Estes números são estimativos, com diferenças nas frequências alélicas que variam com a etnia em populações-controle, e com a idade, sexo e etnia em indivíduos com doença de Alzheimer.

Dados derivados de St. George Hyslop PH, Farrer LA, Goedert M: Alzheimer disease and the frontotemporal dementias: diseases with cerebral deposition of fibrillary proteins. Em Valle D, Beaudet AL, Vogelstein B, et al, editors: The online metabolic & molecular bases of inherited disease (OMMBID). Disponível em: <http://www.ommbid.com/>.

Os mecanismos subjacentes a esses efeitos não são conhecidos, mas os polimorfismos da apoE podem influenciar o processamento da APP $\beta$  e a densidade das placas amiloides nos cérebros com DA. É também importante notar que o alelo *APOE*  $\epsilon$ 4 não só está associado a um risco aumentado para DA; portadores de alelos  $\epsilon$ 4 também podem ter resultados neurológicos ruins após traumatismo craniano, acidente vascular cerebral e outras injúrias neuronais. Embora os portadores do alelo *APOE*  $\epsilon$ 4 tenham um risco claramente aumentado para o desenvolvimento de DA, não existe atualmente nenhuma função para a triagem a fim de detectar a presença deste alelo em indivíduos saudáveis; tal teste tem valores preditivos positivos e negativos e, portanto, geram estimativas altamente incertas sobre o risco futuro para a DA (Cap.18).

### Outros Genes Associados à DA

Um modificador significativo do risco de DA, o gene *TREM2* (que codifica o chamado receptor de desencadeamento expresso nas células mieloides 2, do inglês, *triggering receptor expressed on myeloid cells 2*), foi identificado por sequenciamento de exoma e de genoma completo em famílias com vários indivíduos afetados pela DA. Diversas variantes codificantes de sentido trocado moderadamente raras nesse gene estão associadas a um aumento de cinco vezes no risco de início da DA tardia, fazendo das mutações *TREM2* o segundo contribuinte mais comum para a DA clássica de início tardio, após o *APOE*  $\epsilon$ 4. As análises estatísticas sugerem que de quatro a oito genes adicionais podem modificar significativamente o risco para a DA, mas a sua identidade permanece obscura.

Embora estudos de associação de caso-controle (Cap. 10) de genes candidatos com ligações funcionais hipotéticas para a biologia conhecida da doença de Alzheimer tenham sugerido mais de 100 genes na DA, apenas um candidato, o gene *SORL1* (receptor relacionado à sortilina 1), foi implicado de forma consistente. Polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) no gene *SORL1* conferem um risco moderadamente aumentado em relação para a DA de menos que 1,5. A proteína codificada pelo *SORL1* afeta o processamento de APP e favorece a produção do peptídeo neurotóxico A $\beta$ <sub>42</sub> a partir da APP $\beta$ .

Análises de estudos de associação genômica ampla ([Cap. 10](#)), por outro lado, expandiram muito o número de genes que se acredita estarem associados à DA, identificando pelo menos nove novos SNPs associados a uma predisposição para formas não familiares de início tardio da DA. Os genes implicados por esses SNPs e seu papel causal na DA são atualmente incertos.

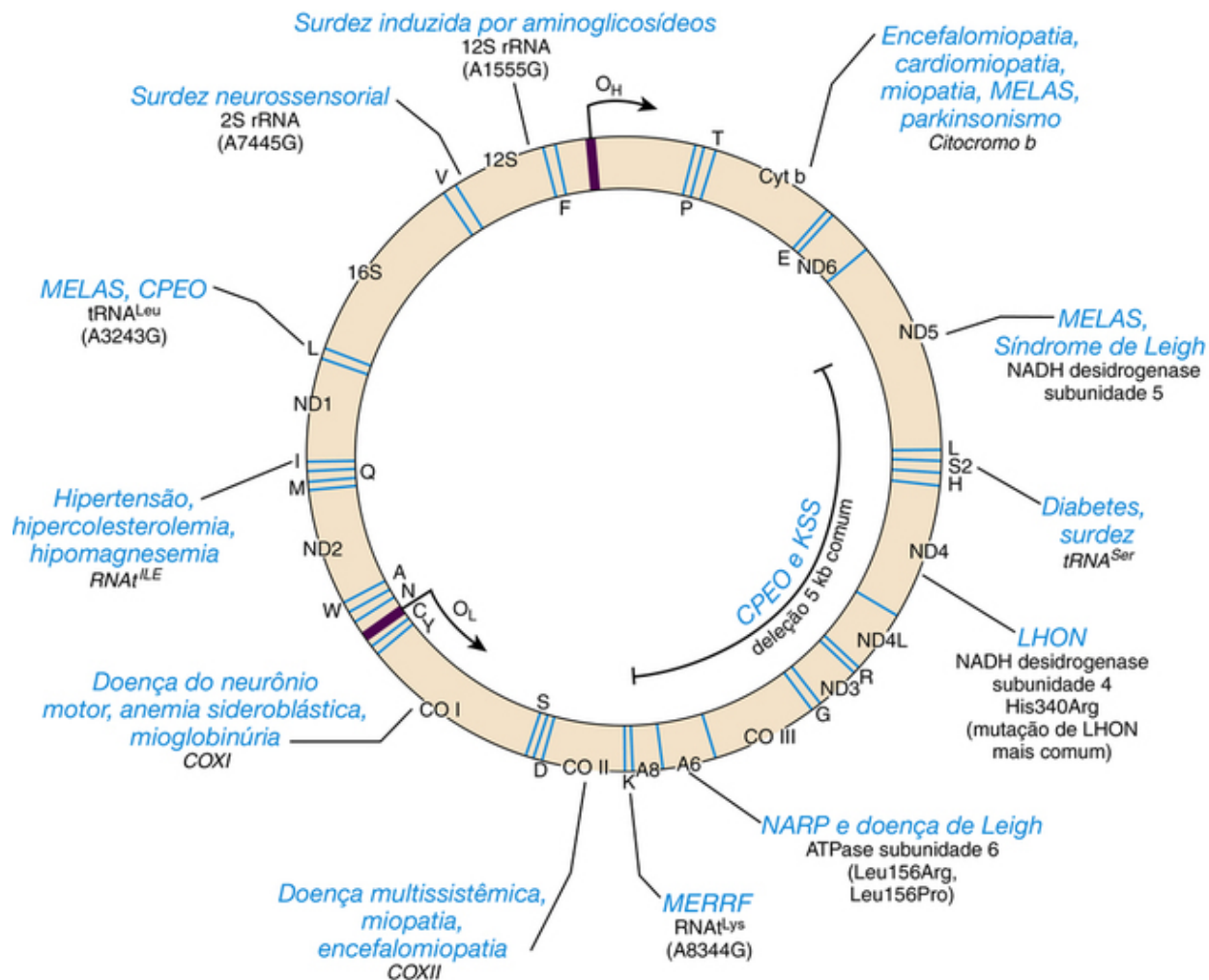
Em geral, tem se tornado claro que variantes genéticas alteraram o risco para a DA de pelo menos duas maneiras gerais: primeiramente, através da modulação da produção de A $\beta$ , e em segundo lugar, através do seu impacto sobre outros processos, incluindo a regulação da imunidade inata, inflamação, e a ressecção de agregados de proteína. Estas últimas variantes provavelmente modulam o risco de DA ao alterar o fluxo através de vias a jusante em resposta a uma determinada carga de A $\beta$ .

## Doenças do DNA Mitocondrial (DNAMt)

### O Genoma do DNAMt e a Genética das Doenças do DNAMt

As características gerais do genoma do DNAMt e as características da herança dos distúrbios causados pelas mutações nesse genoma foram descritas primeiramente nos [Capítulos 2 e 7](#), mas são revisadas brevemente aqui. O pequeno cromossomo de DNAMt circular está localizado dentro das mitocôndrias e contém apenas 37 genes ([Fig. 12-26](#)). A maioria das células têm pelo menos 1.000 moléculas de DNAMt, distribuídas entre centenas de mitocôndrias individuais, com várias cópias do DNAMt por mitocôndria. Além de codificar dois tipos de RNA ribossomais (RNAr) e 22 RNAs de transferência (RNAt), o DNAMt codifica 13 proteínas que são subunidades da fosforilação oxidativa.





**FIGURA 12-26** Mutações e deleções representativas no genoma do DNAm<sub>t</sub> humano, mostradas em relação à localização dos genes que codificam os 22 RNAs de transferência (RNAt), os dois RNAs ribossomais (RNAr), e as 13 proteínas do complexo de fosforilação oxidativa causadoras de doença. Alelos específicos são indicados quando eles são os alelos predominantes ou únicos associados ao fenótipo ou às características particulares do mesmo. O<sub>H</sub> e O<sub>L</sub> são as origens da replicação das duas cadeias de DNA, respectivamente; 12S, RNA ribossomal 12S; 16S, RNA ribossomal 16S. As localizações de cada um dos RNAt estão indicadas pelos códigos de uma única letra para os aminoácidos correspondentes. Os 13 polipeptídeos de fosforilação oxidativa codificados pelo DNA mitocondrial (DNAm<sub>t</sub>) incluem componentes do complexo I: NADH desidrogenase (ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5, e ND6); complexo III: citocromo b (cyt b); complexo IV: citocromo c oxidase I ou citocromo c (COI, COII, COIII); e complexo V: ATPase 6 e 8 (A6, A8). As abreviaturas de doenças usadas nesta figura (p. ex., MELAS, MERRF, LHON) estão explicadas na Tabela 12-7. CPEO, oftalmoplegia externa crônica progressiva; NARP, neuropatia, ataxia e retinite pigmentosa. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

Mutações no DNAm<sub>t</sub> podem ser herdadas por via materna (Cap. 7) ou adquiridas como mutações somáticas. As doenças que resultam de mutações no DNAm<sub>t</sub> apresentam padrões distintos de herança, devido a três características dos cromossomos mitocondriais:

- Segregação replicativa
- Homoplasmia e heteroplasmia
- Herança materna

**Segregação replicativa** refere-se ao fato de que múltiplas cópias de DNAm<sub>t</sub> em cada mitocôndria replicam e se separam aleatoriamente entre mitocôndrias recém-sintetizadas, que por sua vez são distribuídas aleatoriamente entre as células-filhas (Fig. 7-25). A **homoplasmia** é a situação em que uma célula contém uma população pura de DNAm<sub>t</sub> normal ou de DNAm<sub>t</sub> mutante, enquanto a **heteroplasmia** descreve a presença de uma mistura de moléculas de DNAm<sub>t</sub> normal e mutante dentro de uma célula. Assim, o fenótipo associado a uma mutação de DNAm<sub>t</sub> dependerá da proporção relativa de DNAm<sub>t</sub> mutante e normal nas células de um determinado tecido (Fig. 7-25). Como resultado, as doenças mitocondriais são geralmente caracterizadas por penetrância reduzida, expressão variável, e pleiotropia. A **herança materna** do DNAm<sub>t</sub> (discutida com mais detalhe no Cap. 7; Fig 7-24.) reflete o fato de que as mitocôndrias do esperma são geralmente eliminadas do embrião, de modo que o DNAm<sub>t</sub> é quase sempre inteiramente herdado da mãe; a herança paterna de doença de DNAm<sub>t</sub> é altamente incomum e foi bem documentada em apenas um caso.

Os 74 polipeptídeos do complexo de fosforilação oxidativa não codificados no DNAm<sub>t</sub> são codificados pelo genoma nuclear, o qual contém os genes para a maioria das cerca de 1.500 proteínas mitocondriais. Até o momento, mais de 100 genes

nucleares estão associados a distúrbios da cadeia respiratória. Assim, as doenças da fosforilação oxidativa resultam não só de mutações no genoma mitocondrial, mas também de mutações em genes que codificam componentes nucleares da fosforilação oxidativa. Além disso, o genoma nuclear codifica até 200 proteínas necessárias para a manutenção e expressão de genes mitocondriais ou para a montagem de complexos de proteínas da fosforilação oxidativa. As mutações em muitos desses genes nucleares também pode levar a distúrbios com características fenotípicas de doenças do DNAm, mas, claro que os padrões de herança nesses casos são aqueles normalmente vistos em mutações do genoma nuclear (Cap. 7).

## Mutações no DNAm e Doença

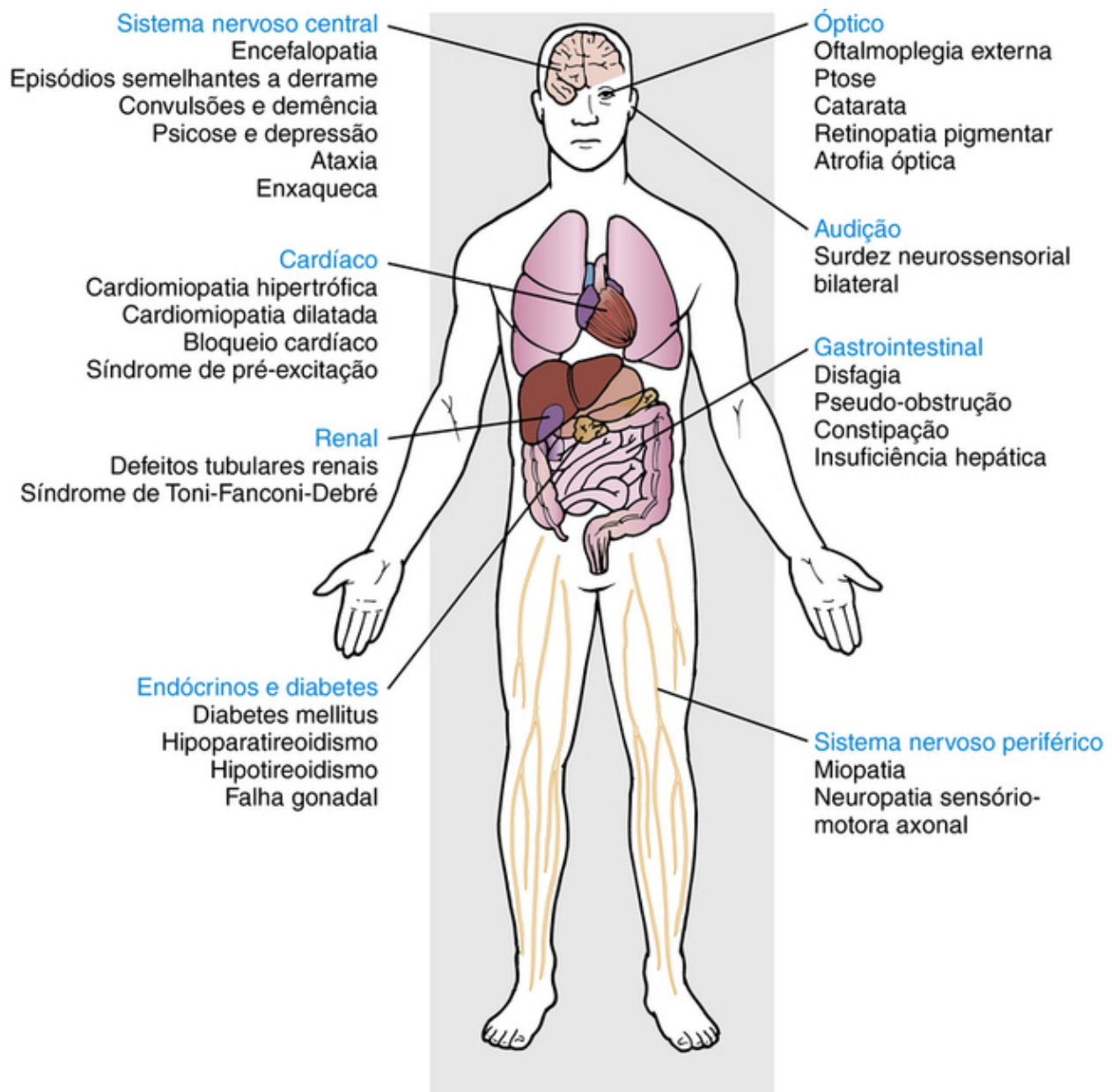
A sequência do genoma do DNAm e a presença de mutações patogênicas no DNAm são conhecidas há mais de 3 décadas. Inesperado e ainda inexplicável, no entanto, é o fato de o genoma do DNAm sofrer mutações a uma taxa de cerca de 10 vezes maior do que o DNA nuclear. A gama de doenças clínicas resultantes de mutações do DNAm é diversa (Fig. 12-27), embora a doença neuromuscular predomine. Mais de 100 rearranjos diferentes e aproximadamente 100 mutações pontuais diferentes relacionadas a doenças foram identificados no DNAm. A prevalência de mutações do DNAm foi mostrada, em pelo menos uma população, em cerca de um para 8.000. As mutações representativas e as doenças associadas a elas são apresentadas na Figura 12-26 e na Tabela 12-7. Em geral, como ilustrado nas seções a seguir, três tipos de mutações foram identificadas no DNAm: rearranjos que geram deleções ou duplicações da molécula de DNAm; mutações pontuais em genes de RNAt ou RNAr que prejudicam a síntese proteica mitocondrial; e mutações *missense* em regiões codificantes de genes que alteram a atividade de uma proteína da fosforilação oxidativa.

**Tabela 12-7**

### Exemplos Representativos de Distúrbios Devido a Mutações no DNA Mitocondrial e sua Herança

Doença	Fenótipos – Amplamente Neurológicos	Mutações mais Frequentes na Molécula de DNAm	Homoplasmia vs. Heteroplasmia	Herança
Neuropatia óptica hereditária de Leber (LHON)	Rápido início de cegueira no começo da vida adulta, devido à atrofia do nervo óptico; alguma recuperação da visão, dependendo da mutação. Forte viés sexual: ≈ 50% dos portadores do sexo masculino têm perda visual vs. ≈ 10% de indivíduos do sexo feminino	Substituição 1178A>G na subunidade ND4 do complexo I da cadeia transportadora de elétrons; essa mutação, com outras duas, é responsável por mais de 90% dos casos	Em grande parte homoplásmica	Materna
Síndrome de Leigh	Neurodegeneração progressiva de início precoce com hipotonia, atraso no desenvolvimento, atrofia óptica e anomalias respiratórias	Mutações pontuais no gene da subunidade 6 da ATPase	Heteroplásmica	Materna
MELAS	Miopatia, encefalomiopatia mitocondrial, acidose láctica, e episódios semelhantes a derrames; pode se apresentar como apenas diabetes mellitus e surdez	Mutações pontuais no RNAt <sup>Leu(UUR)</sup> , um ponto quente de mutação, mais comumente 3243A>G	Heteroplásmica	Materna
MERRF (Caso 33)	Epilepsia mioclônica com fibras musculares vermelhas rasgadas, miopatia, ataxia, surdez neurossensorial, demência	Mutações pontuais no RNAt <sup>Lys</sup> , mais comumente 8344A>G	Heteroplásmica	Materna
Surdez	Surdez neurossensorial progressiva, muitas vezes induzida por antibióticos aminoglicosídeos; surdez neurossensorial não síndrômica	Mutação 1555A>G no gene do RNAr 12S Mutação 7445A>G no gene do RNAr 12S	Homoplásmica Homoplásmica	Materna Materna
Síndrome de Kearns-Sayre (KSS)	Miopatia progressiva, oftalmoplegia externa progressiva de início precoce, cardiomiopatia, bloqueio cardíaco, ptose, pigmentação da retina, ataxia, diabetes	Grande deleção ≈ 5-kb (Fig. 12-26)	Heteroplásmica	Geralmente esporádica, provavelmente devido ao mosaicismismo gonadal materno

DNAm, DNA mitocondrial; RNAr, RNA ribossomal; RNAt, RNA de transferência.



**FIGURA 12-27** A gama de tecidos afetados e fenótipos clínicos associados a mutações no DNA mitocondrial (DNAmt).  
 Veja Fontes & Agradecimentos.

### Deleções do DNAmt e Doença

Na maioria dos casos, as deleções do DNAmt que causam doença, tais como a **síndrome de Kearns-Sayre** (Tabela 12-7), são herdadas de uma mãe não afetada, que carrega a deleção em seus ovócitos, mas geralmente não em outro local, um exemplo de mosaïcismo gonadal. Nessas circunstâncias, os distúrbios causados por deleções do DNAmt parecem ser esporádicos, pois os ovócitos que carregam a deleção são relativamente raros. Em cerca de 5% dos casos, a mãe pode ser afetada e transmitir a deleção. A razão para a baixa frequência de transmissão é incerta, mas pode simplesmente refletir o fato de que as mulheres com uma elevada proporção de DNAmt deletado em suas células germinativas têm um fenótipo tão grave que elas raramente se reproduzem.

A importância de deleções no DNAmt como uma causa de doença foi recentemente salientada pela descoberta de que deleções *somáticas* do DNAmt são comuns em neurônios dopaminérgicos da substância cinzenta, tanto em indivíduos com envelhecimento normal e possivelmente numa extensão maior em indivíduos com **doença de Parkinson**. As deleções que têm ocorrido em neurônios individuais de pacientes com doença de Parkinson têm demonstrado ser únicas, indicando que a expansão clonal das diferentes deleções de DNAmt ocorreu em cada célula. Esses resultados indicam que as mutações somáticas do DNAmt podem contribuir para a perda de neurônios dopaminérgicos no envelhecimento da substância cinzenta e elevam a possibilidade de que a forma esporádica comum da doença de Parkinson resulte de um acúmulo maior do que o normal de moléculas de DNAmt deletadas na substância cinzenta, com uma deficiência conseqüentemente mais grave da fosforilação oxidativa. Atualmente, os mecanismos que levam a deleções e às suas expansões clonais não são inteiramente claros.

## Mutações nos Genes de RNAt e RNAr do Genoma Mitocondrial

As mutações nos genes de RNAt e RNAr não codificantes do DNAm<sub>t</sub> são de importância geral porque mostram que nem todas as mutações causadoras de doenças em humanos ocorrem em genes que codificam proteínas (**Caso 33**). Mais de 90 mutações patogênicas foram identificadas em 20 dos 22 genes RNAt do DNAm<sub>t</sub>, e elas são a causa mais comum de alterações da fosforilação oxidativa em humanos (**Fig. 12-26** e **Tabela 12-7**). Os fenótipos resultantes são aqueles geralmente associados aos defeitos do DNAm<sub>t</sub>. As mutações incluem 18 substituições no gene RNAt<sup>leu(UUR)</sup>, algumas das quais, como a mutação comum 3243A>G, causam um fenótipo referido como **MELAS**, um acrônimo para a expressão em inglês referente à mieloencefalopatia mitocondrial com acidose láctica e episódios semelhantes a derrame (*mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes*) (**Fig. 12-26** e **Tabela 12-7**); outras estão predominantemente associadas à miopatia. Um exemplo de uma mutação do RNAr 12S é uma substituição homoplásmica (**Tabela 12-7**), que provoca a **surdez pré-lingual neurosensorial** após a exposição aos antibióticos aminoglicosídeos (**Fig. 12-26**).

## Os Fenótipos das Doenças Mitocondriais

### Fosforilação Oxidativa e Doenças do DNAm<sub>t</sub>

As mutações mitocondriais geralmente afetam aqueles tecidos que dependem da fosforilação oxidativa intacta para satisfazer as altas demandas de energia metabólica. Esse foco fenotípico reflete o papel fundamental do complexo de fosforilação oxidativa na produção de energia celular. Consequentemente, a diminuição da produção de ATP caracteriza muitas doenças do DNAm<sub>t</sub> e é provável que estejam subjacentes à disfunção celular e à morte celular que ocorrem em doenças do DNAm<sub>t</sub>. A evidência de que outros mecanismos que diminuem a produção de energia contribuem para a patogênese das doenças do DNAm<sub>t</sub> é indireta ou fraca, mas a geração de espécies reativas de oxigênio como um subproduto da fosforilação oxidativa com defeito pode também contribuir para a patologia dos distúrbios do DNAm<sub>t</sub>. Um corpo de provas substancial indica que existe um **efeito de limiar fenotípico** relacionado à heteroplasmia do DNAm<sub>t</sub> (**Fig 7-25**); um limiar crítico na proporção de moléculas de DNAm<sub>t</sub> que transportam a mutação prejudicial deve ser excedido em células do tecido afetado antes que a doença clínica se torne evidente. O limite parece ser de aproximadamente 60% para distúrbios decorrentes de deleções no DNAm<sub>t</sub> e de aproximadamente 90% para as doenças devido a outros tipos de mutações.

O sistema neuromuscular é o mais frequentemente afetado por mutações no DNAm<sub>t</sub>; as consequências podem incluir encefalopatia, miopatia, ataxia, degeneração da retina e perda de função dos músculos oculares externos. A miopatia mitocondrial é caracterizada pelas chamadas fibras (musculares) rotas vermelhas, um fenótipo histológico devido à proliferação de mitocôndrias estrutural e bioquimicamente anormais nas fibras musculares. O espectro da doença mitocondrial é amplo e, como ilustrado na **Figura 12-27**, pode incluir disfunção hepática, insuficiência da medula óssea, deficiência das células das ilhotas pancreáticas e diabetes, surdez, e outros distúrbios.

### Heteroplasmia e doença mitocondrial

A heteroplasmia contribui para três características gerais de distúrbios genéticos do DNAm<sub>t</sub> que são de importância para a sua patogênese.

- *Em primeiro lugar*, as mulheres portadoras de mutações pontuais heteroplásmicas do DNAm<sub>t</sub> ou de duplicações do DNAm<sub>t</sub> geralmente transmitem alguns DNAm<sub>t</sub> mutantes aos seus descendentes.
- *Em segundo lugar*, a fração de moléculas de DNAm<sub>t</sub> mutante herdada por cada criança de uma mãe portadora é muito variável. Isto ocorre porque o número de moléculas de DNAm<sub>t</sub> entre cada ovócito é reduzida antes de ser subsequentemente amplificada para o enorme total observado em ovócitos maduros. Essa restrição e subsequente amplificação do DNAm<sub>t</sub> durante a ovocitogênese é denominada de **gargalo genético mitocondrial**. Em consequência, a variabilidade na porcentagem de moléculas de DNAm<sub>t</sub> mutantes observadas na prole de uma mãe portadora de uma mutação de DNAm<sub>t</sub> surge, pelo menos em parte, a partir da amostragem de apenas um subconjunto de DNAm<sub>t</sub> durante a ovocitogênese.
- *Em terceiro lugar*, apesar da variabilidade no grau de heteroplasmia surgindo do gargalo, as mães com uma proporção elevada de moléculas de DNAm<sub>t</sub> mutante são mais propensas a ter uma prole clinicamente afetada do que as mães com uma proporção mais baixa, como seria previsto a partir da amostragem aleatória de moléculas de DNAm<sub>t</sub> através do gargalo. No entanto, mesmo as mulheres que carregam baixas proporções de moléculas de DNAm<sub>t</sub> patogênico têm algum risco de ter uma criança afetada, pois o gargalo pode levar à amostragem e à expansão subsequente, por acaso, até mesmo de uma espécie rara de DNAm<sub>t</sub> mutante.

### Varição Fenotípica Inexplicada e Inesperada em Doenças do DNAm<sub>t</sub>

Como pode ser visto na **Tabela 12-7**, a heteroplasmia é a regra para muitas doenças do DNAm<sub>t</sub>. A heteroplasmia leva a uma fração imprevisível e variável de DNAm<sub>t</sub> mutante presente em qualquer tecido particular, sem dúvida, sendo responsável por grande parte da pleiotropia e da expressividade variável das mutações do DNAm<sub>t</sub> (**Quadro**). Um exemplo é proporcionado pelo que parece ser a mutação mais comum do DNAm<sub>t</sub>, a substituição 3243A>G no gene do RNAt<sup>leu(UUR)</sup> mencionado no contexto do fenótipo MELAS. Essa mutação leva predominantemente ao diabetes e à surdez em algumas

famílias, enquanto em outras provoca uma doença chamada **oftalmoplegia externa crônica progressiva**. Além disso, uma fração muito pequena (<1%) de diabetes mellitus na população em geral, particularmente em japoneses, tem sido atribuída à substituição de 3243A>G.

É provável que a maior parte da variação fenotípica observada entre os pacientes com mutações nos genes mitocondriais seja explicada pelo fato de que as proteínas dentro da mitocôndria são extremamente heterogêneas entre os tecidos, diferindo em média cerca de 25% entre quaisquer dos órgãos. Essa heterogeneidade molecular é refletida na heterogeneidade bioquímica. Por exemplo, enquanto a maior parte da energia gerada pelas mitocôndrias do cérebro deriva da oxidação de cetonas, as mitocôndrias do músculo esquelético utilizam preferencialmente ácidos graxos como combustível.

### Interações entre os Genomas Mitocondrial e Nuclear

Uma vez que tanto o genoma mitocondrial quanto o nuclear contribuem com polipeptídeos para a fosforilação oxidativa, não é surpresa que os fenótipos associados a mutações nos genes nucleares sejam frequentemente indistinguíveis daqueles decorrentes das mutações do DNAm. Além disso, o DNAm depende de muitas proteínas codificadas pelo genoma nuclear para sua replicação e para a manutenção de sua integridade. Evidências genéticas têm destacado a natureza direta da relação entre os genomas nuclear e DNAm. A primeira indicação dessa interação foi fornecida pela identificação da síndrome de **deleções autossomicamente transmitidas do DNAm**. Mutações em pelo menos dois genes têm sido associadas com esse fenótipo. A proteína codificada por um desses genes, divertidamente chamado de Twinkle, parece ser uma helicase ou primase de DNA. O produto do segundo gene é uma DNA polimerase  $\gamma$  específica da mitocôndria, cuja perda de função está associada às síndromes de deleção múltipla dominante e recessiva.

Um segundo distúrbio autossômico, a **síndrome de depleção do DNAm**, é o resultado de mutações em qualquer um dos seis genes nucleares que leva a uma redução do número de cópias do DNAm (tanto por mitocôndria quanto por célula) em vários tecidos. Vários dos genes afetados codificam proteínas necessárias para manter os grupos de nucleotídeos ou para metabolizar adequadamente os nucleotídeos na mitocôndria. Por exemplo, tanto o fenótipo miopático quanto o hepatocerebral resultam de mutações nos genes nucleares para timidina quinase e desoxiguanosina quinase mitocondriais. Uma vez que as mutações nos seis genes identificados até o momento explicam apenas uma minoria de indivíduos afetados, genes adicionais também devem estar envolvidos neste distúrbio.

Para além dos conhecimentos que esses distúrbios raros fornecem sobre a biologia da mitocôndria, a identificação dos genes afetados facilita o aconselhamento genético e o diagnóstico pré-natal em algumas famílias e sugere, em alguns casos, os tratamentos potenciais. Por exemplo, o nível de timidina no sangue é marcadamente aumentado na deficiência de fosforilase de timidina, o que sugere que a redução dos níveis de timidina pode ter benefícios terapêuticos, caso um excesso de substrato, em vez de uma deficiência do produto, desempenhe um papel importante na patogênese da doença.

### Genes Nucleares Podem Modificar o Fenótipo das Doenças do DNAm

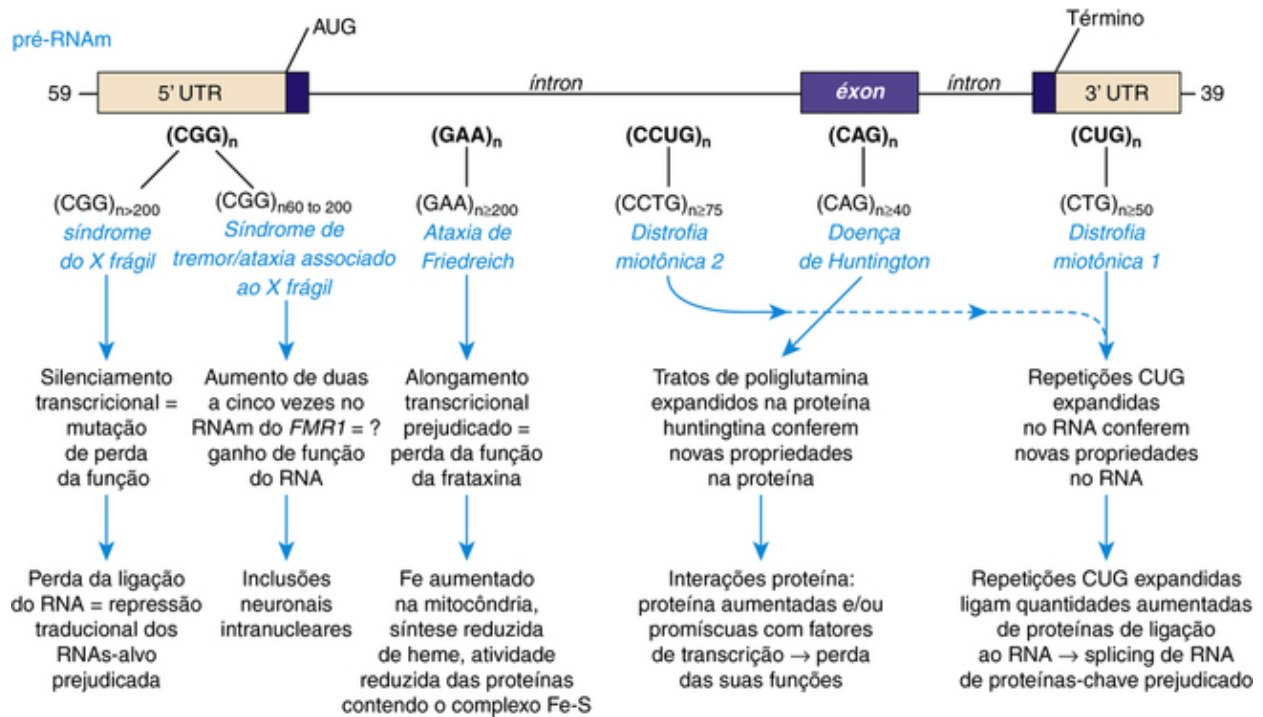
Embora a heteroplasmia seja uma fonte importante de variabilidade fenotípica em doenças do DNAm (Quadro), fatores adicionais, incluindo alelos em *loci* nucleares, também devem desempenhar um papel. Fortes evidências para a existência de tais fatores são fornecidas por famílias que carregam mutações associadas à **neuropatia óptica hereditária de Leber (LHON)**; veja a [Tabela 12-7](#), que é geralmente homoplásmica (afastando assim a heteroplasmia como explicação para a variação fenotípica observada). A LHON é expressa fenotipicamente como a rápida perda bilateral e indolor da visão central devido à atrofia do nervo óptico em adultos jovens ([Tabela 12-7](#) e [Fig. 12-26](#)). Dependendo da mutação, há frequentemente certa recuperação da visão, mas os mecanismos patogênicos da lesão do nervo óptico não são claros.

Há um aumento marcante e inexplicável na penetrância da doença em indivíduos do sexo masculino; aproximadamente 50% dos portadores do sexo masculino, e apenas aproximadamente 10% dos portadores do sexo feminino para uma mutação LHON desenvolvem sintomas. A variação na penetrância e a tendência masculina do fenótipo LHON são determinadas por um haplótipo no braço curto do cromossomo X. O gene nesse *locus* modificador codificado pelo núcleo ainda não foi identificado, mas ele está contido, particularmente, em um haplótipo que é comum na população em geral. Quando o haplótipo protetor é transmitido de uma mãe tipicamente não afetada a indivíduos que herdaram a mutação LHON do DNAm dessa mãe, o fenótipo é substancialmente melhorado. Assim, os homens que carregam o haplótipo de alto risco ligado ao X, bem como uma mutação LHON do DNAm (diferente daquela associada ao fenótipo LHON mais severo [veja a [Tabela 12-7](#)]), apresentam 35 vezes mais probabilidade de desenvolver insuficiência visual do que aqueles que carregam o haplótipo de baixo risco ligado ao X. Essas observações são de importância geral, pois demonstram o potente efeito que os *loci* modificadores podem ter sobre o fenótipo de uma doença monogênica.

### Doenças decorrentes da Expansão de Sequências Repetidas Instáveis

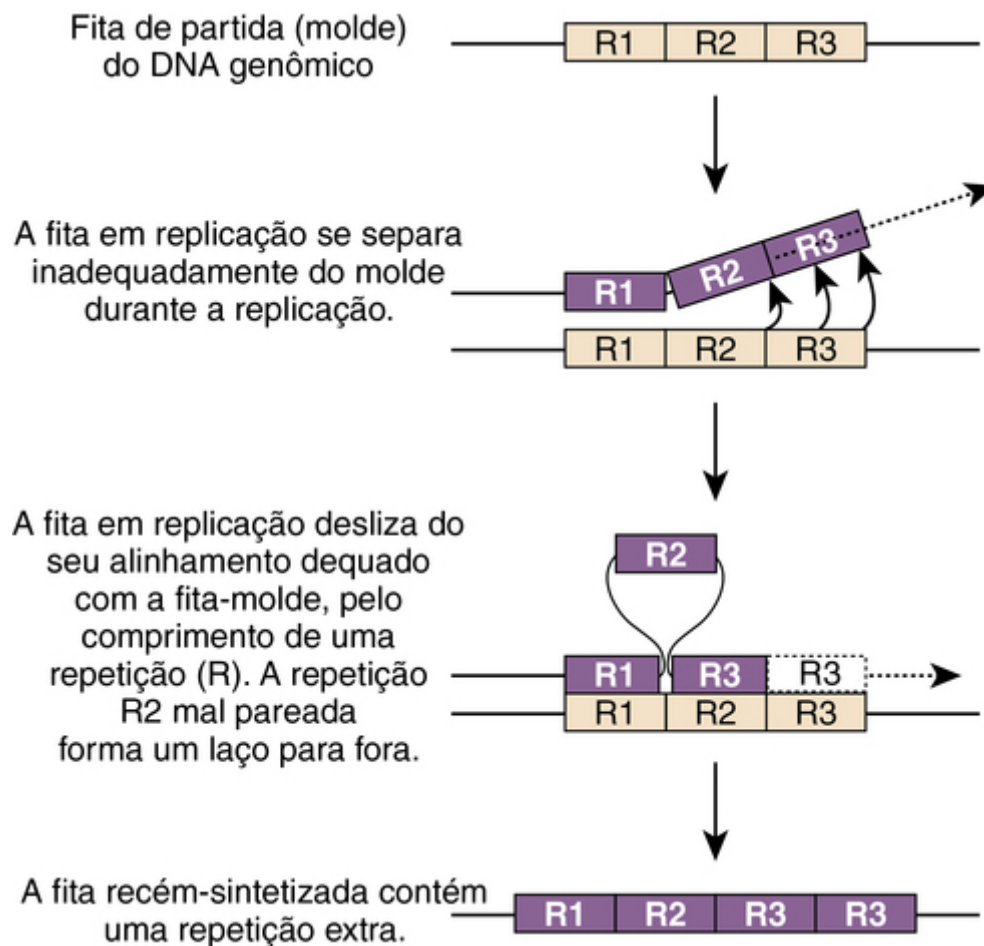
O padrão de herança de doenças devido a expansões de repetições instáveis foi apresentado no [Capítulo 7](#), com ênfase na genética incomum desse grupo único de quase 20 distúrbios. Essas características incluem a natureza instável e dinâmica das mutações, que são decorrentes da expansão, no interior da região *transcrita* do gene afetado, de sequências repetidas tais como o códon para glutamina (CAG) na **doença de Huntington (Caso 24)** e mais de um grupo de distúrbios neurodegenerativos chamados de **ataxias espinocerebelares**, ou devido à expansão de trinucleotídeos em regiões *não*

codificantes de RNAs, incluindo o CGG no **síndrome do X frágil** (Caso 17), o GAA na **ataxia de Friedreich**, e o CUG na **distrofia miotônica 1** (Fig. 12-28).



**FIGURA 12-28** As localizações das expansões de repetições de trinucleotídeos e a sequência de cada trinucleotídeo em cinco doenças de repetições de trinucleotídeos representativas, mostradas em um esquema de um RNA pré-mensageiro genérico (RNA<sub>m</sub>). Também está indicado o número mínimo de repetições na sequência de DNA do gene afetado associado à doença. O efeito da expansão sobre o RNA ou proteína mutante também está indicado. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

Embora as primeiras doenças de repetição de nucleotídeos a serem descritas sejam todas devido à expansão de repetições de três nucleotídeos, outros distúrbios foram agora descobertos resultando da expansão de repetições mais longas; estes incluem um tetranucleotídeo (CCTG) na **distrofia miotônica 2** (a genocópia próxima da distrofia miotônica 1) e um pentanucleotídeo (ATTCT) na atrofia espinocerebelar 10. Uma vez que o gene afetado é passado de geração em geração, o número de repetições pode expandir-se para um grau que é patogênico, em última análise, interferindo na expressão e função normais do gene. A expansão intergeracional das repetições explica o fenômeno da **antecipação**, o aparecimento da doença em idade mais precoce à medida que é transmitida através de uma família. O mecanismo bioquímico mais comumente proposto para a base da expansão de sequências repetidas instáveis é o deslizamento por pareamento incorreto (Fig. 12-29). Notavelmente, as expansões das repetições parecem ocorrer tanto nas células em proliferação, tais como as espermatogônias (durante a meiose), quanto nas células somáticas não proliferativas, como os neurônios. Consequentemente, a expansão pode ocorrer, dependendo da doença, tanto durante a replicação do DNA (como mostrado na Fig. 12-29), quanto na manutenção do genoma (i.e., o reparo do DNA).



**FIGURA 12-29** O mecanismo de deslizamento por pareamento incorreto que se acredita ser a base da expansão de repetições instáveis, tal como a repetição (CAG) $_n$  encontrada na doença de Huntington e nas ataxias espinocerebelares.

Uma inserção ocorre quando a fita recém-sintetizada dissocia-se aberrantemente da fita-molde durante a síntese da replicação. Quando a nova fita se reassocia com a fita-molde, a nova fita pode deslizar para se alinhar com uma cópia incorreta da repetição. Uma vez que a síntese de DNA é retomada, a molécula desalinhada irá conter uma ou mais cópias extras da repetição (dependendo do número de cópias de repetição que deslizaram no evento de desalinhamento).

Os fenótipos clínicos da doença de Huntington e da síndrome do X frágil são apresentados no [Capítulo 7](#) e em seus respectivos Casos. Por estarem se tornando gradualmente aparentes, em particular no caso da síndrome do X frágil, as doenças devido à expansão de repetições instáveis são principalmente neurológicas; as apresentações clínicas incluem ataxia, defeitos cognitivos, demência, nistagmo, parkinsonismo e espasticidade. No entanto, outros sistemas são por vezes envolvidos, como ilustrado por algumas das doenças discutidas aqui.

### Patogênese das Doenças Decorrentes das Expansões de Repetições Instáveis

As doenças de expansão de repetições instáveis são diferentes em seus mecanismos patogênicos e podem ser divididas em três classes, consideradas nas seções a seguir.

- *Classe 1*: doenças decorrentes da expansão de repetições não codificantes que causam uma perda da expressão de proteínas
- *Classe 2*: distúrbios resultantes de expansões de repetições não codificantes que conferem propriedades novas ao RNA
- *Classe 3*: doenças decorrentes da expansão de repetições de um códon como CAG (para glutamina) que confere novas propriedades à proteína afetada

### Classe 1: Doenças Decorrentes da Expansão de Repetições Não Codificantes que Causam uma Perda da Expressão da Proteína

#### Síndrome do X Frágil

Na síndrome do X frágil ligada ao cromossomo X, a expansão da repetição CGG na região não traduzida 5' (UTR) do gene *FMR1* para mais de 200 cópias leva à metilação excessiva de citosinas no promotor, uma modificação epigenética do DNA que silencia a transcrição do gene (Figs. 7-22 e 12-28). Notavelmente, o silenciamento epigenético parece ser mediado pelo próprio RNAm do *FMR1* mutante. A etapa inicial no silenciamento do *FMR1* resulta do RNAm do *FMR1* contendo a repetição CGG transcrita, hibridizando com a sequência de repetição CGG complementar do gene *FMR1* para formar um

duplex RNA:DNA. Os mecanismos que mantêm em seguida o silenciamento do gene *FMR1* são desconhecidos. A perda da proteína do retardo mental do X frágil (FMRP) é a causa da deficiência intelectual, *deficit* de aprendizagem e as características não neurológicas do fenótipo clínico, incluindo macro-orquidismo e displasia do tecido conjuntivo (**Caso 17**). A FMRP é uma proteína de ligação ao RNA que se associa com polirribossomos para suprimir a tradução de proteínas a partir dos seus alvos de RNA. Esses alvos parecem estar envolvidos na estrutura do citoesqueleto, na transmissão sináptica, e na maturação neuronal, e a perturbação desses processos é provavelmente a base da deficiência intelectual e das alterações de aprendizagem observadas nos pacientes com X frágil. Por exemplo, a FMRP parece regular a tradução de proteínas necessárias para a formação de sinapses, pois os cérebros de indivíduos com a síndrome do X frágil têm densidade aumentada das espinhas dendríticas imaturas anormalmente longas. Além disso, a FMRP se localiza nas espinhas dendríticas, onde pelo menos uma das suas funções é a de regular a plasticidade sináptica, a capacidade de alterar a força de uma conexão sináptica, um processo fundamental para a aprendizagem e a memória.

### Síndrome de Ataxia/Tremor do X Frágil

Notavelmente, a patogênese da doença em indivíduos com uma expansão menos pronunciada das repetições CGG (60 a 200 repetições) no gene *FMR1* causa a clinicamente distinta **síndrome do tremor/ataxia do X frágil (FXTAS, do inglês fragile X tremor/ataxia syndrome)**, que é completamente diferente da própria síndrome do X frágil. Apesar de a diminuição da eficiência traducional prejudicar a expressão da proteína FMRP na FXTAS, essa redução não pode ser responsável pela doença, porque os homens com mutações completas e perda quase completa da função do gene *FMR1* nunca desenvolvem FXTAS. Em vez disso, evidências sugerem que a FXTAS resulta de níveis de duas a cinco vezes aumentados de RNAm do *FMR1* presentes nesses pacientes, representando uma mutação de ganho de função. Esse RNA patogênico leva à formação de inclusões neuronais intranucleares, a assinatura celular da doença.

## Classe 2: Distúrbios Resultantes de Expansões de Repetições Não Codificantes que Conferem Propriedades Novas ao RNA

### Distrofia Miotônica

A distrofia miotônica 1 (DM1) é uma condição autossômica dominante com o fenótipo mais pleiotrópico de todos os distúrbios de expansão de repetições instáveis. Além da miotonia, ela é caracterizada por perda de massa muscular e fraqueza, defeitos da condução cardíaca, atrofia testicular, resistência à insulina, e catarata; existe também uma forma congênita com deficiência intelectual. A doença resulta de uma expansão CTG na 3' UTR do gene *DMPK*, que codifica uma proteína quinase (Fig. 12-28). A distrofia miotônica 2 (DM2) é também um traço autossômico dominante e compartilha a maioria das características clínicas da DM1, exceto que não há apresentação congênita associada. A DM2 é devida à expansão de um tetranucleotídeo CCTG no primeiro íntron do gene que codifica a proteína dedo de zinco 9 (Fig. 12-28). Os fenótipos notavelmente semelhantes de DM1 e DM2 sugerem que elas tenham uma patogênese em comum. Uma vez que as expansões instáveis ocorrem nas regiões não codificantes de dois genes diferentes que codificam proteínas não relacionadas, acredita-se que a própria expansão trinucleotídica CTG (e a expansão resultante de CUG no RNAm) seja subjacente a uma patogênese mediada por RNA.

Qual é o mecanismo pelo qual as grandes extensões de trinucleotídeos CUG, na região não codificante dos genes, levam aos fenótipos DM1 e DM2? A patogênese parece resultar da ligação das repetições CUG a proteínas de ligação ao RNA. Consequentemente, a pleiotropia que exemplifica a doença pode refletir a ampla gama de proteínas de ligação ao RNA, às quais as repetições CUG se ligam. Muitas das proteínas de ligação ao RNA sequestradas pelo número excessivo de repetições CUG são reguladoras de eventos de *splicing*, e na verdade, mais do que uma dúzia de pré-RNAs distintos têm sido demonstrados tendo alterações de *splicing* em pacientes com DM1, incluindo a troponina T cardíaca (que pode explicar as anomalias cardíacas) e o receptor de insulina (que pode explicar a resistência à insulina). Assim, as distrofias miotônicas são referidas como *spliceopatias*. Mesmo que o nosso conhecimento dos processos anormais subjacentes à DM1 e à DM2 ainda seja incompleto, essas compreensões moleculares oferecem a esperança de que uma terapia racional de molécula pequena possa ser desenvolvida.

## Classe 3: Doenças Decorrentes da Expansão Repetida de um Códon que Confere Novas Propriedades à Proteína Afetada

### Doença de Huntington

A doença de Huntington é um distúrbio neurodegenerativo autossômico dominante associado à coreia, atetose (movimentos de contorção descontrolados das extremidades), perda da cognição, e anomalias psiquiátricas (**Caso 24**). O processo patológico é causado pela expansão — para mais de 40 repetições — do códon CAG no gene *HD*, resultando em longos tratos de poliglutamina na proteína mutante, a huntingtina (Figs. 7-20 e 7-21). A maior parte das evidências sugere que as proteínas mutantes com sequências de poliglutamina expandidas são mutantes com novas propriedades (Cap. 11), com o trato expandido conferindo características novas na proteína que danifica populações específicas de neurônios e produz neurodegeneração por meio de mecanismos tóxicos únicos. A característica celular mais marcante da doença é a presença de agregados insolúveis de proteína mutante (bem como outros polipeptídeos) agrupados em inclusões nucleares em neurônios.



Acredita-se que os agregados sejam resultantes de respostas celulares normais para o dobramento incorreto da huntingtina que resulta da expansão da poliglutamina. Dramático como essas inclusões é, no entanto, que sua formação pode realmente ser protetora em vez de patogênica.

Um modelo unificador da morte neuronal mediada pela expansão da poliglutamina na huntingtina não está claro. Muitos processos celulares demonstram ser prejudicados pela huntingtina mutante na sua forma solúvel ou agregada, incluindo a transcrição, o transporte vesicular, a fissão mitocondrial, e a transmissão e plasticidade sinápticas. Em última análise, os eventos primários e mais críticos na patogênese serão identificados, talvez guiados por análises genéticas que conduzem à correção do fenótipo. Por exemplo, verificou-se que huntingtina mutante associa-se de forma anormal a uma proteína de fissão mitocondrial, a proteína GTPase relacionada com a dinamina 1 (Drp1) em pacientes com doença de Huntington, levando a múltiplas anomalias mitocondriais. Notavelmente, em camundongos, esses defeitos são resgatados pela redução da atividade GTPase da DRP1, sugerindo que a DRP1 seria um alvo terapêutico para o distúrbio e que as anomalias mitocondriais desempenham papéis importantes na doença de Huntington.

## Comentários finais

Apesar do progresso substancial em nossa compreensão dos eventos moleculares subjacentes à patologia das doenças de expansão de repetições instáveis, estamos apenas começando a dissecar a complexidade patogênica dessas condições importantes. É claro que o estudo de modelos animais desses distúrbios está fornecendo uma compreensão essencial nesses transtornos, compreensão que, sem dúvida, levará a terapias para prevenir ou reverter a patogênese desses distúrbios de desenvolvimento lento em um futuro próximo. Começaremos a explorar os conceitos relevantes para o tratamento da doença no próximo capítulo.

## Referências gerais

Hamosh A: Online mendelian inheritance in man, OMIM. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Baltimore, MD, Johns Hopkins University. Available at <http://omim.org/>.

Lupski J.R., Stankiewicz P., eds. Genomic disorders: the genomic basis of disease. Totowa, NJ: Humana Press, 2006.

Pagon RA, Adam MP, Bird TD, et al.: GeneReviews. Expert-authored summaries about diagnosis, management and genetic counseling for specific inherited conditions, University of Washington. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/>.

Rimoin, D. L., Connor, J. M., Pyeritz, R. E., et al. *Emery and Rimoin's essential medical genetics*. Waltham, MA: Academic Press (Elsevier); 2013.

Strachan, T., Read, A. P. *Human molecular genetics*, ed 4. New York: Garland Science; 2010.

Valle D, Beaudet AL, Vogelstein B, et al., editors: The online metabolic & molecular bases of inherited disease (OMMBID), <http://www.ommbid.com/>.

## Referências para tópicos específicos

Bettens, K., Sleegers, K., Van Broeckhoven, C. Genetic insights in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2013; 12:92–104.

Blau, N., Hennermann, J. B., Langenbeck, U., et al. Diagnosis, classification, and genetics of phenylketonuria and tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>) deficiencies. *Mol Genet Metab.* 2011; 104:S2–S9.

Byers, P. H., Pyott, S. M. Recessively inherited forms of osteogenesis imperfecta. *Ann Rev Genet.* 2012; 46:475–497.

Chamberlin, J. S. Duchenne muscular dystrophy models show their age. *Cell.* 2010; 143:1040–1042.

Chillon, M., Casals, T., Mercier, B., et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med.* 1995; 332:1475–1480.

Colak, D., Zaninovic, N., Cohen, M. S., et al. Promoter-bound trinucleotide repeat mRNA drives epigenetic silencing in fragile X syndrome. *Science.* 2014; 343:1002–1005.

Cutting, G. R. Modifier genes in Mendelian disorders: the example of cystic fibrosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2010; 1214:57–69.

Flanigan, K. M. The muscular dystrophies. *Semin Neurol.* 2012; 32:255–263.

Fong, L. G., Young, S. G. PCSK9 function and physiology. *J Lipid Res.* 2008; 49:1152–1156.

Goldstein, J. L., Brown, M. S. Molecular medicine: the cholesterol quartet. *Science.* 2001; 292:1310–1312.

Gu, Y. Y., Harley, I. T.W., Henderson, L. B., et al. IFRD1 polymorphisms in cystic fibrosis with potential link to altered neutrophil function. *Nature.* 2009; 458:1039–1042.

Janciauskiene, S. M., Bals, R., Koczulla, R., et al. The discovery of alpha1-antitrypsin and its role in health and disease. *Respir Med.* 2011; 105:1129–1139.

Jonsson, T., Atwal, J. K., Steinberg, S., et al. A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature.* 2012; 488:96–99.

Kathiresan, S., Melander, O., Guiducci, C., et al. Six new loci associated with blood low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol or triglycerides in humans. *Nat Genet.* 2008; 40:189–197.

- Koopman, W. J., Willems, P. H., Smeitink, J. A. Monogenic mitochondrial disorders. *N Engl J Med.* 2012; 366:1132–1141.
- Laine, C. M., Joeng, K. S., Campeau, P. M., et al. WNT1 mutations in early-onset osteoporosis and osteogenesis imperfecta. *N Engl J Med.* 2013; 368:1809–1816.
- Lopez, C. A., Cleary, J. D., Pearson, C. E. Repeat instability as the basis for human diseases and as a potential target for therapy. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010; 11:165–170.
- Moskowitz, S. M., James, F., Chmiel, J. F., et al. Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and CFTR-related disorders. *GeneTests.* 2008; 10:851–868.
- Raal, F. J., Santos, E. D. Homozygous familial hypercholesterolemia: current perspectives on diagnosis and treatment. *Atherosclerosis.* 2012; 223:262–268.
- Ramsey, B. W., Banks-Schlegel, S., Accurso, F. J., et al. Future directions in early cystic fibrosis lung disease research: an NHLBI workshop report. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012; 185:887–892.
- Schon, E. A., DiMauro, S., Hirano, M. Human mitochondrial DNA: roles of inherited and somatic mutations. *Nat Rev Genet.* 2012; 13:878–890.
- Selkoe, D. J. Alzheimer's disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011; 3:a004457.
- Sosnay, P. R., Siklosi, K. R., Van Goor, F., et al. Defining the disease liability of mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Nature Genet.* 2013; 45:1160–1167.
- Vafai, S. B., Mootha, V. K. Mitochondrial disorders as windows into an ancient organelle. *Nature.* 2012; 491:374–383.
- Zoghbi, H. Y., Orr, H. T. Pathogenic mechanisms of a polyglutamine-mediated neurodegenerative disease, spinocerebellar ataxia type 1. *J Biol Chem.* 2009; 284:7425–7429.

## Websites úteis

### Bases de Dados de Mutações

Clinical and functional translation of CFTR (CFTR2 project).

<http://www.cftr2.org/>

Collagen mutation database.

<http://www.le.ac.uk/genetics/collagen/>

Cystic fibrosis and CFTR gene mutation database.

<http://www.gene.sickkids.on.ca/cftr/>

Human mitochondrial genome database.

<http://www.gen.emory.edu/mitomap.html>

Phenylalanine hydroxylase mutation database.

<http://www.pahdb.mcgill.ca>

The Human Gene Mutation Database.

<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>

## Problemas

- Um alelo mutante no *locus* do receptor de LDL (levando à hipercolesterolemia familiar) codifica uma proteína alongada que é aproximadamente 50.000 Da maior do que o receptor normal de 120.000 Da. Indique pelo menos três mecanismos que poderiam explicar essa anomalia. Aproximadamente, quantos nucleotídeos extras precisariam ser traduzidos para adicionar 50.000 Da à proteína?
- As mutações de ganho de função *PSCK9* autossômicas dominantes são as que causam fenocópias de deficiência da hipercolesterolemia familiar, ou genocópias, da hipercolesterolemia familiar devido a mutações autossômicas no gene do receptor da LDL? Explique sua resposta.
- Ao discutirmos as alterações de nucleotídeos encontrados até o momento na região codificante do gene *CF*, afirmamos que algumas das mudanças (as modificações *missense*) encontradas até agora são apenas mutações “supostamente” causadoras de doenças. Quais critérios teriam que ser preenchidos antes de se definir se uma mudança de nucleotídeos é patogênica e não um polimorfismo benigno?
- Johnny, de 2 anos de idade, está com *deficit* de crescimento. As investigações mostram que, embora ele tenha achados clínicos de FC, sua concentração de cloreto no suor está normal. A concentração de cloreto de suor é normal em menos de 2% dos pacientes com FC. Seu pediatra e os pais querem saber se a análise de DNA pode determinar se ele de fato tem FC.
  - A análise do DNA seria útil neste caso? Descreva resumidamente as etapas envolvidas na obtenção de um diagnóstico por DNA para a FC.
  - Se ele tem FC, qual a probabilidade de que ele seja homocigoto para a mutação  $\Delta F508$ ? (Suponha que 85% de mutações de CF pudessem ser detectadas no momento em que você é consultado e que os pais dele são do norte da Europa, onde o alelo  $\Delta F508$  tem uma frequência de 0,70).
  - Se ele não tem a mutação  $\Delta F508$ , isso afasta o diagnóstico? Explique.
- James é a única pessoa em sua família afetada pela DMD. Ele tem um irmão não afetado, chamado Joe. A análise do DNA revela que James tem uma deleção no gene *DMD* e que Joe recebeu o mesmo cromossomo X materno, mas sem uma deleção. Qual aconselhamento genético você daria aos pais sobre o risco de recorrência da DMD em uma futura gravidez?

6. O DMD tem uma alta taxa de mutação, mas não mostra nenhuma variação étnica na frequência. Use seu conhecimento sobre o gene e a genética da DMD para sugerir porque esse distúrbio é igualmente comum em todas as populações.
7. Uma menina de 3 anos e meio de idade, T.N., foi observada tendo cada vez mais dificuldade em se levantar após sentar no chão. Seu nível sérico de creatina quinase está muito elevado. Embora seja do sexo feminino, o diagnóstico clínico presuntivo é de distrofia muscular de Duchenne. Mulheres com DMD são raras. Identifique três mecanismos de mutação que poderiam explicar a ocorrência de DMD em uma mulher.
8. Em pacientes com osteogênese imperfeita, explique porque as mutações *missense* nas posições de glicina na tripla-hélice de colágeno tipo I estão confinadas a um número limitado de outros resíduos de aminoácidos (Ala, Ser, Cys, Arg, Val, Asp).
9. A glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) é codificada por um gene ligado ao X. As mutações de perda da função da G6PD podem levar à hemólise no caso de exposição a alguns fármacos, a grãos de favas e a outros compostos (Cap. 18). A eletroforese de hemolisados de hemácias mostra que algumas mulheres têm duas bandas de G6PD, mas os homens têm uma única banda. Explique essa observação e o possível significado patológico e genético do achado de duas bandas em uma mulher afro-americana.
10. Uma criança de 2 anos de idade, filha de pais que são primos em primeiro grau, tem um atraso no desenvolvimento inexplicado. Uma pesquisa de vários parâmetros bioquímicos indica que ela tem uma deficiência de quatro enzimas lisossômicas. Explique como uma única mutação autossômica recessiva pode causar a perda da função de quatro atividades enzimáticas. Por que é mais provável que a criança tenha uma condição autossômica recessiva, se ela tiver uma condição genética de fato?
11. O efeito de um alelo dominante negativo ilustra um mecanismo geral pelo qual as mutações em uma proteína causam doença de herança dominante. Que outro mecanismo está comumente associado à dominância em genes que codificam as subunidades de proteínas multiméricas?
12. Os efeitos clínicos de mutações em uma proteína de manutenção são frequentemente limitados a um ou a alguns tecidos, frequentemente aos tecidos nos quais a proteína é abundante e desempenha uma função especializada. Identifique e discuta exemplos que ilustrem essa generalização, e explique porque eles se encaixam.
13. A relação entre o local em que uma proteína é expressa e o local de alteração patológica numa doença genética pode ser imprevisível. Além disso, o tecido que não tem a proteína mutante pode até não ser afetado pela doença. Dê exemplos deste último fenômeno e discuta-os.
14. Os dois alelos da pseudodeficiência de hex A são Arg-247Trp e Arg249Trp. Qual é a razão provável para que as substituições *missense* desses alelos estejam tão próximas na proteína?
15. Por que as mutações de ganho de função nas proteínas, como observadas nas mutações autossômicas dominantes PCSK9 que causam hipercolesterolemia, quase sempre são mutações *missense*?
16. Quais são as possíveis explicações para a presença de três alelos predominantes para a doença de Tay-Sachs em judeus asquenaze? A presença de três alelos, e a frequência relativamente alta da doença de Tay-Sachs nessa população, necessariamente está de acordo com a hipótese da vantagem do heterozigoto ou com a hipótese de efeito fundador?
17. Todos os *loci* conhecidos e associados à doença de Alzheimer não explicam o risco genético implicado. Identifique pelo menos três outras fontes de variação genética que podem explicar a contribuição genética para a DA.
18. Proponha uma terapia molecular que possa bloquear o efeito das expansões CUG nos RNAs da distrofia miotônica 1 e 2 e que reduza a associação de proteínas de ligação ao RNA nas repetições CUG. Antecipe alguns possíveis efeitos indesejáveis de sua terapia proposta.