

Introdução ao Genoma Humano

Compreender a organização, a variação e a transmissão do **genoma humano** é essencial para a avaliação do papel da genética na medicina, assim como dos princípios que estão originando-se da genômica e da medicina personalizada. Com a disponibilização da sequência do genoma humano e da crescente conscientização do papel da variação do genoma nas doenças, é agora possível começar a explorar o impacto dessa variação na saúde humana em uma ampla escala. A comparação de genomas individuais ressalta a primeira grande lição deste livro — *cada indivíduo tem sua própria constituição de produtos gênicos, produzida em resposta às contribuições combinadas da sequência do genoma e de um conjunto particular de exposições ambientais e experiências*. Como destacado no capítulo anterior, essa percepção reflete o que Garrod denominou de *individualidade química* há mais de um século e fornece a base conceitual para a prática da genômica e da medicina personalizada.

Os avanços na tecnologia genômica e a consequente explosão do conhecimento e da informação provenientes do **Projeto Genoma Humano** estão desempenhando um papel cada vez mais transformador na integração e na aplicação de conceitos e nas descobertas em genética para a prática médica.

O GENOMA HUMANO E A BASE CROMOSSÔMICA DA HEREDITARIEDADE

A avaliação da importância da genética para a medicina exige uma compreensão da natureza do material hereditário, de como ele é empacotado no genoma humano e de como ele é transmitido de uma célula a outra durante a divisão celular e ainda de geração a geração durante a reprodução. O genoma humano é composto por grandes quantidades de ácido desoxirribonucleico (DNA), o qual contém na sua estrutura a informação genética necessária para especificar todos os aspectos da embriogênese, do desenvolvimento, do crescimento, do metabolismo e da reprodução — essencialmente todos os aspectos que fazem do ser humano um organismo funcional. Toda célula nucleada do corpo carrega sua própria cópia do genoma humano, que contém, de acordo com as estimativas atuais, cerca de 20.000 a 50.000 **genes** (Quadro adiante). Os genes, que neste momento definimos simplesmente como unidades funcionais de informação genética, são codificados no DNA do genoma, organizados em várias organelas em

ANÁLISE DO CROMOSSOMO E DO GENOMA NA MEDICINA CLÍNICA

A análise cromossômica e genômica tem se tornado um procedimento diagnóstico importante na medicina clínica. Conforme descrito mais detalhadamente nos capítulos subsequentes, essas aplicações incluem:

- **Diagnóstico clínico.** Várias condições médicas, incluindo algumas que são comuns, estão associadas a mudanças no número ou na estrutura dos cromossomos e requerem a análise cromossômica ou genômica para o diagnóstico e aconselhamento genéticos (Caps. 5 e 6).
- **Identificação de genes.** Um dos principais objetivos da genética médica e da genômica atualmente é a identificação de genes específicos e a elucidação de seus papéis na saúde e nas doenças. Esse tópico é mencionado várias vezes, sendo discutido em detalhes no Capítulo 10.
- **Genômica do câncer.** Alterações genômicas e cromossômicas em células somáticas estão envolvidas no início e na progressão de muitos tipos de câncer (Cap. 15).
- **Tratamento de doenças.** A avaliação da integridade, da composição e do estado de diferenciação do genoma é crucial para o desenvolvimento de células-tronco pluripotentes paciente-específicas para fins terapêuticos (Cap. 13).
- **Diagnóstico pré-natal.** A análise cromossômica e genômica é um procedimento essencial no diagnóstico pré-natal (Cap. 17).

forma de bastonete, denominadas **cromossomos**, no núcleo de cada célula. A influência de genes e da genética no estado de saúde e doença é profunda, e suas raízes encontram-se nas informações codificadas no DNA que compõe o genoma humano.

Cada espécie possui um complemento cromossômico característico (**cariótipo**) em termos de número, morfologia e conteúdo dos cromossomos que compõem seu genoma. Os genes estão dispostos linearmente ao longo dos cromossomos, sendo que cada gene tem uma posição precisa ou **locus**. Um **mapa genético** é o mapa da localização genômica dos genes e é característico de cada espécie e individual dentro da espécie.

O estudo dos cromossomos, da sua estrutura e da sua hereditariedade é denominado **citogenética**. A ciência da citogenética humana data de 1956, quando foi estabelecido, pela primeira vez, que o número normal

de cromossomos humanos é 46. Desde então, muito se aprendeu sobre os cromossomos humanos, sua estrutura e composição normais, e a identidade dos genes que eles contêm, bem como sobre suas inúmeras e variadas anormalidades.

Com exceção das células que se desenvolvem em gametas (a **linhagem germinativa**), todas as células que contribuem para um corpo são chamadas de **células somáticas** (*soma*, corpo). O genoma contido no núcleo de células somáticas humanas consiste em 46 cromossomos, constituídos de 24 tipos diferentes dispostos em 23 pares (Fig. 2-1). Desses 23 pares, 22 são semelhantes em homens e mulheres e são chamados de **autossomos**, numerados em ordem pelo seu tamanho aparente do maior até o menor. O par restante compreende os dois tipos diferentes de **cromossomos sexuais**: um cromossomo X e um Y no sexo masculino e dois cromossomos X no sexo feminino. Cada cromossomo carrega um subconjunto diferente de genes dispostos linearmente ao longo do seu DNA. Os membros de um par de cromossomos (chamados de **cromossomos homólogos** ou **homólogos**) carregam informações genéticas equivalentes; isto é, eles possuem os mesmos genes na mesma ordem. Em qualquer *locus* específico, no entanto,

os homólogos tanto podem ser idênticos como podem variar ligeiramente em sequência; essas diferentes formas de um gene são chamadas de **alelos**. Um membro de cada par de cromossomos é herdado do pai, e o outro, da mãe. Normalmente, os membros de um par de autossomos são microscopicamente indistinguíveis um do outro. No sexo feminino, os cromossomos sexuais, os dois **cromossomos X**, são igualmente indistinguíveis. No sexo masculino, no entanto, os cromossomos sexuais são diferentes. Um deles é um cromossomo X, idêntico ao X das mulheres, herdado por um homem a partir de sua mãe e transmitido às suas filhas; o outro, o **cromossomo Y**, é herdado do seu pai e transmitido aos seus filhos homens. No Capítulo 6, quando exploramos as bases cromossômicas e genômicas da doença, iremos observar algumas exceções à regra simples e quase universal de que as mulheres são XX e os homens são XY.

Além do genoma nuclear, uma pequena mas importante parte do genoma humano reside em mitocôndrias no citoplasma (Fig. 2-1). O cromossomo mitocondrial, descrito posteriormente neste capítulo, possui várias características incomuns que o distinguem do restante do genoma humano.

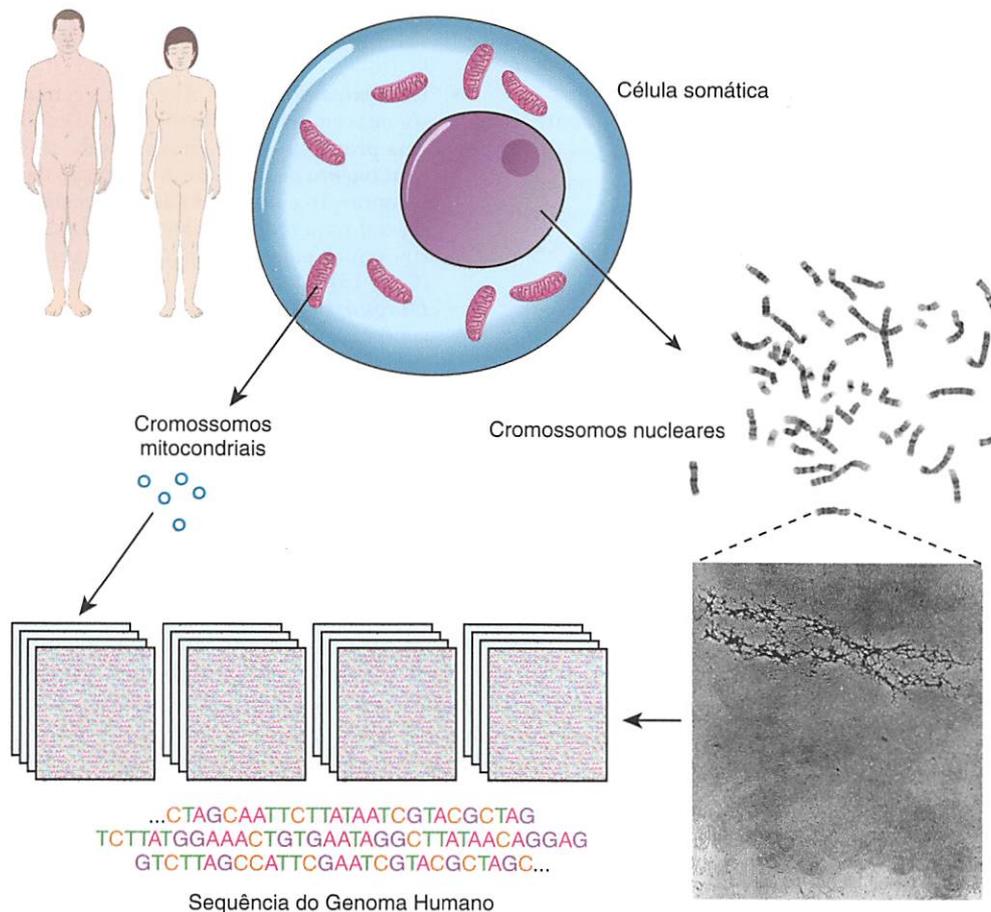


Figura 2-1 Genoma humano, codificado tanto nos cromossomos nucleares quanto nos cromossomos mitocondriais. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

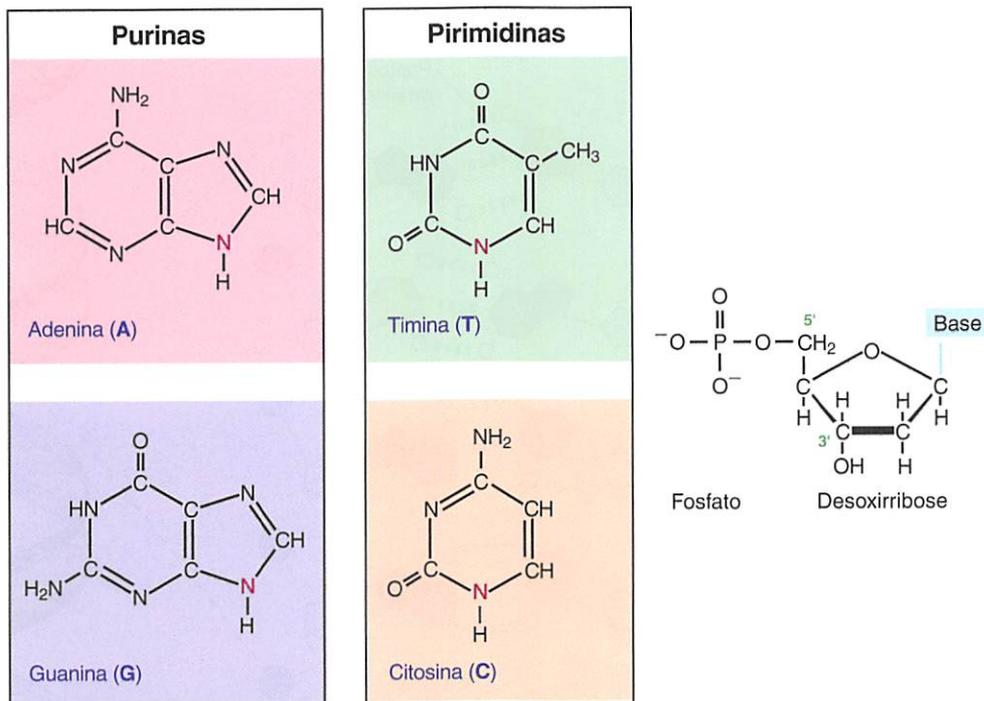


Figura 2-2 As quatro bases do DNA e a estrutura geral de um nucleotídeo no DNA. Cada uma das quatro bases liga-se à desoxirribose (por meio do nitrogênio mostrado em magenta) e a um grupo fosfato para formar os nucleotídeos correspondentes.

GENES NO GENOMA HUMANO

O que é um gene? E quantos genes nós temos? Essas perguntas são mais difíceis de responder do que pode parecer.

A palavra *gene*, introduzida pela primeira vez em 1908, tem sido utilizada em muitos contextos diferentes, desde que as características essenciais de “caracteres unitários” hereditários foram primeiramente delineadas por Mendel há mais de 150 anos. Para os médicos (e, na verdade, para Mendel e outros primeiros geneticistas), um gene pode ser definido por seu impacto observável em um organismo e em sua transmissão estatisticamente determinada de geração a geração. Para médicos geneticistas, um gene é reconhecido clinicamente no contexto de uma variante observável que conduz a uma doença clínica característica, sendo que atualmente são reconhecidas cerca de 5.000 dessas condições (Cap. 7).

O Projeto Genoma Humano forneceu uma base mais sistemática para delinear os genes humanos, contando com a análise da sequência de DNA, em vez de com a perspicácia clínica e os estudos de família isoladamente; na verdade, essa foi uma das razões mais convincentes para iniciar o projeto no final da década de 1980. Contudo, mesmo com o produto da sequência terminado em 2003, ficou evidente que falta habilidade para reconhecer características da sequência que apontam para a existência ou identidade de um gene. Interpretar a sequência do genoma humano e relacionar sua variação com a biologia humana tanto na saúde como nas

doenças é, portanto, um desafio permanente para a pesquisa biomédica.

Embora o catálogo final de genes humanos permaneça como um alvo indefinido, reconhecemos dois tipos gerais de genes — aqueles cujo produto são uma proteína e aqueles cujos produtos são um RNA funcional.

- O número de genes que codificam proteína — reconhecidos pelas características no genoma que serão discutidas no Capítulo 3 — é estimado em cerca de 20.000 a 25.000. Neste livro, utilizamos aproximadamente 20.000 como número, e o leitor deve reconhecer que isto pode ser impreciso ou subestimado.
- Além disso, no entanto, está claro há várias décadas que o produto final de alguns genes não é uma proteína, mas um RNA transcrito a partir da sequência do DNA. Existem muitos tipos diferentes de genes de RNA (tipicamente chamados de genes não codificadores, para distingui-los dos genes codificadores de proteínas), e estima-se atualmente que existam, pelo menos, outros 20.000 a 25.000 genes de RNA não codificadores em todo o genoma humano.

Assim, em geral — e dependendo do que se quer dizer com o termo — o número total de genes no genoma humano é de cerca de 20.000 a 50.000. No entanto, o leitor compreenderá que este continua sendo um alvo em movimento, sujeito à evolução de definições, ao aumento da capacidade tecnológica e à precisão analítica, aos avanços na informática e à medicina digital, e a uma anotação mais completa do genoma.

Estrutura do DNA: Uma Breve Revisão

Antes de a organização do genoma humano e de seus cromossomos ser considerada em detalhes, é necessário avaliar a natureza do DNA que compõe o genoma. O DNA é uma macromolécula de ácido nucleico polimérica, composta

por três tipos de unidades: um açúcar de cinco carbonos, a desoxirribose; uma base contendo nitrogênio; e um grupo fosfato (Fig. 2-2). As bases são de dois tipos, purinas e pirimidinas. No DNA, existem duas bases de purinas, adenina (A) e guanina (G), e duas bases de pirimidina, timina (T) e

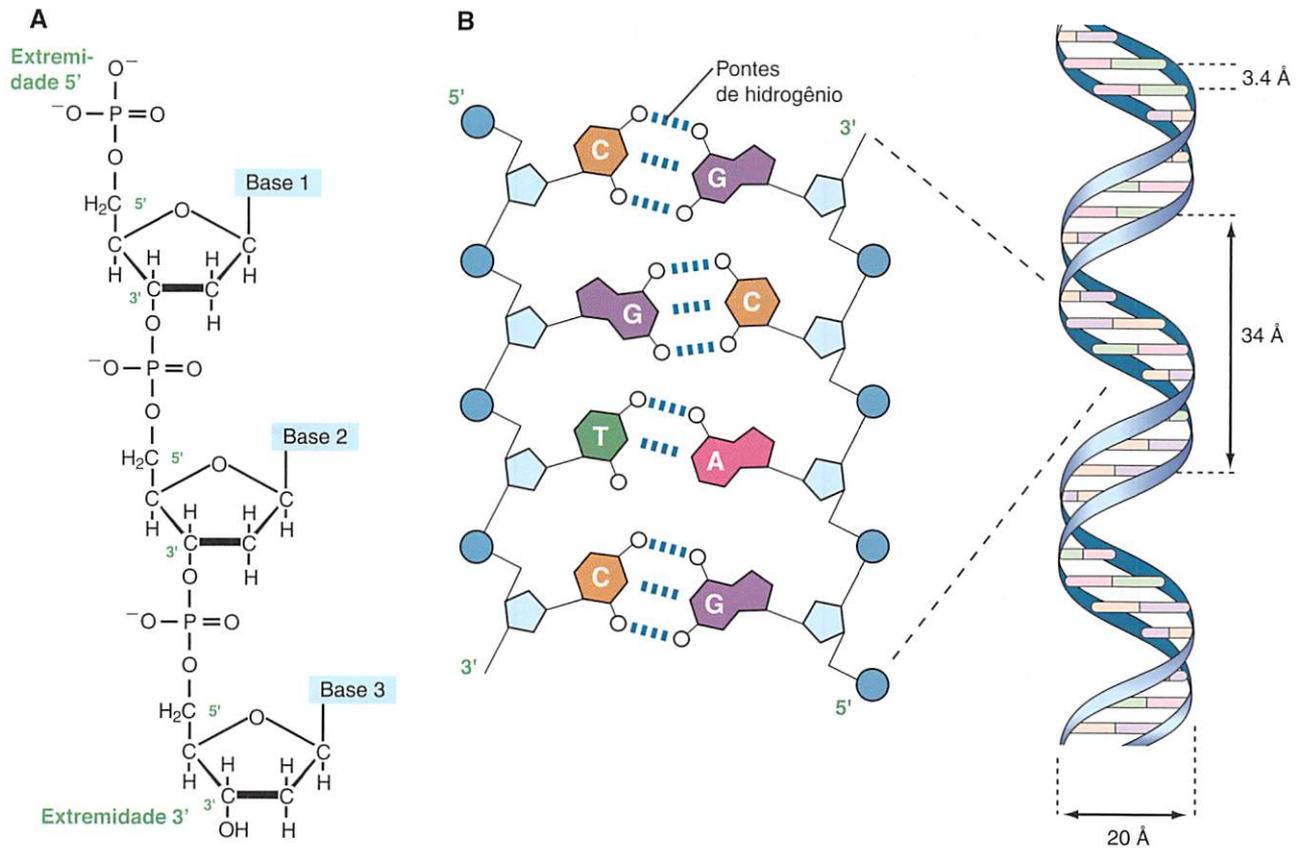


Figura 2-3 A estrutura do DNA. **A**, Uma porção de uma cadeia polinucleotídica de DNA, mostrando as ligações fosfodiéster 3'-5' que ligam os nucleotídeos adjacentes. **B**, Modelo de dupla hélice do DNA, como proposto por Watson e Crick. Os "degraus" horizontais representam as bases pareadas. Diz-se que a hélice é voltada para a direita porque a fita que vai do lado esquerdo inferior para o lado direito superior cruza a fita oposta. A parte detalhada da figura ilustra as duas fitas complementares de DNA, mostrando os pares de bases AT e GC. Note que a orientação das duas fitas é antiparalela. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

citossina (C). Os nucleotídeos, cada um composto por uma base, um fosfato e uma fração de açúcar, polimerizam-se em longas cadeias polinucleotídicas por ligações 5'-3' fosfodiéster formadas entre unidades adjacentes de desoxirribose (Fig. 2-3A). No genoma humano, essas cadeias polinucleotídicas existem sob a forma de uma dupla hélice (Fig. 2-3B) que pode ter centenas de milhões de nucleotídeos de comprimento, no caso dos maiores cromossomos humanos.

A estrutura anatômica do DNA carrega a informação química que possibilita a transmissão exata de informação genética de uma célula para suas células-filhas e de uma geração para a próxima. Ao mesmo tempo, a estrutura primária de DNA especifica as sequências de aminoácidos das cadeias polipeptídicas de proteínas, como descrito no próximo capítulo. O DNA tem características especiais que lhe conferem essas propriedades. O estado nativo de DNA, como elucidado por James Watson e Francis Crick em 1953, é uma dupla hélice (Fig. 2-3B). A estrutura helicoidal assemelha-se a uma escada em espiral com giro para a direita, na qual suas duas cadeias polinucleotídicas seguem em direções opostas, mantidas juntas por ligações de hidrogênio entre os pares de bases: T de uma cadeia pareada com o A da outra e G com C. A natureza específica das informações genéticas codificadas no genoma humano encontra-se na sequência de Cs, As,

Gs e Ts nas duas fitas da dupla hélice ao longo de cada um dos cromossomos, tanto do núcleo como da mitocôndria (Fig. 2-1). Devido à natureza complementar das duas fitas de DNA, o conhecimento da sequência de bases nucleotídicas de uma das fitas automaticamente possibilita determinar a sequência de bases na outra fita. A estrutura de dupla fita das moléculas de DNA permite que elas se repliquem com precisão pela separação das duas fitas, seguida da síntese de duas novas fitas complementares, de acordo com a sequência da fita molde original (Fig. 2-4). Da mesma maneira, quando necessário, a complementaridade das bases permite o reparo eficaz e correto de danos às moléculas de DNA.

Estrutura de Cromossomos Humanos

A composição dos genes no genoma humano, bem como os determinantes da sua expressão, é especificada no DNA dos 46 cromossomos humanos no núcleo juntamente com o cromossomo mitocondrial. *Cada cromossomo humano é constituído por um único DNA de dupla hélice contínuo*; ou seja, cada cromossomo é uma molécula de DNA de dupla fita longa e o genoma nuclear consiste, por conseguinte, em 46 moléculas de DNA lineares, totalizando mais de 6 bilhões de pares de nucleotídeos (Fig. 2-1).

Contudo, os cromossomos não são duplas-hélices de DNA desprotegidas. Dentro de cada célula, o genoma é empacotado como **cromatina**, na qual o DNA genômico está conjugado com várias classes de proteínas especializadas. Exceto durante a divisão celular, a cromatina é distribuída por todo o núcleo e seu aspecto é relativamente homogêneo à aparência ao microscópio. Quando uma célula se divide, no entanto, o seu genoma condensa-se, aparecendo como

cromossomos microscopicamente visíveis. Os cromossomos são, então, visíveis como estruturas discretas somente nas células em divisão, embora eles mantenham a sua integridade entre as divisões celulares.

A molécula de DNA de um cromossomo existe na cromatina como um complexo com uma família de proteínas cromossômicas básicas denominadas *histonas*. Essa unidade fundamental interage com um grupo heterogêneo de proteínas não histonas, que estão envolvidas no estabelecimento de um ambiente espacial e funcional adequado para garantir o comportamento cromossômico normal e a expressão gênica apropriada.

Cinco tipos principais de histonas desempenham um papel crucial no empacotamento da cromatina. Duas cópias de cada uma das quatro histonas principais H2A, H2B, H3 e H4 constituem um octâmero, ao redor do qual um segmento da dupla hélice de DNA se enrola, como uma linha ao redor de um carretel (Fig. 2-5). Aproximadamente 140 pares de bases (pb) do DNA estão associados a cada cerne das histonas, formando quase duas voltas ao redor do octâmero. Após um curto (de 20 a 60 pb) “espaçamento” no segmento de DNA, forma-se o próximo núcleo de complexo de DNA, e assim por diante, fornecendo à cromatina a aparência de “colar de contas”. Cada complexo de DNA com histonas centrais é chamado de **nucleossomo** (Fig. 2-5), que é a unidade estrutural básica da cromatina, e cada um dos 46 cromossomos humanos contém várias centenas de milhares até mais de um milhão de nucleossomos. Uma quinta histona, a H1, parece se ligar ao DNA na extremidade de cada nucleossomo, na região de espaçamento internucleossômico. A quantidade de DNA associada ao nucleossomo central, em conjunto com a região de espaçamento, é de aproximadamente 200 pb.

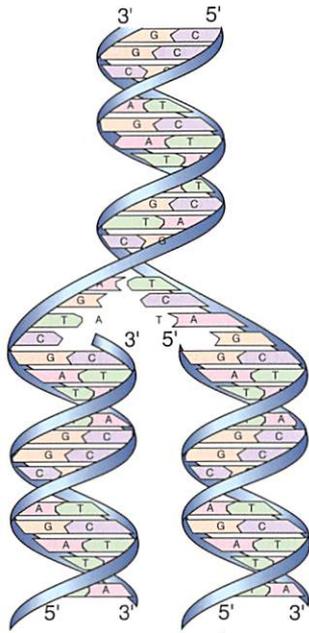


Figura 2-4 Replicação de uma dupla hélice de DNA, resultando em duas moléculas-filhas idênticas, cada uma composta por uma fita parental e uma nova fita sintetizada.

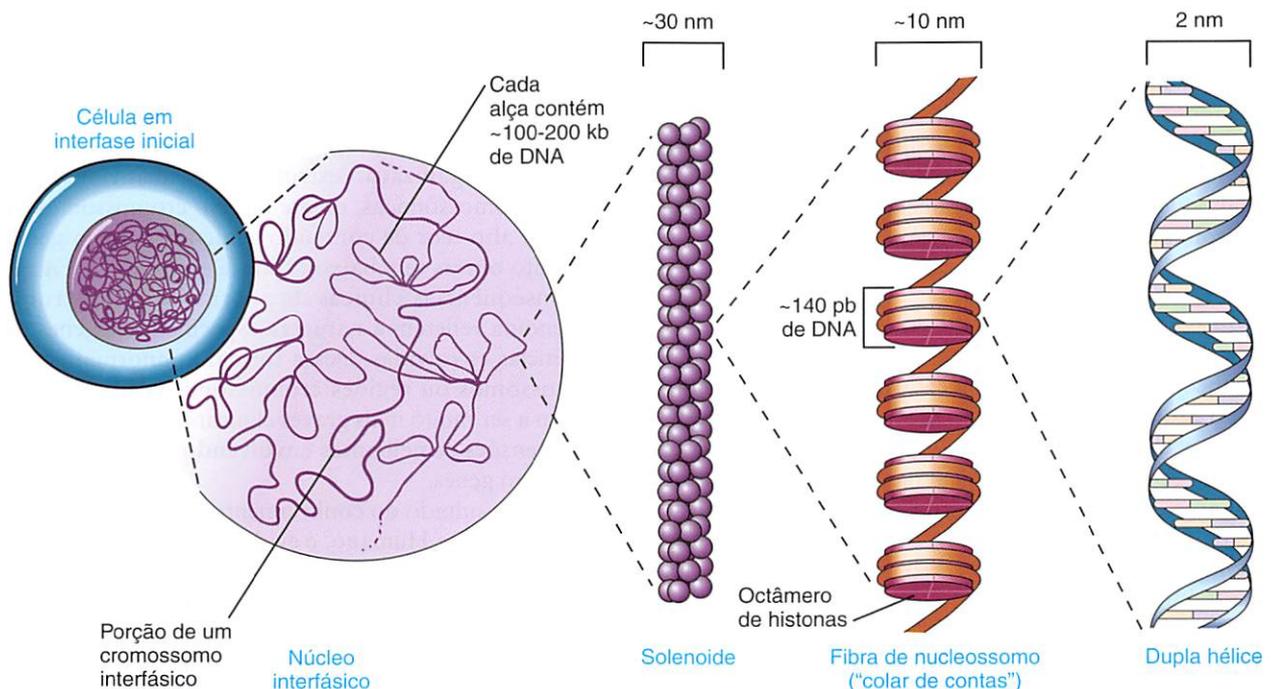


Figura 2-5 Níveis hierárquicos do empacotamento da cromatina em um cromossomo humano.

Além dos tipos principais, várias histonas especializadas podem substituir a H3 ou a H2A e conferir características específicas ao DNA genômico naquele local. As histonas também podem ser modificadas por alterações químicas e estas modificações podem alterar as propriedades dos nucleossomos que as contêm. Como discutido em mais detalhes no Capítulo 3, o padrão dos tipos de histonas principais e especializadas e suas modificações podem variar de um tipo celular para outro e acredita-se que especifique como o DNA é empacotado e quão acessível ele está às moléculas reguladoras que determinam a expressão do gene ou outras funções do genoma.

Durante o ciclo celular, como veremos mais adiante neste capítulo, os cromossomos passam por estágios ordenados de condensação e descondensação. No entanto, mesmo quando os cromossomos estão em seu estado mais descondensado, em um estágio do ciclo celular chamado de *intérfase*, o DNA empacotado na cromatina está substancialmente mais condensado do que estaria como uma dupla hélice natural, livre de proteínas. Além disso, os longos cordões de nucleossomos são, por si mesmos, compactados em uma estrutura helicoidal secundária, uma fibra cilíndrica “solenóide” (do grego *solenoides*, em forma de cilindro) que parece ser a unidade fundamental de organização da cromatina (Fig. 2-5). Os solenóides, por sua vez, são empacotados em alças ou domínios fixados em intervalos de aproximadamente 100.000 pb (o equivalente a 100 pares de quilobases [kb], porque 1 kb = 1.000 pb) de uma **proteína-arcabouço** dentro do núcleo. Especula-se que essas alças sejam unidades funcionais do genoma e que os pontos de inserção de cada alça sejam fixados ao longo do DNA cromossômico. Como veremos, um nível de controle da expressão gênica depende de como o DNA e os genes são empacotados em cromossomos e de sua associação com proteínas da cromatina no processo de empacotamento.

A enorme quantidade de DNA genômico empacotado em um cromossomo pode ser estimada quando os cromossomos são tratados para liberar o DNA da proteína-arcabouço subjacente (Fig. 2-1). Quando o DNA é liberado dessa maneira, alças longas de DNA podem ser visualizadas e o arcabouço residual pode servir para a reprodução da estrutura de um cromossomo típico.

O Cromossomo Mitocondrial

Como mencionado anteriormente, um pequeno mas importante subconjunto de genes codificados no genoma humano reside no citoplasma, dentro das mitocôndrias (Fig. 2-1). Os genes mitocondriais apresentam herança exclusivamente materna (Cap. 7). As células humanas podem ter centenas de milhares de mitocôndrias, cada uma contendo várias cópias de uma molécula circular pequena, o cromossomo mitocondrial. A molécula de DNA mitocondrial possui apenas 16 kb de comprimento (somente uma pequena fração do comprimento do menor cromossomo nuclear) e codifica somente 37 genes. Os produtos desses genes atuam nas mitocôndrias, embora a maioria das proteínas dentro destas compreenda, de fato, produtos dos genes nucleares.

Mutações em genes mitocondriais têm sido demonstradas em várias doenças herdadas maternalmente, bem como em distúrbios esporádicos (**Caso 33**) (Caps. 7 e 12).

A Sequência do Genoma Humano

Com uma compreensão geral da estrutura e da importância clínica de cromossomos e dos genes que eles carregam, os cientistas voltaram a atenção para a identificação de genes específicos e a sua localização no genoma humano. A partir desse amplo esforço surgiu o **Projeto Genoma Humano**, um consórcio internacional de centenas de laboratórios em todo o mundo, formado para determinar e montar a sequência dos 3,3 bilhões de pares de bases de DNA localizados entre os 24 tipos de cromossomos humanos.

Ao longo de uma década e meia, alimentada pelos principais avanços na tecnologia de sequenciamento do DNA, grandes centros de sequenciamento colaboraram para montar sequências de cada cromossomo. Os genomas sequenciados vieram de vários indivíduos diferentes, e a sequência-consenso que resultou na conclusão do Projeto Genoma Humano foi relatada em 2003, como uma montagem de uma sequência de “referência”, usada como base para comparação posterior com sequências de genomas individuais. Essa sequência de referência é mantida em bancos de dados públicos para facilitar a descoberta científica e sua tradução em avanços úteis para a medicina. As sequências genômicas são tipicamente apresentadas na direção 5’ a 3’ em apenas uma das duas fitas da dupla hélice, devido à natureza complementar da estrutura do DNA descrita anteriormente — caso se conheça a sequência de uma fita, pode-se inferir a sequência da outra (Fig. 2-6).

Organização do Genoma Humano

Os cromossomos não são apenas uma coleção aleatória de diferentes tipos de genes e outras sequências de DNA. Regiões do genoma com características semelhantes tendem a ser agrupadas, e a organização funcional do genoma reflete sua organização estrutural e sequência. Algumas regiões cromossômicas, ou até mesmo cromossomos inteiros, têm alto teor de conteúdo gênico (“rico em genes”), enquanto outras têm baixo (“pobre em genes”) (Fig. 2-7). As sequências clínicas de anormalidades estruturais do genoma refletem a natureza específica dos genes e das sequências envolvidas. Dessa forma, as anormalidades de cromossomos ou regiões cromossômicas ricas em genes tendem a ser muito mais graves clinicamente do que defeitos de dimensões semelhantes envolvendo partes do genoma pobres em genes.

Como resultado do conhecimento adquirido a partir do Projeto Genoma Humano, é evidente que a organização de DNA no genoma humano é mais variada e complexa do que se pensava. Dos bilhões de pares de bases de DNA em qualquer genoma, menos de 1,5% realmente codifica proteínas. Acredita-se que elementos reguladores que influenciam ou determinam padrões de expressão gênica durante o desenvolvimento ou em diferentes tecidos representem

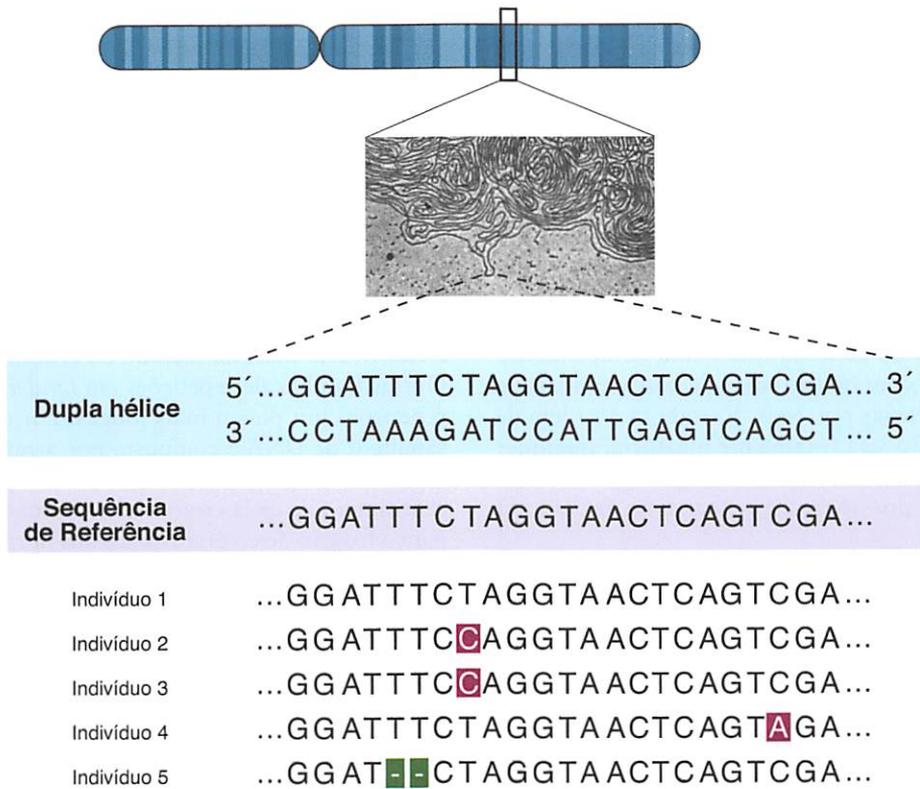


Figura 2-6 Uma porção da sequência de referência do genoma humano. Por convenção, as sequências são apresentadas a partir de uma única fita de DNA, porque a sequência da fita complementar pode ser inferida a partir da natureza de dupla fita do DNA (mostrada acima da sequência de referência). A sequência de DNA de um grupo de indivíduos é semelhante, mas não idêntica à da referência, com alterações de nucleotídeo único em alguns indivíduos e uma pequena deleção de duas bases em outro.

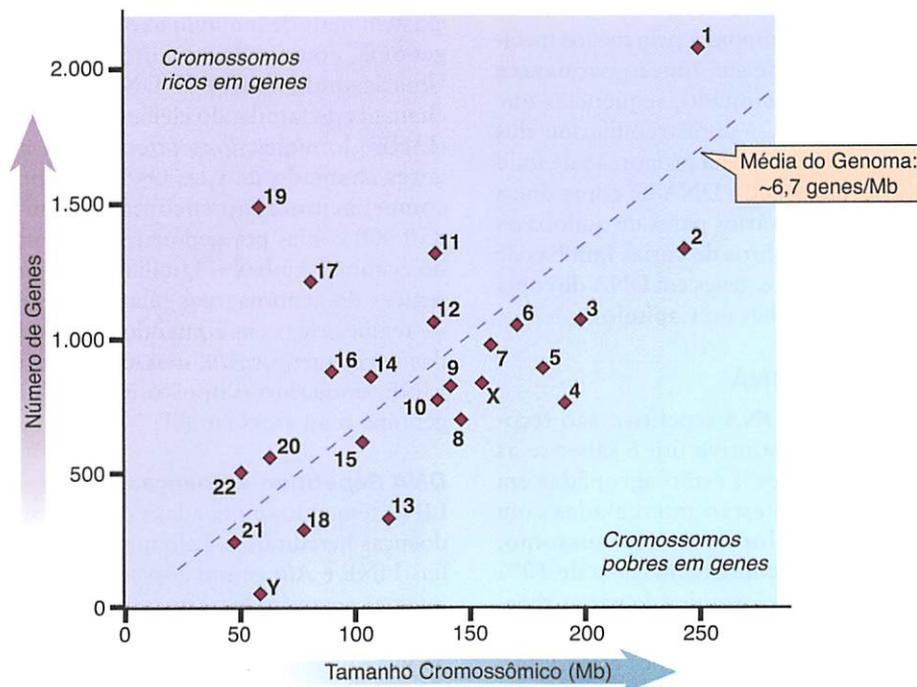


Figura 2-7 Tamanho e conteúdo gênico dos 24 cromossomos humanos. A linha diagonal tracejada corresponde à densidade média de genes no genoma, aproximadamente 6,7 genes codificadores de proteínas por megabase (Mb). Os cromossomos que são relativamente ricos em genes estão acima da diagonal e tendem para o lado esquerdo superior. Os cromossomos que são relativamente pobres em genes estão abaixo da diagonal e tendem para o lado direito inferior. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

apenas cerca de 5% da sequência adicional, embora análises mais recentes de características da cromatina sugiram que uma proporção muito mais elevada do genoma pode fornecer sinais que são relevantes para as funções do genoma. Somente cerca da metade do comprimento total linear do genoma consiste no chamado DNA de cópia única ou DNA único, isto é, o DNA cuja ordem linear de nucleotídeos específicos está representada apenas uma vez (ou no máximo algumas vezes) ao longo de todo o genoma. Esse conceito pode parecer surpreendente para alguns, já que há apenas quatro nucleotídeos diferentes no DNA. Mas, considere um pequeno trecho do genoma que tenha comprimento de apenas 10 bases; com quatro tipos de bases há mais de um milhão de sequências possíveis. E, embora a ordem de bases no genoma não seja totalmente aleatória, qualquer sequência particular de 16 bases poderia ser prevista ao acaso isoladamente por aparecer apenas uma vez em um dado genoma.

O restante do genoma é composto por várias classes de DNA repetitivo e inclui o DNA cuja sequência de nucleotídeo é repetida, seja perfeitamente ou com alguma variação, centenas de milhões de vezes no genoma. Enquanto a maioria (mas não todos) dos 20.000 genes estimados no genoma codificadores de proteínas (veja o Quadro no início deste capítulo) é representada no DNA de cópia única, as sequências da fração de DNA repetitivo contribuem para manter a estrutura do cromossomo e são uma fonte importante de variação entre indivíduos diferentes; algumas dessas variações podem predispor a eventos patológicos no genoma, como veremos nos Capítulos 5 e 6.

Sequências de DNA de Cópia Única

Embora o DNA de cópia única componha pelo menos metade do DNA no genoma, muito de sua função permanece um mistério porque, como mencionado, sequências que realmente codificam proteínas (i.e., a porção codificante dos genes) constituem somente uma pequena proporção de todo o DNA de cópia única. A maioria do DNA de cópia única é encontrada em trechos curtos (vários pares de quilobases ou menos), intercalada com membros de várias famílias de DNA repetitivo. A organização dos genes em DNA de cópia única é abordada com mais detalhes no Capítulo 3.

Sequências Repetitivas de DNA

Várias categorias diferentes de DNA repetitivo são reconhecidas. Uma característica distintiva útil é saber se as sequências repetidas (“repetições”) estão agrupadas em um ou poucos locais ou se elas estão intercaladas com sequências de cópia única ao longo do cromossomo. Sequências repetidas agrupadas constituem cerca de 10% a 15% do genoma e consistem em arranjos de várias repetições curtas organizadas em um padrão “cabeça para cauda”. Os diferentes tipos de tais repetições em *tandem* são coletivamente chamados de DNAs satélites, e são assim chamados porque muitas famílias de repetições em *tandem* originais podem ser separadas por métodos bioquímicos a partir da maior parte do genoma como frações (“satélites”) diferentes de DNA.

As famílias de repetições em *tandem* variam quanto à sua localização genômica e à natureza das sequências que compõem o arranjo. Em geral, esses arranjos podem se estender por vários milhões de pares de bases ou mais e constituir uma grande porcentagem do conteúdo de DNA de um cromossomo humano individual. Algumas sequências de repetições em *tandem* são importantes como ferramentas úteis na análise citogenética clínica (Cap. 5). Arranjos longos de repetições (com alguma variação) de uma sequência curta, tal como um pentanucleotídeo, são encontrados em grandes regiões geneticamente inertes nos cromossomos 1, 9 e 16 e constituem mais da metade do cromossomo Y (Cap. 6). Outras famílias de repetições em *tandem* são baseadas em repetições um pouco mais longas. Por exemplo, a família satélite- α de DNA é composta por arranjos em *tandem* de uma unidade de aproximadamente 171 pb, encontrados no centrômero de cada cromossomo humano, o qual é crucial para a fixação dos cromossomos aos microtúbulos do aparelho do fuso durante a divisão celular.

Além do DNA de repetição em *tandem*, outra classe principal de DNA repetitivo no genoma consiste em sequências relacionadas que estão dispersas por todo o genoma, em vez de agrupadas em um ou poucos locais. Embora muitas famílias de DNA satisfaçam essa descrição geral, duas em particular merecem discussão, porque juntas constituem uma proporção significativa do genoma e porque foram implicadas em doenças genéticas. Entre os elementos repetitivos dispersos mais bem estudados estão aqueles que pertencem à chamada família *Alu*. Os membros dessa família possuem aproximadamente 300 pb de comprimento e estão relacionados uns com os outros, embora não possuam uma sequência de DNA idêntica. No total, existem mais de um milhão de membros da família *Alu* no genoma, compondo no mínimo 10% do DNA humano. Uma segunda família de DNA repetitivo mais dispersa é chamada de família do elemento nuclear intercalado longo (LINE [do inglês, *long interspersed nuclear element*], às vezes chamado de L1). Os LINEs possuem até 6 kb de comprimento e são encontrados em aproximadamente 850.000 cópias por genoma, representando cerca de 20% do genoma. Ambas as famílias são abundantes em algumas regiões do genoma, mas relativamente escassas em outras — regiões ricas em conteúdo GC tendem a ser enriquecidas em elementos *Alu*, mas são desprovidas de sequências LINE, enquanto o oposto é verdadeiro para regiões do genoma mais ricas em AT.

DNA Repetitivo e Doença. Tanto sequências *Alu* como LINE têm sido implicadas como a causa de mutações em doenças hereditárias. Pelo menos algumas cópias das famílias LINE e *Alu* geram cópias de si mesmas que podem se integrar em outro local no genoma, ocasionalmente causando inativação por inserção de genes importantes do ponto de vista médico. A frequência de tais eventos que causam doenças genéticas em seres humanos é desconhecida, mas elas podem ser responsáveis por até uma em 500 mutações. Além disso, eventos de recombinação aberrante entre repetições LINE ou *Alu* diferentes também podem ser causa de mutação em algumas doenças genéticas (Cap. 12).

Um tipo adicional importante de DNA repetitivo encontrado em muitos locais diferentes em todo o genoma inclui sequências que são duplicadas, muitas vezes com uma conservação extraordinariamente alta de sequências. As duplicações envolvendo segmentos substanciais de um cromossomo, chamadas de **duplicações segmentadas**, podem se estender por centenas de quilobases e corresponder a pelo menos 5% do genoma. Quando as regiões duplicadas contêm genes, rearranjos genômicos envolvendo as sequências duplicadas podem resultar em deleção da região (e dos genes) entre as cópias e, então, originar doenças (Caps. 5 e 6).

VARIAÇÃO NO GENOMA HUMANO

Com a conclusão da sequência de referência do genoma humano, muita atenção se voltou para a descoberta e catalogação de variações de sequência entre os diferentes indivíduos (incluindo indivíduos saudáveis e aqueles com várias doenças) e entre as diferentes populações ao redor do mundo. Como vamos explorar mais detalhadamente no Capítulo 4, há muitas dezenas de milhões de variantes de sequências comuns que são observadas com frequência significativa em uma ou mais populações; qualquer indivíduo carrega, pelo menos, 5 milhões dessas variantes de sequência. Além disso, existem inúmeras variantes muito raras, muitas das quais provavelmente existem em apenas um único ou em poucos indivíduos. Na verdade, dado o número de indivíduos em nossa espécie, *essencialmente espera-se que cada par de bases no genoma humano varie em alguém em algum lugar no mundo*. É por essa razão que a sequência do genoma humano original é considerada uma sequência de “referência” para a nossa espécie, mas que não é, na verdade, idêntica ao genoma de nenhum indivíduo.

As primeiras estimativas eram de que quaisquer dois indivíduos aleatoriamente selecionados teriam sequências 99,9% idênticas ou, dito de outra forma, que um genoma individual teria duas versões *diferentes* (**alelos**) da sequência do genoma humano em cerca de três a cinco milhões de posições, com bases diferentes (p. ex., um T ou um G) nas cópias materna ou paternamente herdadas dessa posição particular da sequência (Fig. 2-6). Embora muitas dessas diferenças alélicas envolvam simplesmente um nucleotídeo, grande parte da variação consiste em inserções ou deleções de (geralmente) trechos curtos de sequência, variações no número de cópias de elementos repetidos (incluindo genes), ou inversões na ordem de sequências em uma determinada posição (**locus**) no genoma (Cap. 4).

Atualmente sabe-se que a quantidade total do genoma envolvida nessa variação é substancialmente maior do que inicialmente estimado e aproxima-se de 0,5% entre quaisquer dois indivíduos escolhidos ao acaso. Como será abordado em capítulos posteriores, todo e qualquer tipo de variação pode influenciar a função biológica e, portanto, deve ser contabilizado em qualquer tentativa de compreender a contribuição da genética para a saúde humana.

TRANSMISSÃO DO GENOMA

A base cromossômica da hereditariedade reside na cópia do genoma e na sua transmissão de uma célula para sua progênie durante a divisão celular típica e de uma geração para a próxima durante a reprodução, quando cópias únicas do genoma de cada um dos pais se reúnem em um novo embrião.

Para alcançar essas formas de herança do genoma relacionadas mas distintas, existem dois tipos de divisão celular, a mitose e a meiose. A **mitose** é a divisão de células somáticas que regula o crescimento do corpo, a diferenciação e os efeitos da regeneração tecidual. A divisão mitótica normalmente resulta em duas células-filhas, cada uma com cromossomos e genes idênticos aos da célula-mãe. Pode haver dezenas ou mesmo centenas de mitoses sucessivas em uma linhagem de células somáticas. Ao contrário, a **meiose** ocorre apenas nas células da linha germinativa. A meiose resulta na formação de células reprodutivas (**gametas**), sendo que cada uma delas possui apenas 23 cromossomos — um de cada tipo de autossomo e ou X ou Y. Dessa forma, enquanto as células somáticas possuem um conteúdo cromossômico **diploide** (*diploos*, duplo) ou $2n$ (i.e., 46 cromossomos), os gametas possuem um conteúdo **haploide** (*haploos*, único) ou n (i.e., 23 cromossomos). As alterações no número ou na estrutura dos cromossomos, as quais em geral são clinicamente significativas, podem se originar tanto nas células somáticas quanto nas células germinativas por erros na divisão celular.

O Ciclo Celular

O ser humano inicia sua vida como um ovócito fertilizado (**zigoto**), uma célula diploide a partir da qual todas as células do corpo (estimadas como sendo de aproximadamente 100 trilhões em número) são derivadas por uma série de dezenas ou mesmo centenas de mitoses. A mitose é, obviamente, crucial para o crescimento e a diferenciação, mas ela constitui apenas uma pequena parte do ciclo de vida de uma célula. O período entre duas mitoses sucessivas é chamado de **interfase**, estado no qual uma célula passa a maior parte de sua vida.

Imediatamente após a mitose, a célula entra em uma fase, chamada G_1 , em que não há síntese de DNA (Fig. 2-8.). Algumas células passam por esse estágio em horas; outras despendem um tempo longo, dias ou anos, em G_1 . De fato, alguns tipos celulares, tais como os neurônios e as hemácias, não se dividem uma vez que estão totalmente diferenciadas; em vez disso, elas permanecem presas em uma fase distinta conhecida como G_0 (“G zero”). Outras células, tais como as células do fígado, podem entrar em G_0 , mas após uma lesão no órgão, retornam à G_1 e continuam por todo o ciclo celular.

O ciclo celular é orientado por uma série de **pontos de controle** que determinam o tempo despendido em cada etapa na mitose. Além disso, os pontos de controle monitoram e controlam a precisão da síntese de DNA, bem como a montagem e fixação de uma rede elaborada de microtúbulos que facilita o movimento dos cromossomos. Caso seja detectada uma lesão no genoma, esses

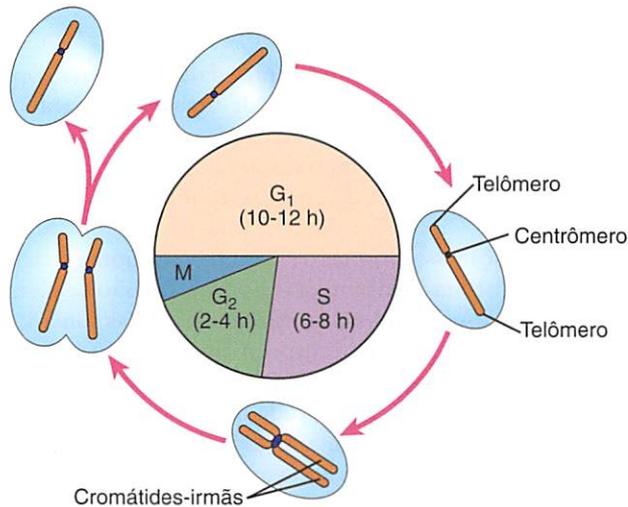


Figura 2-8 Um ciclo celular mitótico típico, descrito no texto. Os telômeros, o centrômero e as cromátides-irmãs estão indicados.

pontos de controle mitóticos interrompem a progressão do ciclo celular até que reparos sejam realizados ou, se o dano for excessivo, até que a célula seja instruída a morrer por morte celular programada (um processo chamado de apoptose).

Durante G₁, cada célula contém uma cópia diploide do genoma. À medida que começa o processo de divisão celular, a célula entra na fase S, a fase da síntese programada de DNA, conduzindo à replicação precisa do DNA de cada cromossomo. Durante essa fase, cada cromossomo, que em G₁ era uma molécula única de DNA, é duplicado e consiste em duas cromátides-irmãs (Fig. 2-8), sendo que cada uma contém uma cópia idêntica da dupla hélice de DNA linear original. As duas cromátides-irmãs são mantidas juntas fisicamente no centrômero, uma região de DNA que se associa a um número específico de proteínas para formar o cinetocoro. Essa estrutura complexa serve para ligar cada cromossomo aos microtúbulos do fuso mitótico e orientar o movimento dos cromossomos durante a mitose. A síntese de DNA durante a fase S não é sincrônica em todos os cromossomos nem em um cromossomo único; em vez disso, inicia-se em centenas até milhares de locais ao longo de cada cromossomo, chamados de origens de replicação do DNA. Os segmentos de um cromossomo individual possuem um tempo característico de replicação de 6 a 8 horas durante a fase S. As extremidades de cada cromossomo (ou cromátides) são marcadas por telômeros, que consistem em sequências especializadas de DNA repetitivo que garantem a integridade do cromossomo durante a divisão celular. A manutenção correta das extremidades dos cromossomos requer uma enzima especial chamada telomerase, que assegura que as extremidades de cada cromossomo sejam replicadas.

A natureza essencial desses elementos estruturais dos cromossomos e o seu papel em assegurar a integridade do genoma são ilustrados por uma série de condições clínicas que resultam de defeitos em elementos do telômero ou cinetocoro ou da maquinaria do ciclo celular, ou da replica-

ção imprecisa de porções até mesmo pequenas do genoma (Quadro). Algumas dessas condições serão apresentadas em mais detalhes nos capítulos seguintes.

CONSEQUÊNCIAS CLÍNICAS DE ANOMALIAS E VARIAÇÃO NA ESTRUTURA E MECÂNICA DO CROMOSSOMO

Condições clinicamente relevantes, decorrentes de estrutura ou função anormais de elementos cromossômicos durante a divisão celular, incluem:

- Um amplo espectro de anomalias congênitas em crianças com defeitos hereditários em genes que codificam componentes essenciais dos pontos de controle no fuso mitótico no cinetocoro
- Uma série de defeitos de nascimento e transtornos do desenvolvimento devido à segregação anômala de cromossomos com centrômeros múltiplos ou ausentes (Cap. 6)
- Uma variedade de cânceres associados a um excesso de replicação (amplificação) ou alteração do tempo de replicação em regiões específicas do genoma na fase S (Cap. 15)
- Síndrome de Roberts de retardo do crescimento, encurtamento dos membros e microcefalia em crianças com alterações em um gene necessário para o alinhamento adequado das cromátides-irmãs e coesão na fase S
- Falência ovariana prematura como uma das principais causas de infertilidade do sexo feminino, devido à mutação em um gene meiose-específico necessário para a coesão correta das cromátides-irmãs
- As chamadas síndromes dos telômeros, uma série de distúrbios degenerativos que se apresenta desde a infância até a idade adulta em pacientes com encurtamento anormal dos telômeros, devido a defeitos nos componentes da telomerase
- E, na outra extremidade do espectro, variantes gênicas comuns que se correlacionam com o número de cópias das repetições nos telômeros e com a expectativa de vida e a longevidade

No final da fase S, o conteúdo de DNA da célula está duplicado, e cada célula nova contém duas cópias de genoma diploide. Após a fase S, a célula entra em um estágio breve chamado de G₂. Ao longo de todo o ciclo celular, a célula aumenta gradualmente e, em seguida, duplica a sua massa total antes da próxima mitose. A fase G₂ é finalizada por mitose, que começa quando cromossomos individuais tornam-se condensados e visíveis ao microscópio como filamentos estendidos finos, um processo que é discutido detalhadamente na seção seguinte.

As fases G₁, S e G₂ constituem, juntas, a interfase. Em células humanas típicas em divisão, as três fases levam um total de 16 a 24 horas, enquanto a mitose dura apenas 1 a 2 horas (Fig. 2-8). Há uma grande variação, no entanto, na duração do ciclo celular, que se estende de poucas horas em células que se dividem rapidamente, tais como aquelas da derme da pele ou da mucosa intestinal, até meses em outros tipos celulares.

Mitose

Durante a fase mitótica do ciclo celular, um aparelho elaborado assegura que cada uma das duas células-filhas receba um conjunto completo de informação genética. Esse resultado é alcançado por um mecanismo que distribui uma cromátide de cada cromossomo para cada célula-filha (Fig. 2-9). O processo de distribuição de uma cópia de cada cromossomo para cada célula-filha é chamado de **segregação cromossômica**. A importância desse processo para o crescimento celular normal é ilustrada pela observação de que muitos tumores são, invariavelmente, caracterizados por um estado de desequilíbrio genético resultante de erros mitóticos na distribuição dos cromossomos para as células-filhas.

O processo de mitose é contínuo, mas cinco estágios, ilustrados na Figura 2-9, são distinguidos: prófase, prometáfase, metáfase, anáfase e telófase.

- **Prófase.** Este estágio é marcado por condensação gradual dos cromossomos, a formação do fuso mitótico e a formação de um par de **centrossomos**, a partir dos quais microtúbulos irradiam-se e, subsequentemente, assumem posições nos polos da célula.
- **Prometáfase.** Aqui, a membrana nuclear se rompe, possibilitando que os cromossomos se dispersem dentro da célula e se fixem, pelos seus cinetocoros, aos microtúbulos do fuso mitótico.
- **Metáfase.** Nesta fase, os cromossomos são maximamente condensados e alinham-se no plano equatorial da célula.
- **Anáfase.** Os cromossomos separam-se no centrômero e as cromátides-irmãs de cada cromossomo agora se tornam **cromossomos-filhos** independentes, que se dirigem para os polos opostos da célula.

- **Telófase.** Agora, os cromossomos começam a se descondensar do seu estado altamente contraído e uma membrana nuclear começa a se formar novamente em torno de cada um dos dois núcleos-filhos, que retomam o seu aspecto da interfase. Para concluir o processo de divisão celular, o citoplasma é clivado por um processo conhecido como **citocinese**.

Existe uma diferença importante entre uma célula que entra na mitose e aquela que acabou de completar o processo. Uma célula em G_2 tem um genoma totalmente replicado (i.e., um complemento $4n$ de DNA), e cada cromossomo consiste em um par de cromátides-irmãs. Em contraste, após a mitose, os cromossomos de cada célula-filha tem apenas uma cópia do genoma. Essa cópia não será duplicada até que uma célula-filha, por sua vez, atinja a fase S do próximo ciclo celular (Fig. 2-8). Todo o processo de mitose garante, assim, a duplicação e distribuição ordenadas do genoma através de divisões celulares sucessivas.

O Cariótipo Humano

Os cromossomos condensados de uma célula humana em divisão são mais facilmente analisados na metáfase ou prometáfase. Nessas etapas, os cromossomos são visíveis ao microscópio como uma **dispersão cromossômica**; cada cromossomo consiste em suas cromátides-irmãs, embora na maioria das preparações de cromossomos, as duas cromátides sejam mantidas unidas de modo tão firme que raramente são visíveis como entidades separadas.

Conforme afirmado anteriormente, existem 24 tipos diferentes de cromossomos humanos, sendo que cada um deles

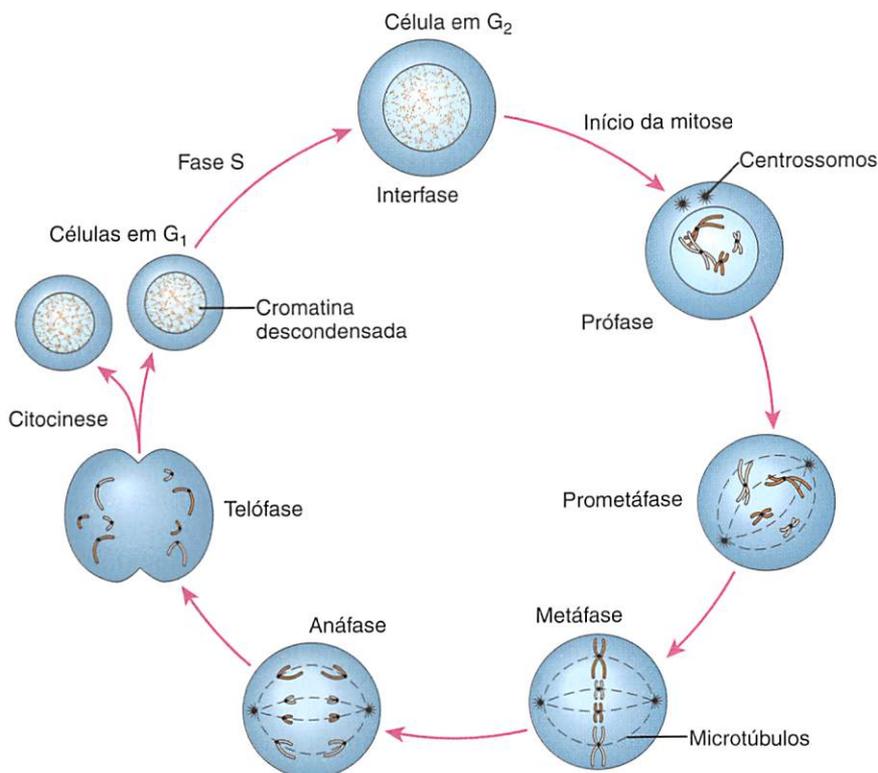


Figura 2-9 Mitose. Somente dois pares de cromossomos são mostrados. Veja mais detalhes no texto.



Figura 2-10 Dispersão cromossômica preparada a partir de uma cultura de linfócitos que foi corada pela técnica de bandeamento de Giemsa (bandas G). O núcleo corado mais escuro adjacente aos cromossomos é de uma célula diferente em interfase, quando o material cromossômico está difuso por todo o núcleo. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

pode ser distinguido citologicamente por uma combinação de tamanho total, de localização do centrômero e do conteúdo da sequência, este último com um reflexo de vários métodos de coloração. O centrômero é evidente como uma **constricção primária**, um estreitamento das cromátides-irmãs devido à formação do cinetocoro. Este é um marco citogenético reconhecível, que divide o cromossomo em dois **braços**, um braço curto designado **p** (para *petit*) e um braço longo designado **q**.

A Figura 2-10 mostra uma célula em prometáfase, na qual os cromossomos foram corados com o método de coloração Giemsa (**bandeamento G**) (Cap. 5). Cada par de cromossomos cora-se em um padrão característico de bandas claras e escuras alternadas (bandas G) que se correlaciona grosseiramente com as características da sequência de DNA subjacente, tais como a composição de bases (i.e., a porcentagem de pares de base que são GC ou AT) e a distribuição dos elementos de DNA repetitivo. Com tais técnicas de bandeamento, todos os cromossomos podem ser distinguidos individualmente, e a natureza de muitas alterações estruturais ou numéricas pode ser determinada, como vamos examinar com mais detalhes nos Capítulos 5 e 6.

Embora os especialistas possam frequentemente analisar cromossomos metafásicos diretamente ao microscópio, um procedimento comum é cortar os cromossomos de uma imagem digital ou fotomicrografia e organizá-los em pares em uma classificação padronizada (Fig. 2-11). O quadro completo é chamado de **cariótipo**. A palavra *cariótipo* é utilizada também para se referir a um conjunto de cromossomos padronizados de um indivíduo (“um cariótipo masculino normal”) ou de uma espécie (“o cariótipo humano”) e,

como um verbo, para o processo de preparação dessa figura padronizada (“cariotipar”).

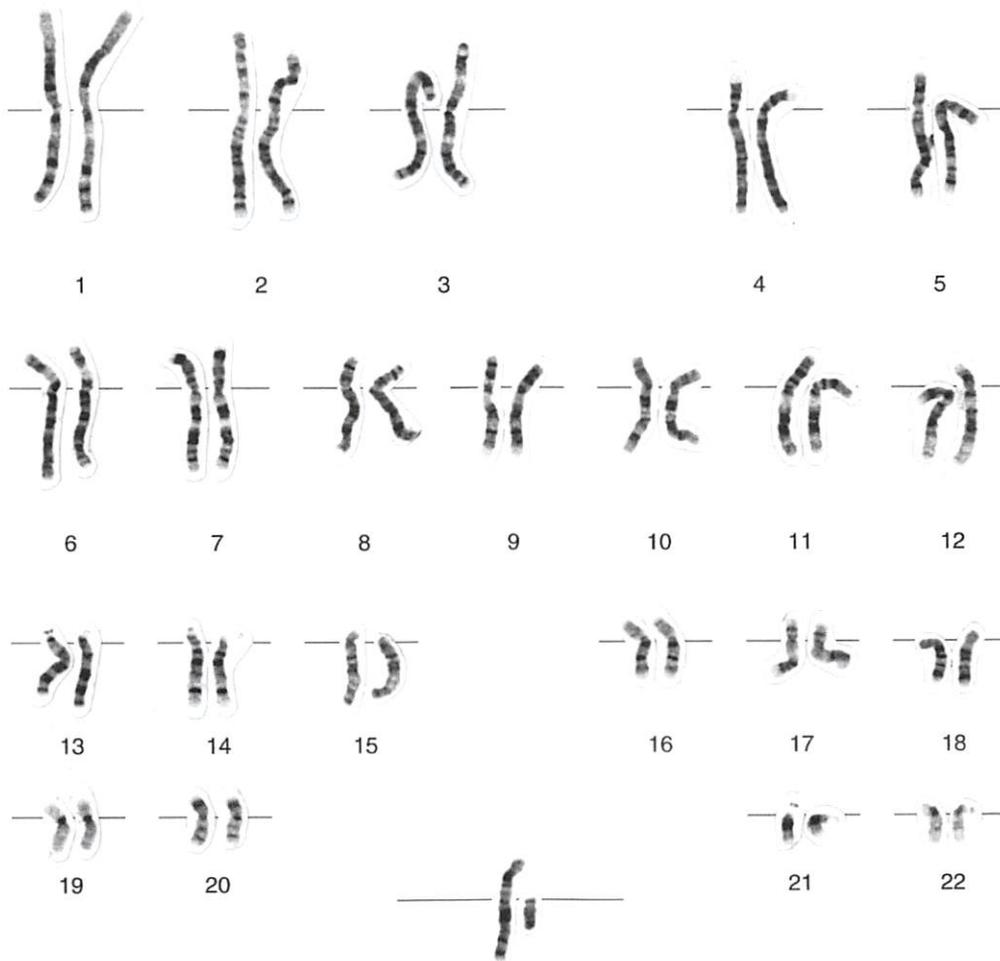
Ao contrário dos cromossomos observados em preparações coradas ao microscópio ou em fotografias, os cromossomos de células vivas são estruturas fluidas e dinâmicas. Durante a mitose, a cromatina de cada cromossomo da interfase condensa-se substancialmente (Fig. 2-12). Quando está em máxima condensação na metáfase, o DNA cromossômico é de cerca de 1/10.000 em relação ao seu estado totalmente estendido. Quando os cromossomos são preparados para revelar as bandas (como nas Figs. 2-10 e 2-11), até 1.000 ou mais bandas podem ser reconhecidas em preparações coradas de todos os cromossomos. Cada banda citogenética contém, portanto, até 50 ou mais genes, embora a densidade de genes no genoma, como mencionado anteriormente, seja variável.

Meiose

A meiose, o processo pelo qual as células diploides dão origem a gametas haploides, envolve um tipo de divisão celular que é exclusivo de células germinativas. Em contraste com a mitose, a meiose consiste em uma etapa de replicação do DNA seguida de *duas* etapas de segregação cromossômica e divisão celular (veja meiose I e meiose II na Fig. 2-13). Como delineado aqui e ilustrado na Figura 2-14, a sequência geral de eventos nas meioses masculina e feminina é a mesma; no entanto, o momento da gametogênese é muito diferente nos dois sexos, como iremos descrever de modo mais completo adiante neste capítulo.

A meiose I é também conhecida como a **divisão reducional** porque é a divisão em que o número de cromossomos é reduzido à metade por meio do pareamento dos homólogos na prófase e pela sua segregação em células diferentes na anáfase da meiose I. A meiose I também é notável porque é a fase em que ocorre a **recombinação** genética (também chamada de **crossing over** meiótico). Nesse processo, como mostrado por um par de cromossomos na Figura 2-14, segmentos homólogos de DNA são trocados entre as cromátides não irmãs de um par de cromossomos homólogos, garantindo assim que nenhum dos gametas produzidos pela meiose seja idêntico ao outro. As consequências conceituais e práticas da recombinação para muitos aspectos da genética e genômica humana são substanciais e estão descritas no Quadro ao final desta seção.

A prófase da meiose I difere da prófase mitótica de várias formas, com consequências genéticas importantes, porque os cromossomos homólogos precisam parrear-se e trocar informações genéticas. A fase inicial mais crítica é chamada **zigoteno**, quando cromossomos homólogos começam a se alinhar ao longo de toda a sua extensão. O processo de pareamento meiótico — chamado de **sinapse** — é normalmente preciso, colocando sequências de DNA correspondentes em alinhamento ao longo da extensão do par cromossômico inteiro. Os homólogos pareados — agora chamados de **bivalentes** — são mantidos unidos por uma estrutura proteica semelhante a uma fita chamada de **complexo sinaptonêmico**, que é essencial para o processo de



CROMOSSOMOS SEXUAIS

Figura 2-11 Cariótipo humano masculino com bandeamento de Giemsa (bandas G). Os cromossomos estão no estágio de prometáfase da mitose e estão dispostos em uma classificação padronizada, numerados de 1 a 22 em ordem de tamanho, com os cromossomos X e Y mostrados separadamente. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

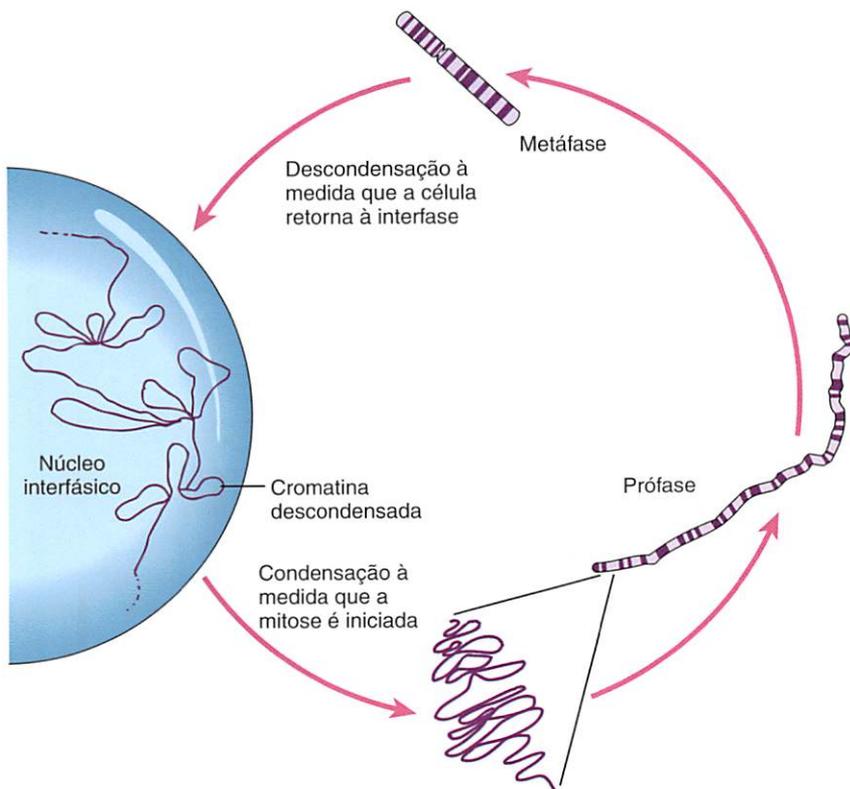


Figura 2-12 Ciclo de condensação e descondensação conforme um cromossomo prossegue pelo ciclo celular.

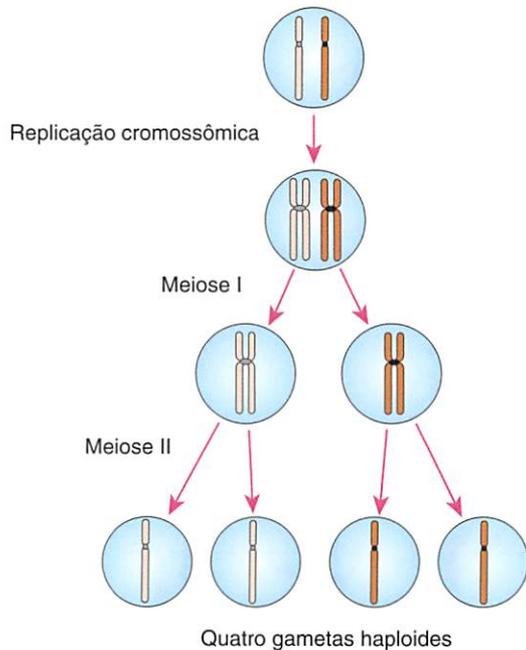


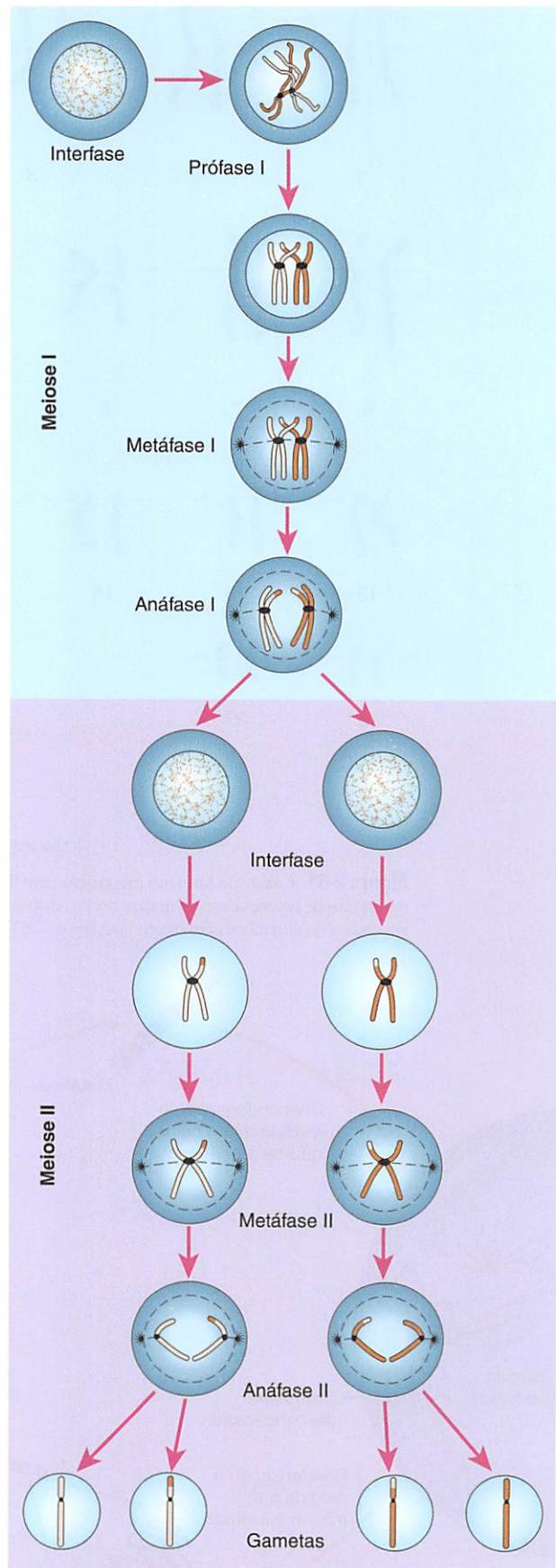
Figura 2-13 Representação simplificada das etapas essenciais na meiose, consistindo em uma rodada de replicação do DNA seguida por duas rodadas de segregação cromossômica, meiose I e meiose II.

recombinação. Após a sinapse estar concluída, o *crossing over* meiótico ocorre durante o **paquíteno**, após o qual o complexo sinaptonêmico é degradado.

A metáfase I começa, como na mitose, quando a membrana nuclear desaparece. Um fuso se forma e os cromossomos pareados alinham-se no plano equatorial com seus centrômeros orientados para diferentes polos (Fig. 2-14).

A anáfase da meiose I novamente difere da fase correspondente da mitose. Aqui, são os dois membros de cada bivalente que se separam, não as cromátides-irmãs (compare a Fig. 2-14 com a Fig. 2-9). Os centrômeros homólogos (com suas cromátides-irmãs fixadas) são puxadas para os polos opostos da célula, um processo denominado **disjunção**. Assim, o número de cromossomos é dividido pela metade, e cada produto celular da meiose I possui um número haploide de cromossomos. Os 23 pares de cromossomos homólogos ordenam-se independentemente um do outro e, como resultado, os conjuntos de cromossomos paternos e maternos originais são

Figura 2-14 A meiose e suas consequências. Um par cromossômico único e um *crossover* único são mostrados, levando à formação de quatro gametas distintos. Os cromossomos replicam-se durante a interfase e começam a se condensar à medida que a célula entra na prófase da meiose I. Na meiose I, os cromossomos fazem sinapse e recombinam-se. Um *crossing over* é visível à medida que os homólogos se alinham na metáfase I, com os centrômeros orientados para polos opostos. Na anáfase I, a troca de DNA entre os homólogos é evidente, pois os cromossomos são puxados para polos opostos. Após completar a meiose I e a citocinese, a meiose II prossegue com uma divisão semelhante à da mitose. Os cinetocoros-irmãos separam-se e movem-se para polos opostos na anáfase II, obtendo-se quatro produtos haploides.



organizados em combinações aleatórias. O número possível de combinações dos 23 pares de cromossomos que podem estar presentes nos gametas é de 2^{23} (mais do que oito milhões). Devido ao processo de *crossing over*, no entanto, a variação do material genético que é transmitido de mãe para filho é realmente muito maior do que esta. Como resultado, cada cromátide caracteristicamente contém segmentos derivados de cada um dos membros do par de cromossomos parental original, tal como ilustrado esquematicamente na Figura 2-14. Por exemplo, nessa fase, um cromossomo humano típico grande seria composto de três a cinco segmentos, de origens paterna e materna alternadamente, como inferido a partir das variantes da sequência de DNA que distinguem os respectivos genomas parentais (Fig. 2-15).

CONSEQUÊNCIAS GENÉTICAS E RELEVÂNCIA MÉDICA DE RECOMBINAÇÃO HOMÓLOGA

A lição de casa dessa parte do capítulo é simples: o conteúdo genético de cada gameta é único, por causa da variedade aleatória dos cromossomos parentais que embaralham a combinação de variantes de sequência *entre* cromossomos e por causa de recombinação homóloga que embaralha a combinação de variantes de sequência *dentro* de cada cromossomo. Isto tem consequências significativas para os padrões de variação genômica entre diferentes populações ao redor do mundo e para o diagnóstico e aconselhamento de muitas condições comuns com padrões complexos de herança (Caps. 8 e 10).

Os valores e padrões de recombinação meiótica são determinados pelas variantes de sequência em genes específicos e em *hots spots* (“pontos quentes”) específicos, diferindo entre os indivíduos, entre os sexos, entre as famílias e entre as populações (Cap. 10).

Pelo fato de a recombinação envolver o entrelaçamento físico de dois homólogos até o ponto adequado durante a meiose I, também é importante garantir a segregação cromossômica adequada durante a meiose. A falha em recombinar adequadamente pode levar à **má segregação cromossômica (não disjunção)** na meiose I e é uma causa frequente de perda gestacional e de anomalias cromossômicas como a síndrome de Down (Caps. 5 e 6).

Grandes esforços contínuos para **identificar genes e suas variantes responsáveis por várias condições clínicas** dependem do rastreamento da herança de milhões de diferenças de sequência dentro das famílias ou do compartilhamento de variantes dentro de grupos de indivíduos até mesmo não aparentados, acometidos por uma determinada condição. A utilidade dessa abordagem, que descobriu milhares de associações gene-doença até o momento, depende dos padrões de recombinação homóloga na meiose (Cap. 10).

Embora a recombinação homóloga em geral seja precisa, áreas de DNA repetitivo no genoma e genes com número de cópias variável na população são propensos a um ocasional ***crossing over* desigual** durante a meiose, levando a variações em características clinicamente relevantes, tais como resposta a fármacos, doenças comuns como as talassemias ou o autismo, ou anomalias da diferenciação sexual (Caps. 6, 8 e 11).

Embora a recombinação homóloga seja uma parte normal e essencial da meiose, ela também ocorre, embora mais raramente, em células somáticas. As anomalias na **recombinação somática** são uma das causas de **instabilidade genômica no câncer** (Cap. 15).

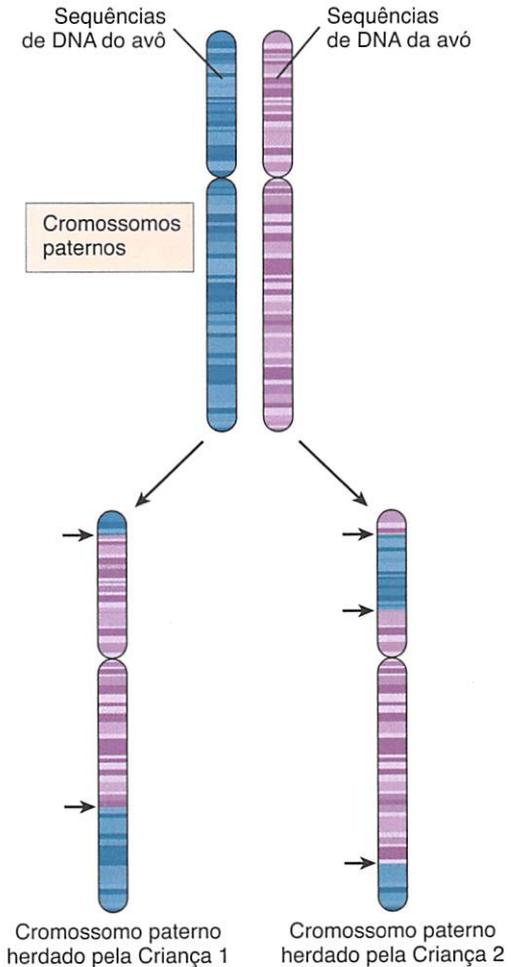


Figura 2-15 Efeito da recombinação homóloga na meiose. Neste exemplo, representando a herança de sequências em um cromossomo grande típico, um indivíduo tem homólogos distintos: um contendo sequências herdadas de seu pai (*em azul*) e um contendo sequências homólogas de sua mãe (*em roxo*). Após a meiose na espermatogênese, ele transmite uma cópia completa única desse cromossomo para seus dois filhos. Contudo, como resultado do *crossing over* (*setas*), a cópia que ele transmite para cada filho é composta por segmentos alternados das sequências dos dois avós. A criança 1 herda uma cópia depois de dois *crossovers*, ao passo que a criança 2 herda uma cópia com três *crossovers*.

Depois da telófase da meiose I, as duas células-filhas haploides entram na interfase meiótica. Em contraste com a mitose, esta interfase é breve, e a meiose II começa. O ponto notável que distingue a interfase mitótica da meiótica é que não existe fase S (i.e., não há síntese de DNA e duplicação do genoma) entre a primeira e a segunda divisão meiótica.

A meiose II é semelhante a uma mitose normal, exceto que o número de cromossomos é 23 em vez de 46; as cromátides de cada um dos 23 cromossomos separam-se e uma cromátide de cada cromossomo passa para cada célula-filha (Fig. 2-14). No entanto, como mencionado anteriormente, por causa do *crossing over* na meiose I, os cromossomos dos gametas resultantes não são idênticos (Fig. 2-15).

GAMETOGENESE HUMANA E FERTILIZAÇÃO

As células da linhagem germinativa que passam por meiose, os espermatócitos primários ou ovócitos primários, são derivadas do zigoto por uma longa série de mitoses antes do início da meiose. Os gametas masculinos e femininos têm histórias diferentes, marcadas por diferentes padrões de expressão de genes que refletem sua origem de desenvolvimento como um embrião XY ou XX. As células germinativas primordiais humanas são reconhecíveis na 4ª semana do desenvolvimento fora do embrião propriamente, no endoderma do saco vitelino. A partir daí, elas migram durante a 6ª semana para as cristas genitais e associam-se a células somáticas formando as gônadas primitivas, que logo se diferenciam em testículos ou ovários, dependendo da constituição do cromossomo sexual das células (XY ou XX), conforme examinamos com mais detalhes no Capítulo 6. Tanto a espermatogênese como a ovogênese exigem meiose, mas possuem diferenças importantes nos detalhes e no tempo despendido, o que pode ter consequências clínicas e genéticas para a prole. A meiose feminina é iniciada mais cedo durante a vida fetal, em um número limitado de células. Ao contrário, a meiose masculina é iniciada continuamente em muitas células a partir de uma população de células em divisão por toda a vida adulta do homem.

No sexo feminino, estágios sucessivos da meiose ocorrem durante várias décadas — no ovário fetal antes de a mulher em questão até mesmo nascer, no ovócito próximo ao período da ovulação na mulher sexualmente madura, e após a fertilização do óvulo que pode tornar-se a prole daquela mulher. Embora os estágios pós-fertilização possam ser estudados *in vitro*, o acesso aos estágios iniciais é limitado. O material testicular para o estudo da meiose masculina é menos difícil de ser obtido, pois uma biópsia testicular é incluída na avaliação de muitos homens que procuram atendimento em clínicas de infertilidade. Ainda há muito a ser aprendido sobre a citogenética, bioquímica e mecanismos moleculares envolvidos na meiose normal e sobre as causas e consequências das irregularidades meióticas.

Espermatogênese

Os estágios da espermatogênese são mostrados na Figura 2-16. Os túbulos seminíferos dos testículos são revestidos com **espermatogônias**, que se desenvolvem a partir de células germinativas primordiais por uma longa série de mitoses e que estão em diferentes estágios de diferenciação. O **esperma** (espermatozoides) é formado somente após a maturidade sexual ser atingida. O último tipo de célula na sequência de desenvolvimento é o **espermatócito primário**, uma célula germinativa diploide que sofre meiose I, formando dois **espermatócitos secundários** haploides. Os espermatócitos secundários rapidamente entram na meiose II, cada um formando duas **espermátides**, que se diferenciam, sem mais divisões, nos espermatozoides. Nos seres humanos, o processo completo leva cerca de 64 dias. O enorme número de espermatozoides produzidos, aproximadamente 200 milhões por ejaculação e com uma estimativa de 10^{12} durante toda a vida, exige várias centenas de mitoses sucessivas.

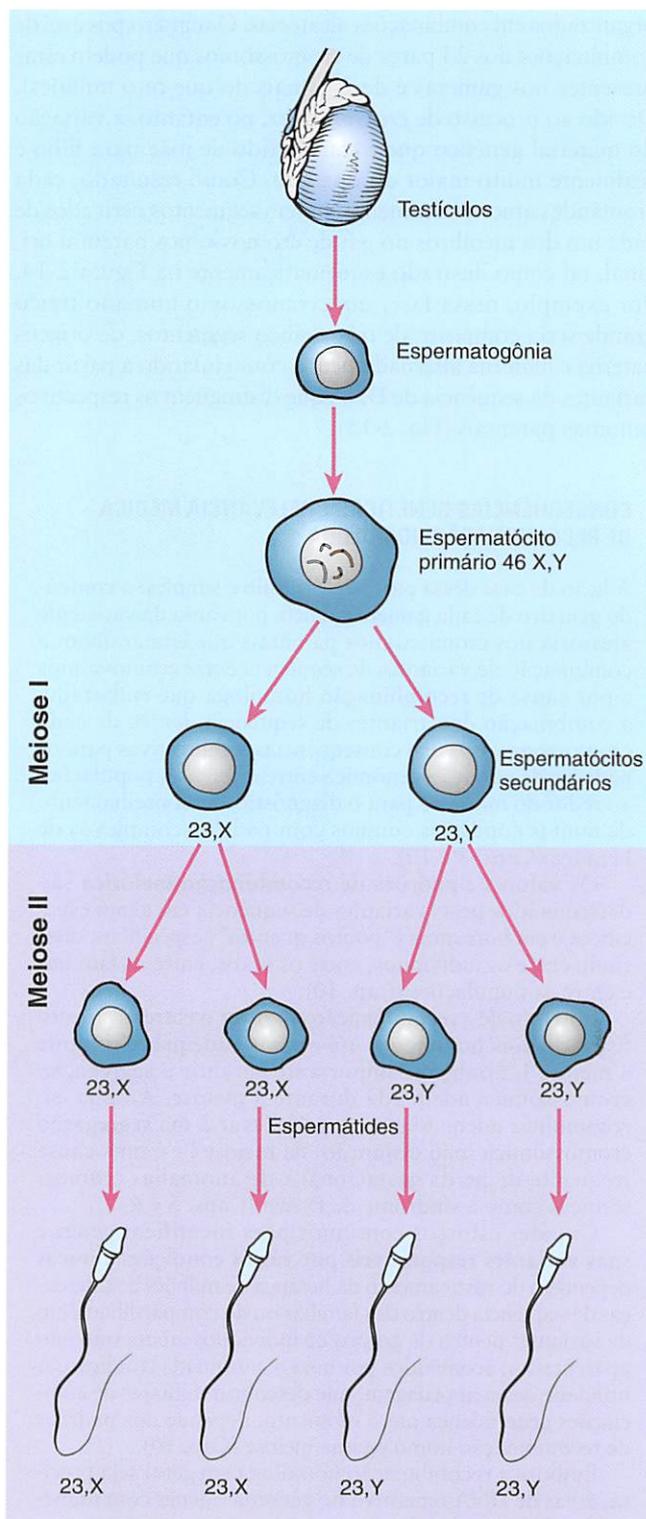


Figura 2-16 Espermatogênese humana em relação a duas divisões meióticas. A sequência de eventos começa na puberdade e leva cerca de 64 dias para ser concluída. O número do cromossomo (46 ou 23) e a constituição dos cromossomos sexuais (X ou Y) de cada célula são mostrados. *Veja Fontes e Agradecimentos.*

Como discutido anteriormente, a meiose normal exige o pareamento de cromossomos homólogos, seguido de recombinação. Os autossomos e os cromossomos X no sexo feminino não apresentam dificuldades incomuns nesse aspecto; mas como ficam os cromossomos X e Y durante a espermatogênese? Embora os cromossomos X e Y sejam diferentes e não sejam homólogos em um sentido estrito, eles possuem segmentos curtos relativamente idênticos nas extremidades de seus respectivos braços curtos (Xp e Yp) e longos (Xq e Yq) (Cap. 6). O pareamento e o *crossing over* ocorrem em ambas as regiões durante a meiose I. Esses segmentos homólogos são chamados de **pseudoautossômicos**, refletindo o seu comportamento de pareamento e recombinação semelhante ao dos autossomos, apesar de estarem em diferentes cromossomos sexuais.

Ovocitogênese

Ao contrário da espermatogênese, que é iniciada apenas na puberdade, a ovogitogênese inicia-se durante o desenvolvimento fetal da mulher (Fig. 2-17). Os **ovócitos** se desenvolvem a partir de **ovogônias**, células do córtex ovariano que descenderam das células germinativas primordiais por uma série de cerca de 20 mitoses. Cada ovogônia é uma célula central em um folículo em desenvolvimento. Por volta do 3º mês de desenvolvimento fetal, as ovogônias do embrião começam a se desenvolver em **ovócitos primários**, sendo que a maioria deles já entrou na prófase da meiose I. O processo de ovogênese não é sincronizado, e tanto o estágio inicial como o tardio coexistem no ovário fetal. Embora existam vários milhões de ovócitos no momento do nascimento, a maioria destes degenera; os outros permanecem retidos na prófase I (Fig. 2-14) ao longo de décadas. Apenas cerca de 400, por fim, amadurecem e ovulam como parte de um ciclo menstrual da mulher.

Depois que uma mulher atinge a maturidade sexual, os folículos individuais começam a crescer e amadurecer, e poucos (em média um por mês) são ovulados. Pouco antes da ovulação, o ovócito rapidamente completa a meiose I, dividindo-se de forma que uma célula torna-se o ovócito secundário (um ovo ou **óvulo**), contendo a maior parte do citoplasma com suas organelas; a outra célula torna-se o primeiro glóbulo polar (Fig. 2-17). A meiose II começa prontamente e prossegue para o estágio de metáfase durante a ovulação, onde ela para novamente, e é somente concluída se ocorrer a fertilização.

Fertilização

A fertilização do ovócito geralmente ocorre nas tubas de Falópio dentro de mais ou menos 1 dia de ovulação. Embora muitos espermatozoides possam estar presentes, a penetração de um único espermatozoide no ovócito desencadeia uma série de eventos bioquímicos que geralmente ajuda a impedir a entrada de outro espermatozoide.

A fertilização é seguida pela conclusão da meiose II, com a formação do segundo glóbulo polar (Fig. 2-17). Os cromossomos do ovócito fertilizado e do espermatozoide formam

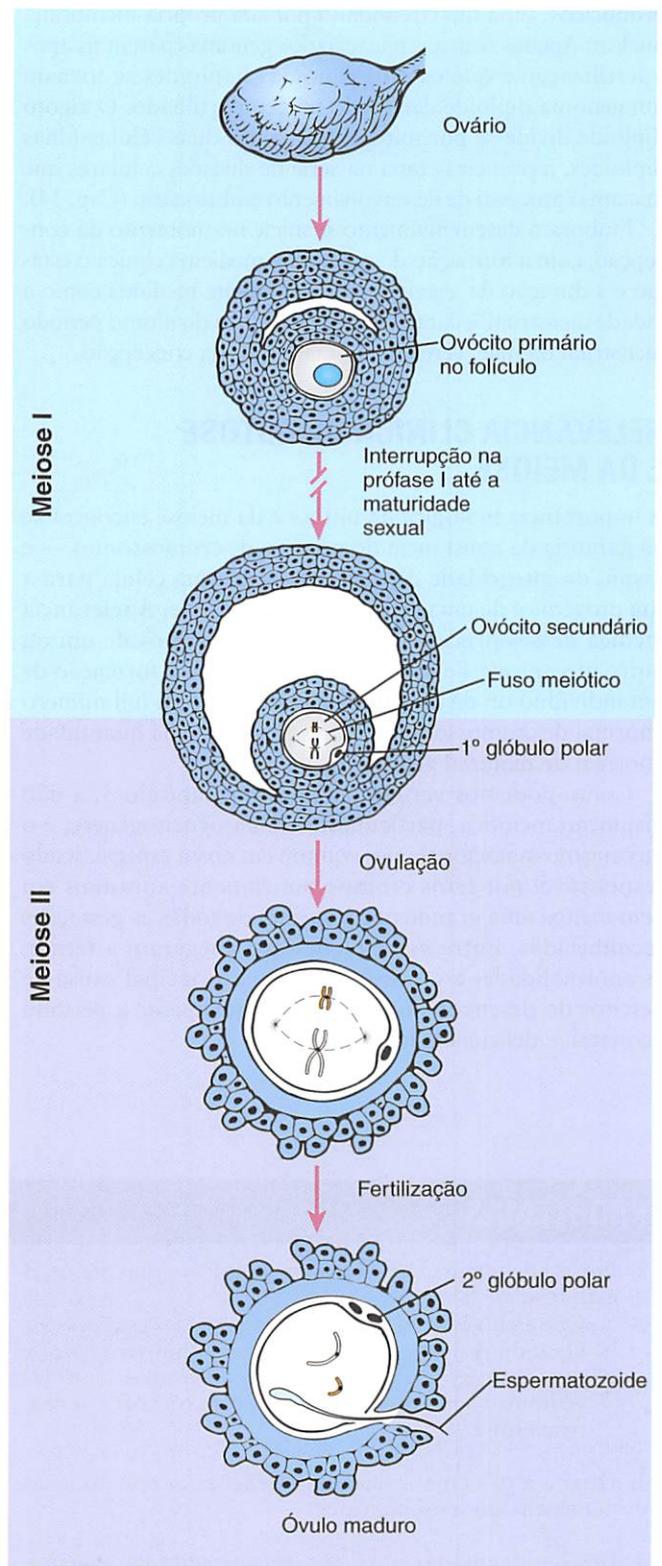


Figura 2-17 Ovocitogênese humana e fertilização em relação às duas divisões meióticas. Os ovócitos primários são formados no pré-natal e permanecem suspensos na prófase da meiose I por anos até o início da puberdade. Um ovócito completa a meiose I à medida que seu folículo amadurece, resultando em um ovócito secundário e no primeiro glóbulo polar. Após a ovulação, cada ovócito continua até a metáfase da meiose II. A meiose II é concluída somente se a fertilização ocorrer, resultando em um óvulo maduro fertilizado e no segundo glóbulo polar.

pronúcleos, cada um circundado por sua própria membrana nuclear. Apenas com a replicação dos genomas parentais após a fertilização é que os dois genomas haploides se tornam um genoma diploide dentro do núcleo partilhado. O **zigoto** diploide divide-se por mitose, formando duas células-filhas diploides, a primeira etapa na série de divisões celulares que iniciam o processo de desenvolvimento embrionário (Cap. 14).

Embora o desenvolvimento se inicie no momento da concepção, com a formação do zigoto, na medicina clínica o estágio e a duração da gravidez são geralmente medidos como a “idade menstrual”, datada a partir do início do último período menstrual da mãe, cerca de 14 dias antes da concepção.

RELEVÂNCIA CLÍNICA DA MITOSE E DA MEIOSE

A importância biológica da mitose e da meiose encontra-se na garantia da constância do número de cromossomos — e assim, da integridade do genoma — de uma célula para a sua progênie e de uma geração para a seguinte. A relevância médica desses processos encontra-se nos erros de um ou outro mecanismo de divisão celular, levando à formação de um indivíduo ou de uma linhagem celular com um número anormal de cromossomos e, portanto, com uma quantidade anormal de material genômico.

Como podemos ver em detalhes no Capítulo 5, a não disjunção meiótica, particularmente na ovocitogênese, é o mecanismo mutacional mais comum em nossa espécie, sendo responsável por fetos cromossomicamente anormais em pelo menos uma grande porcentagem de todas as gestações reconhecidas. Entre as gestações que chegaram a termo, as anormalidades cromossômicas são a principal causa de defeitos do desenvolvimento, falhas em superar o período neonatal, e deficiência intelectual.

A não disjunção mitótica em células somáticas também contribui para doenças genéticas. A não disjunção logo após a fertilização, seja no embrião em desenvolvimento ou em tecidos extraembrionários como a placenta, leva ao mosaïcismo cromossômico que pode estar subjacente a algumas condições clínicas, tais como uma proporção de pacientes com síndrome de Down. Além disso, a segregação cromossômica anormal em tecidos que se dividem rapidamente, tais como as células do colo, é frequentemente uma etapa no desenvolvimento de tumores cromossomicamente anormais, de modo que a avaliação do equilíbrio cromossômico e genômico é um exame diagnóstico e prognóstico importante em muitos cânceres.

REFERÊNCIAS GERAIS

- Green ED, Guyer MS, National Human Genome Research Institute: Charting a course for genomic medicine from base pairs to bedside, *Nature* 470:204-213, 2011.
- Lander ES: Initial impact of the sequencing of the human genome, *Nature* 470:187-197, 2011.
- Moore KL, Presaud TVN, Torchia MG: *The developing human: clinically oriented embryology*, ed 9, Philadelphia, 2013, WB Saunders.

REFERÊNCIAS PARA TÓPICOS ESPECÍFICOS

- Deininger P: Alu elements: know the SINES, *Genome Biol* 12:236, 2011.
- Frazer KA: Decoding the human genome, *Genome Res* 22:1599-1601, 2012.
- International Human Genome Sequencing Consortium: Initial sequencing and analysis of the human genome, *Nature* 409:860-921, 2001.
- International Human Genome Sequencing Consortium: Finishing the euchromatic sequence of the human genome, *Nature* 431:931-945, 2004.
- Venter J, Adams M, Myers E, et al: The sequence of the human genome, *Science* 291:1304-1351, 2001.

PROBLEMAS

- Em um determinado *locus*, uma pessoa tem dois alelos, *A* e *a*.
 - Que alelos estarão presentes nos gametas dessa pessoa?
 - Quando *A* e *a* se separam (1) se não houver *crossing over* entre o *locus* e o centrômero do cromossomo? (2) se houver um único crossover entre o *locus* e o centrômero?
- Qual é a principal causa de alterações cromossômicas numéricas em seres humanos?
- Desconsiderando o *crossing over*, que aumenta a quantidade de variabilidade genética, estime a probabilidade de que todos os seus cromossomos tenham vindo para você a partir de sua avó paterna e da sua avó materna. Você seria homem ou mulher?
- Um cromossomo que entra em meiose é composto por duas cromátides-irmãs, sendo que cada uma delas é uma molécula única de DNA.
 - Em nossa espécie, no final da meiose I, quantos cromossomos existem por célula? Quantas cromátides?
 - No final da meiose II, quantos cromossomos existem por célula? Quantas cromátides?
 - Quando o número diploide de cromossomos é restaurado? Quando a estrutura de duas cromátides de um cromossomo metafásico típico é restaurada?
- A partir da Figura 2-7, estime o número de genes por milhão de pares de bases nos cromossomos 1, 13, 18, 19, 21 e 22. Seria esperado que uma anormalidade cromossômica de tamanho igual nos cromossomos 18 ou 19 tivesse grande impacto clínico? E nos cromossomos 21 ou 22?