

QUADRO 12-11

As Substituições de Aminoácidos Subjacentes a Três Alelos Comuns de ApoE

Alelo	$\epsilon 2$	$\epsilon 3$	$\epsilon 4$
Aminoácido 112	Cis	Cis	Arg
Aminoácido 158	Cis	Arg	Arg
Frequência na população caucasiana	10%	75%	15%
Frequência nos pacientes com doença de Alzheimer	2%	58%	40%
Efeito na doença de Alzheimer	Protetora	Nenhum conhecido	de 30% a 50% do risco genético de AD

Dados derivados de St George-Hyslop P H., Farrer L. A., Goedert M. (2001) Alzheimer's disease and the fronto-temporal dementias: Disease with cerebral deposition of fibrillar proteins. In Scriver C. R., Beaudet A. L., Sly W. S., Valle D. (eds) The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8.ª ed. McGraw-Hill, New York, pp 5.875-5.902

entre os vários distúrbios. Um padrão de herança dominante ocorre em alguns, e a herança recessiva em outros. Em geral, os genes tipo selvagem associados a estas doenças são polimórficos, com números variáveis mas relativamente baixos de unidades repetidas em tandem (adjacentes). O grau de expansão da unidade repetida que causa a doença às vezes é sutil (como no raro distúrbio distrofia muscular oculofaríngea) e às vezes é explosivo (como na distrofia miotônica congênita ou na grave síndrome do X frágil) (Quadro 12.12).

Outras diferenças incluem a seqüência de bases da repetição; o tamanho da repetição em pessoas normais, pré-sintomáticas e naquelas totalmente afetadas; a localização da repetição dentro dos genes; a patogenia da doença; o grau no qual as repetições são instáveis durante a meiose ou a mitose; e os efeitos do genitor de origem na expansão da repetição. As quatro diferentes doenças que revimos aqui ilustram as similaridades e as diferenças entre as doenças de repetição de trinças descritas até hoje (Quadro 12.12). Estes quatro distúrbios são (1) a doença de Huntington (HD) (e outras doenças neurodegenerativas progressivas, tais como a atrofia muscular espinobulbar e a ataxia espinocerebelar autossômica dominante) devida à expansão de vias de múltiplas glutaminas (poliglutamina); (2) a síndrome do X frágil; (3) a distrofia miotônica e (4) a ataxia de Friedreich.

O Pareamento Desalinhado É Subjacente à Expansão de Repetição de Trinças. O mecanismo bioquímico pelo qual as expansões de repetições de trinças são geradas provavelmente é o mesmo para todas as doenças de repetição de trinças. O mecanismo considerado mais provável é o pareamento desalinhado, que foi apresentado no Cap. 11 (ver Fig. 11.8) como explicação para muitas pequenas deleções em regiões de curtas repetições de seqüências. As inserções também podem surgir por pareamento desalinhado na forquilha de replicação, mediado por repetições diretas tais como (CAG)_n. Ocorre uma inserção quando o filamento recém-sintetizado se dissocia do filamento molde durante a síntese de replicação. O novo filamento pode retroceder para se alinhar com uma cópia repetida que não sua cópia

cognata. Uma vez retomada a síntese de DNA, a molécula desalinhada conterà uma ou mais cópias extras da repetição (dependendo do número de cópias da repetição que foram puladas no evento de desalinhamento).

DISTÚRBIOS DE POLIGLUTAMINA

Doença de Huntington. A HD é um distúrbio bem-conhecido que ilustra muitas das características genéticas e bioquímicas comuns dos distúrbios de poliglutamina. A HD foi inicialmente descrita pelo médico George Huntington, em 1872, em uma família americana de descendência inglesa. A neuropatologia é dominada por degeneração do estriado e do córtex. Os pacientes apresentam-se clinicamente pela primeira vez na meia-idade e manifestam um fenótipo característico de anomalias motoras (coréia, distonia), mudanças de personalidade, perda gradual da cognição e, finalmente, morte.

A HD é um distúrbio autossômico dominante. A perda de função do alelo mutante, causando haploinsuficiência, parece não ser subjacente à herança dominante na HD, pois os pacientes heterozigotos e homozigotos que têm a mutação têm fenótipos idênticos e porque uma deleção de um gene HD não tem fenótipo em humanos. Como será discutido mais adiante, os alelos mutantes parecem conferir propriedades novas à proteína.

Embora inicialmente a HD pareça se comportar como uma condição direta autossômica dominante, havia peculiaridades óbvias em sua ocorrência que não podiam ser explicadas. A idade de manifestação da HD é variável. Apenas cerca de metade dos indivíduos que portam um alelo HD mutante apresenta sintomas com a idade de 40 anos. A doença de manifestação bem precoce, começando durante a infância ou adolescência, ocorre em algumas famílias, mas apenas quando o gene mutante é herdado paternamente. A doença parece se desenvolver em idade cada vez mais jovem quando transmitida ao longo do heredograma, um fenômeno chamado de **antecipação**, mas apenas quando transmitida por um pai afetado e não por uma mãe afetada.

As peculiaridades de herança da HD são hoje prontamente explicadas pela descoberta da mutação: uma expansão de um trecho de repetições de trinca CAG, o códon que especifica o aminoácido glutamina, na região codificante de um gene para uma proteína de função desconhecida chamada huntingtina. Os indivíduos normais possuem entre 9 e 35 repetições CAG em seu gene HD, com uma média de 18 a 19. Os indivíduos afetados por HD têm 40 ou mais repetições, com uma média por volta de 46. Um número limítrofe de repetições de 36 a 39, embora em geral associado à HD, pode ser encontrado em alguns indivíduos que não apresentam sinais da doença mesmo em idade um pouco avançada. Quando a expansão é maior que 40, entretanto, sempre ocorre a doença, e quanto maior a expansão, mais cedo é o início da doença (Fig. 12.25).

Então como uma pessoa tem uma expansão da repetição CAG em seu gene de HD (Fig. 12.26)? De maneira mais comum, ela a herda como uma característica autossômica direta de um genitor afetado que já tem uma repetição expandida (>36). Ao contrário das mutações estáveis, entretanto, o tamanho da repetição pode se expandir na transmissão, resultando em início mais precoce da doença nas últimas gerações (explicando, assim, a antecipação). Por outro lado, as repetições na faixa de 40 a 50 podem não resultar em doença até um período mais tardio da vida, explicando, assim, a penetração dependente de idade. No heredograma mostrado na Fig. 12.26, a pessoa

QUADRO 12-12

Quatro Exemplos Representativos de Doenças por Repetições de Trinças

Doença	Padrão de Herança	Trinca Repetida	Gene Afetado	Localização do Gene	Mecanismo da Doença	N.º de Repetições		
						Normais	Intermediário Instável	Afetado
Doença de Huntington	Autossômica dominante	CAG	huntingtina	região codificante	Efeito tóxico de glutaminas?	< 36	29-35 em geral não-afetados	> 35
X frágil	Ligada ao X	CGG	<i>FMR1</i>	5' não-traduzida	Causa metilação excessiva levando à expressão reduzida de <i>FMR1</i>	< 60	60-200 geralmente não-afetados	> 200
Distrofia miotônica	Autossômica dominante	CTG	<i>DMPK</i>	3' não-traduzida	Obscura?	< 30	50-80 em geral brandamente afetados	80-2.000
Ataxia de Friedreich	Autossômica recessiva	AAG	fataxina	íntron	Interfere no processamento de RNA, levando à expressão reduzida de fataxina	< 34	36-100 (não-interrompida)	> 100

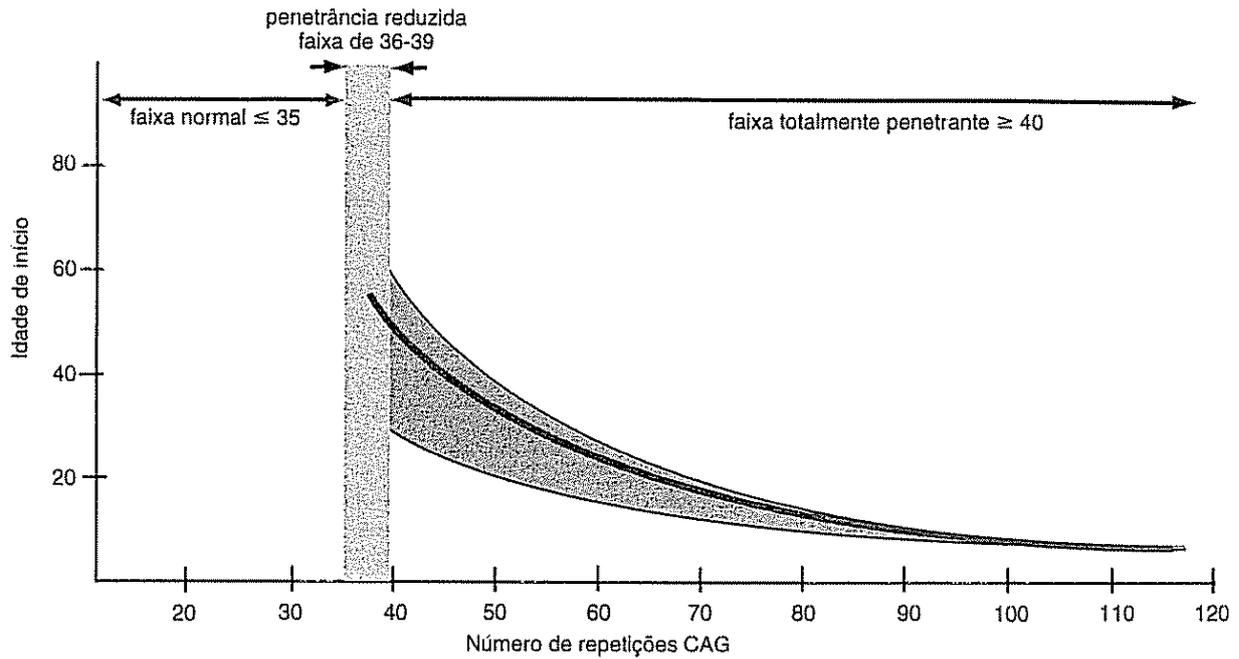


Fig. 12.25 Gráfico correlacionando a idade aproximada de início da doença de Huntington com o número de repetições CAG encontradas no gene *HD*. A linha contínua é a média de idade de início e a área sombreada mostra a faixa da idade de início para cada número de repetições (Dados por cortesia do Dr. M. Macdonald, Massachusetts General Hospital, Boston, Massachusetts)

I-1, falecida, foi diagnosticada com HD aos 64 anos e tinha uma expansão de 46 repetições CAG. Seis de seus filhos herdaram o alelo expandido, e em cinco deles a expansão era maior que em I-1. A pessoa II-3, em particular, tinha o maior número de repetições e tornou-se sintomática durante a adolescência. A pessoa II-9, em contraste, herdou um alelo expandido, mas

continuou assintomática e desenvolverá a doença em algum momento mais tardio da vida.

Ocasionalmente, as pessoas não-afetadas possuem alelos com tamanhos da repetição no limite superior da faixa normal (de 29 a 35 repetições CAG) que, entretanto, podem se expandir durante a meiose para 40 ou mais repetições. Os alelos com repetições

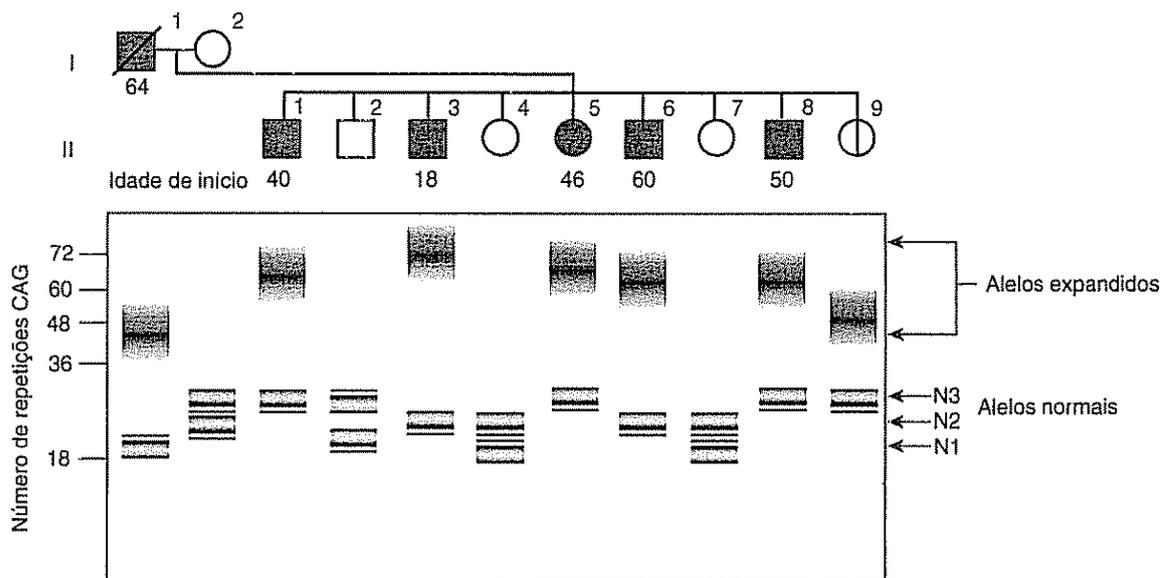


Fig. 12.26 Heredograma de família com doença de Huntington. Abaixo um diagrama esquemático de eletroforese em gel. Abaixo de cada símbolo das pessoas estão os produtos da reação em cadeia da polimerase (PCR) contendo a repetição CAG derivada de duas cópias do gene *HD* da pessoa. A idade dos primeiros sintomas é mostrada abaixo do símbolo de cada indivíduo do heredograma. A pessoa I-1 tem uma expansão repetida que sofreu maior expansão quando passada para seis de seus filhos. Note que a pessoa II-9 é um portador assintomático de um alelo expandido no qual a doença ainda não teve penetrância (O padrão de banda tripla dos alelos normais e o aspecto mais difuso das bandas dos alelos expandidos resulta de dificuldades técnicas nas ampliações de PCR de uma trinca repetida, bem como de mosaicismos somáticos ao longo da repetição dos alelos expandidos)

CAG nos limites superiores do normal que não causam doença, mas são capazes de se expandir para a faixa causadora de doença, são conhecidos como **pré-mutações**. A expansão na HD ocorre com mais frequência durante a gametogênese masculina, o que justifica a forma juvenil mais grave de início precoce da doença, vista com as maiores expansões (de 70 a 121 repetições), é sempre de herança paterna. As repetições expandidas podem continuar a ser instáveis durante a mitose de células somáticas, resultando em algum grau de mosaicismo somático (ver adiante) para o número de repetições em tecidos diferentes do mesmo paciente.

O maior número de pacientes HD conhecido vive na região do Lago Maracaibo, na Venezuela. Estes pacientes são descendentes de um único indivíduo que introduziu o gene na população no início do século XIX. Cerca de 100 pessoas afetadas vivas e outras 900, cada uma com 50% de risco, são atualmente conhecidas na comunidade do Lago Maracaibo. A alta frequência da doença em uma população local descendente de um pequeno número de indivíduos, um dos quais tinha o gene responsável pela doença, é um exemplo de efeito do fundador (ver Cap. 7).

Aspectos Éticos e Consulta Genética na Doença de Huntington. Como a HD em geral não aparece senão após o fim dos anos reprodutivos, é provável que seja transmitida por pessoas que possuem o gene mutante e não sabem que estão em risco. A descoberta inicial de marcadores geneticamente ligados para HD (ver Cap. 8) e depois do gene *HD* com uma expansão CAG como a causa da doença permite um diagnóstico molecular preciso baseado em marcadores de DNA em pessoas assintomáticas em risco. Como não há tratamento ou cura para a HD, entretanto, e como a doença tem um grave prognóstico, existem importantes implicações éticas associadas à análise molecular e à consulta genética para famílias com a doença. Uma pessoa assintomática em risco tem o dever de se submeter ao teste e saber o resultado antes de se reproduzir? É ético deixar que crianças assintomáticas de famílias com HD sejam testadas? Graves traumas psicológicos, inclusive grave depressão e suicídio, resultaram em pessoas assintomáticas em risco que souberam que tinham a mutação de repetição expandida. Em vista destes e de outros problemas correlatos, os enfoques dos testes pré-sintomáticos de HD estão sendo feitos com cautela e com grande preocupação com os membros familiares descobertos em risco.

Atrofia Muscular Espinobulbar e Outros Distúrbios de Poliglutamina. Além da HD, outras doenças são causadas pelas expansões CAG que codificam poliglutamina, tais como a atrofia muscular espinobulbar recessiva ligada ao X (SBMA) e várias ataxias espinocerebelares autossômicas dominantes. Estas condições diferem no gene envolvido, na faixa normal de repetição, no limiar da doença clínica causada pela expansão e nas regiões do cérebro afetadas. Todas compartilham com a HD a característica fundamental de que resultam de uma instabilidade de um trecho de nucleotídeos CAG repetidos, levando a uma expansão de glutaminas em uma proteína.

O funcionamento normal das proteínas que podem conter as repetições expandidas é amplamente desconhecido, com exceção da SBMA, na qual a expansão ocorre no gene de receptor de hormônio andrógeno. O exemplo da SBMA é importante para a compreensão da patogenia dos distúrbios de poliglutamina, pois já se sabe que a perda completa de função do receptor de andró-

geno não leva à SBMA, mas causa insensibilidade androgênica, um defeito no desenvolvimento genital masculino (ver Cap. 10). Assim, é improvável que a perda de função de várias proteínas com poliglutaminas expandidas seja o mecanismo patogênico nestes distúrbios.

Patogenia das Doenças Decorrentes de Expansões (CAG)_n. Parece que as proteínas mutantes com poliglutamina expandida são mutantes com propriedades novas (ver Cap. 11), e a expansão confere características à proteína que danificam populações específicas de neurônios e produzem neurodegeneração por um mecanismo tóxico único. Conseqüentemente, as expansões (CAG)_n não são tidas como patogênicas devido ao alongamento do trecho com repetições (CAG)_n no gene correspondente ou nos RNAs produzidos em si.

A cadeia de eventos que leva da via expandida de poliglutamina — que está presente bem cedo na vida dos neurônios afetados — até a morte das células, décadas mais tarde, é desconhecida e é um dos problemas não-resolvidos mais fascinantes na genética humana e médica. Entretanto, vários achados importantes começaram a dar esclarecimentos sobre o problema. Primeiro, apenas um subgrupo de neurônios é afetado, muito embora a proteína mutante (huntingtina) seja amplamente expressa no sistema nervoso, bem como em outros tecidos. Este achado sugere que algumas características da população neuronal afetada a tornam unicamente vulnerável aos efeitos tóxicos da proteína mutante.

Segundo, várias anomalias histológicas foram identificadas nos tecidos afetados (amplamente em modelos de camundongo destas doenças), mas a mais marcante é a presença de inclusões nucleares em algumas das doenças de expansão. As inclusões contêm, além de outras proteínas, a proteína mutante com expansão de poliglutamina e podem refletir eventos de mau dobramento da proteína. Entretanto, embora estas inclusões sejam marcantes, parece que sua formação não é essencial para a morte neuronal. Em pelo menos algumas doenças de expansão de (CAG)_n, a localização nuclear da proteína expandida não é necessária para a patogenia. Terceiro, a via expandida de poliglutamina, e não toda a proteína com a via expandida, parece ser suficiente para causar a morte neuronal. Embora um modelo unificador da morte neuronal mediada por poliglutamina expandida não esteja disponível, parece provável que o estudo de modelos animais destes distúrbios virá a fornecer informações cruciais nesta década. Tais informações podem muito bem levar a terapias para evitar ou reverter a patogenia destes distúrbios de evolução lenta.

SÍNDROME DO X FRÁGIL

A **síndrome do X frágil** (Fig. 12.27) é a forma herdável mais comum de retardo mental de moderado a grave, sendo a síndrome de Down a primeira entre todas as causas de retardo mental moderado em homens. A síndrome é tão comum que requer consideração no diagnóstico diferencial de retardo mental em homens e mulheres e está entre as indicações mais frequentes para a análise de DNA, a consulta genética e o diagnóstico pré-natal. O nome "X frágil" refere-se a um marcador citogenético no cromossomo X em Xq27.3, um "sítio frágil" no qual a cromatina não se condensa apropriadamente durante a mitose (Fig. 12.28). A síndrome do X frágil, que tem uma frequência de pelo menos 1 em 4.000 nascimentos masculinos, pode responder por grande parte do excesso de homens na população mentalmente retardada.