



Fig. 12.29 Distrofia miotônica, uma condição autossômica dominante com expressividade variável em gravidade clínica e idade de início. Nesta família, a avó (esquerda) teve catarata bilateral, mas não a fraqueza facial ou os sintomas musculares. Sua filha foi tida como não-afetada até o nascimento de seu filho gravemente afetado, mas ela agora apresenta uma fraqueza facial moderada e ptose, com miotonia, e submeteu-se à extração de catarata. A criança tem distrofia miotônica congênita. (De Harper P. S. [1989] *Myotonic Dystrophy*, 2ª ed. WB Saunders, Philadelphia, p. 18.)

nica é quase sempre de origem materna. Não sabemos se a expansão de CAG no gene *DMPK* causa a doença interferindo na expressão do próprio *DMPK*, na expressão de outros genes vizinhos, ou ambos.

#### ATAXIA DE FRIEDREICH

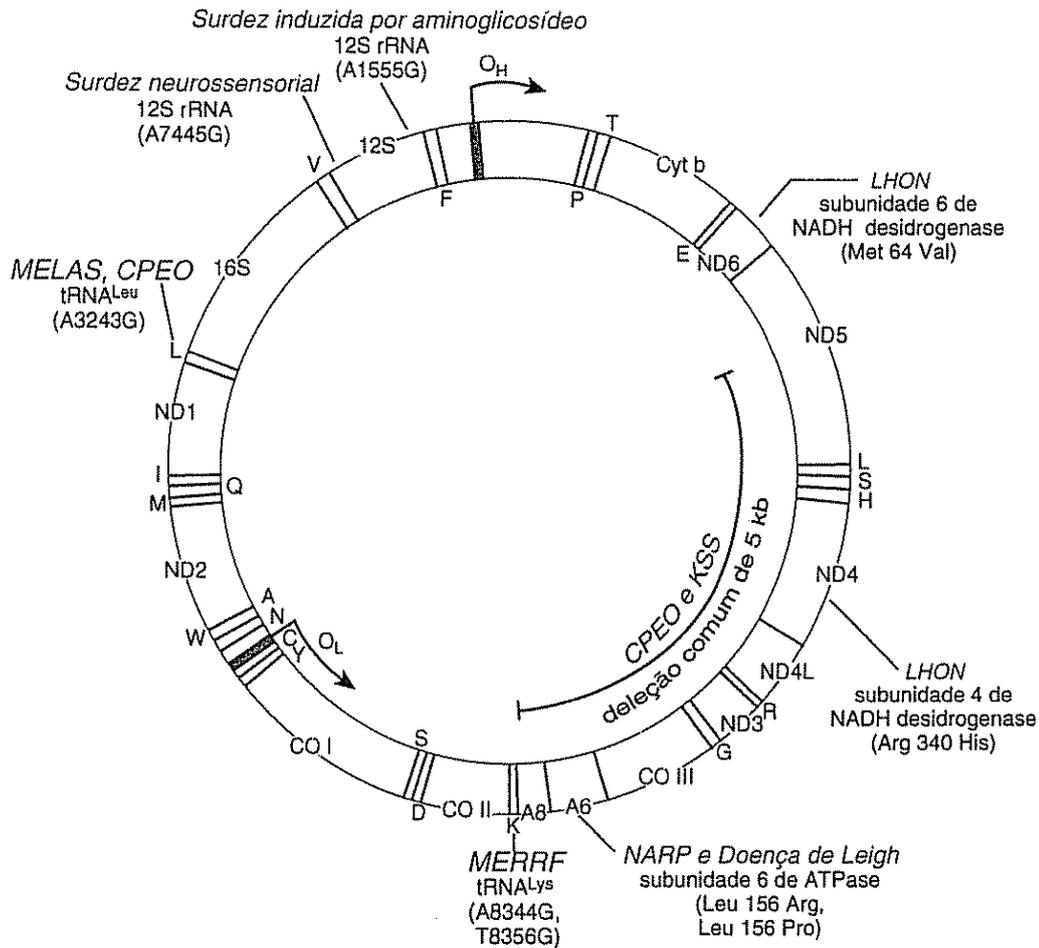
A **ataxia de Friedreich**, uma ataxia espinocerebelar, constitui uma quarta categoria de doenças por repetição de trinca (ver Quadro 12.12). A doença é autossômica recessiva, em contraste com a HD, a distrofia miotônica e a síndrome do X frágil. O distúrbio normalmente se manifesta antes da adolescência e em geral é caracterizado por movimentos descoordenados dos membros, dificuldade de fala, diminuição ou ausência de reflexos, prejuízo posicional e de sensações vibratórias, escoliose e deformidades dos pés. Na maioria dos casos, a ataxia de Friedreich é causada por ampliação de outra repetição de trinca, AAG, situada em um íntron de um gene que codifica uma proteína mitocondrial chamada frataxina, envolvida no metabolismo do ferro. Nas pessoas normais, o tamanho da repetição varia de 7 a 34 cópias, enquanto a expansão da repetição nos pacientes está entre 100 e 1.200 cópias. A expansão dentro do íntron interfere na expressão normal do gene de frataxina. Como a ataxia de Friedreich é recessiva, é necessário que haja perda de expressão de ambos os alelos para que a doença ocorra. De fato, alguns pacientes são conhecidos como heterozigotos compostos, nos quais um alelo tem a mutação de repetição AAG intrônica ampliada e o outro uma mutação de nucleotídeo.

#### Doenças de DNA Mitocondrial e Herança Materna

**A Molécula de mtDNA.** Como foi descrito no Cap. 3, nem todo o RNA e a proteína sintetizada em uma célula são codificados pelo DNA do núcleo. Uma pequena mas importante fra-

ção é codificada por genes dentro do genoma mitocondrial. Este genoma, cuja sequência completa foi relatada em 1981, tem aproximadamente 16,5 kb de tamanho (Fig. 12.30). O DNA mitocondrial (mtDNA) é embalado em um cromossomo circular dentro da organela mitocondrial, não no núcleo. A molécula compacta de mtDNA contém 37 genes. Os genes codificam dois tipos de RNA ribossômico, 22 tRNAs e 13 polipeptídeos que são subunidades de enzimas de fosforilação oxidativa (OXPHOS). Os outros 74 polipeptídeos do complexo OXPHOS são codificados pelo genoma nuclear. Assim, as doenças de OXPHOS podem ser decorrentes de mutações no genoma de mtDNA ou de mutações nos genes nucleares que codificam os componentes de OXPHOS. A maioria das células contém pelo menos 1.000 moléculas de mtDNA, distribuídas entre centenas de mitocôndrias individuais. Uma marcante exceção é o ovócito maduro, que tem mais de 100.000 cópias de mtDNA, compreendendo cerca de um terço do conteúdo total de DNA destas células.

**Funções da Fosforilação Oxidativa e Doenças de mtDNA.** O complexo OXPHOS é central para três das principais funções das mitocôndrias. A alteração destas atividades, decorrente de mutações no mtDNA, provavelmente é subjacente à disfunção celular e à morte celular que ocorrem nas doenças de mtDNA. A função primária do OXPHOS é produzir energia para a célula. A formação diminuída de ATP caracteriza muitas doenças de mtDNA. Uma segunda função de OXPHOS é gerar espécies reativas de oxigênio, como subproduto de OXPHOS. O aumento de produção destas espécies ocorre em alguns defeitos de OXPHOS, um fator que também contribui para a morte celular. Terceiro, as mitocôndrias integram muitos sinais que iniciam a apoptose. Este processo usa alguns polipeptídeos de OXPHOS, e as mutações no mtDNA podem aumentar a predileção pela apoptose. A miopatia mitocondrial em geral associada a mutações de mtDNA é



**Fig. 12.30** A molécula de DNA mitocondrial mostrando a localização dos genes codificantes de 22 tRNAs, dois rRNAs e 13 proteínas do complexo de fosforilação oxidativa (OXPHOS). Algumas das substituições mais comuns causadoras de doença e deleções no genoma de mtDNA também são ilustradas.  $O_H$  e  $O_L$  são as origens de replicação dos dois filamentos de DNA, respectivamente; 12S = RNA ribossomal 12S; 16S = RNA ribossomal 16S. Os tRNAs são indicados pelo código de uma letra para seus aminoácidos correspondentes (p ex., L para leucina, K para lisina, e assim por diante). Os polipeptídeos 13 OXPHOS codificados pelo mtDNA 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 Cit *c* (COI, COII, COIII); e *Complexo V*: ATPase 6 (ATP-6, ATP-8). As abreviações de doenças usadas nas figuras (p ex., MELAS, MERRF) são explicadas no Quadro 12.13 (Adaptada em parte de Shoffner J. M., Wallace D. C. [1995] Oxidative phosphorylation disease. In Scriver C. R., Beaudet A. L., Sly W. S., Valle D. [eds.] *The Metabolic Bases of Inherited Disease*, 7ª ed. McGraw-Hill, New York. O conceito de ilustrar as mutações na molécula de mtDNA surgiu de Johns D. R. [1995] *Mitochondrial DNA and disease*. *New Engl J Med* 333: 638-644.)

caracterizada pelas chamadas fibras vermelhas anfractuadas, um fenótipo histológico causado por degeneração das fibras musculares e proliferação de mitocôndrias musculares anormais.

#### A GENÉTICA DAS DOENÇAS DE mtDNA

As primeiras mutações patogênicas no mtDNA foram identificadas no início da década de 1990. Inesperado e ainda inexplicado é o fato de que o genoma de mtDNA muta a uma taxa cerca de 10 vezes maior que o DNA nuclear. A gama de doenças clínicas resultantes de mutações no mtDNA é diversa (Fig. 12.31), embora predomine a doença neuromuscular. Mais de 100 rearranjos diferentes e 50 mutações de ponto que são relacionadas a doenças foram identificados no mtDNA. As mutações representativas e as doenças a elas associadas são apresentadas na Fig. 12.30 e no Quadro 12.13. Três tipos de mutações foram identificados no mtDNA: (1) mutações de sentido trocado nas

regiões codificantes dos genes que alteram a atividade de uma proteína OXPHOS; (2) mutações de ponto nos genes de tRNA ou rRNA que prejudicam a síntese de proteínas mitocondriais e (3) rearranjos que geram deleções ou duplicações da molécula de mtDNA.

Como indicado no Cap. 5, alguns heredogramas de doenças herdadas que não podiam ser explicadas por herança mendeliana típica de genes nucleares são hoje conhecidas como sendo causadas por mutações no mtDNA e por manifestar herança materna. Os distúrbios causados por mutações no mtDNA demonstram várias características incomuns que resultam de aspectos únicos da biologia e do funcionamento mitocondrial.

#### Herança Materna do mtDNA

Uma característica particular da genética do mtDNA, comparada com o genoma nuclear, é sua **herança materna**. Em contraste com a abundância de mitocôndrias em cada ovócito, os es-

## QUADRO 12-13

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

Doença	Fenótipo	Mutação mais Frequente na Molécula de mtDNA	Homoplásmica versus Heteroplásmica	Herança
Neuropatia óptica hereditária de Leber	Morte rápida do nervo óptico, levando à cegueira na vida adulta jovem	Substituição Arg340His no gene <i>ND1</i> do complexo I da cadeia de transporte de elétrons; outras mutações de sentido trocado do complexo I	Homoplásmica (geralmente)	Materna
NARP, doença de Leigh	Neuropatia, ataxia, retinite pigmentosa, retardo de desenvolvimento, retardo mental, acrdemia láctica	Mutações de ponto na subunidade ATPase do gene 6	Heteroplásmica	Materna
MELAS	Encefalopatia mitocondrial, acidose láctica e episódios tipo derrame; pode se manifestar apenas como diabetes melito	Mutação de ponto no tRNA <sup>Leu</sup>	Heteroplásmica	Materna
MERRF	Epilepsia mioclônica, fibras vermelhas anfractuadas no músculo, ataxia, surdez neurossensorial	Mutação de ponto no tRNA <sup>Leu</sup>	Heteroplásmica	Materna
Surdez	Surdez neurossensorial progressiva, em geral induzida por antibióticos aminoglicosídicos	Mutação A1555G no rRNA 12S	Homoplásmica	Materna
Oftalmoplegia externa progressiva crônica (CPEO)	Surdez neurossensorial não-sindrômica Fraqueza progressiva dos músculos extra-oculares	Mutação A7445G no rRNA 12S A mutação de ponto MELAS comum no tRNA <sup>Leu</sup> , grandes deleções similares a KSS	Homoplásmica Heteroplásmica	Materna Materna, se mutações de ponto
Síndrome de Pearson	Insuficiência pancreática, pancitopenia, acidose láctica	Grandes deleções	Heteroplásmica	Mutações somáticas, esporádicas
Síndrome de Kearns-Sayre (KSS)	PEO de início precoce com bloqueio cardíaco, pigmentação da retina	Grande deleção de 5 kb	Heteroplásmica	Mutações somáticas, esporádicas

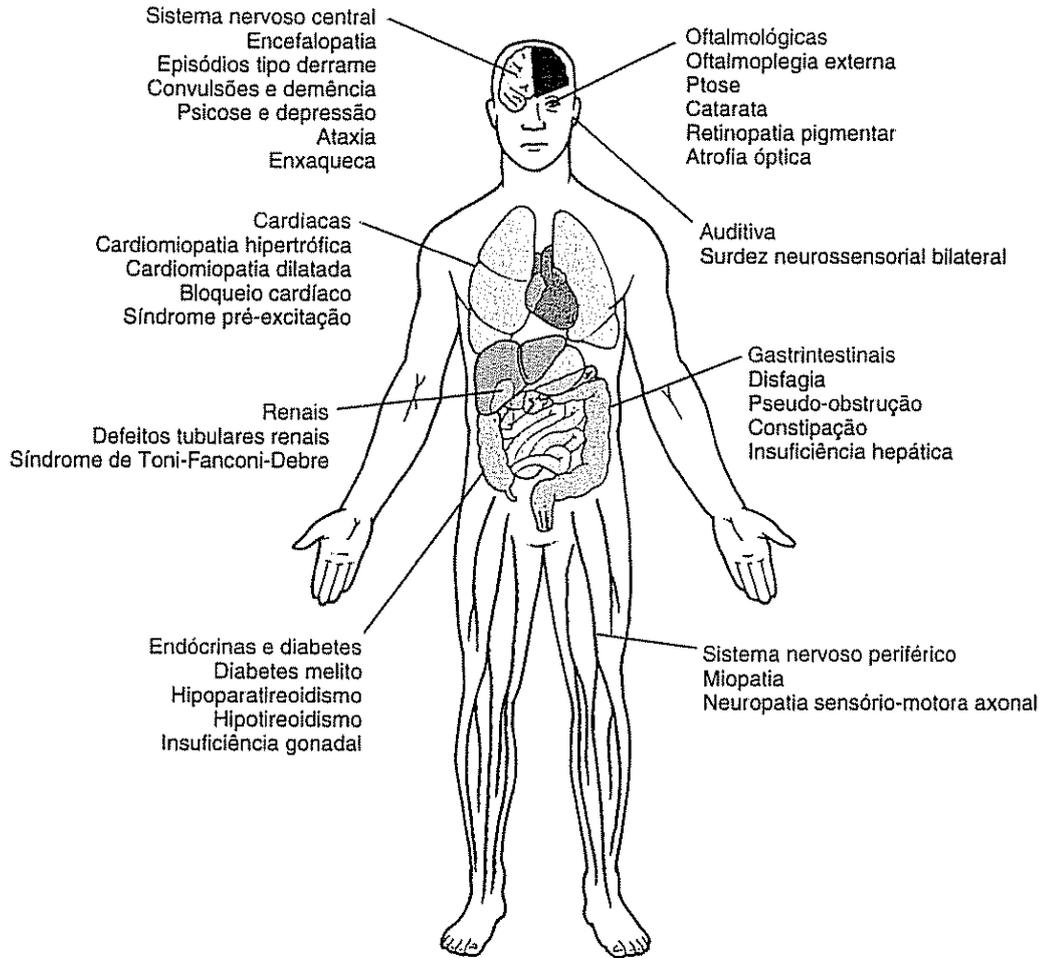


Fig. 12.31 A gama de tecidos afetados e fenótipos clínicos associados a mutações no mtDNA (Modificado de Chinnery P. F., Turnbull D. M. [1999] Mitochondrial DNA and disease. Lancet 354:SI17-SI21)

permatozóides contêm poucas mitocôndrias, e estas poucas não passam para a prole. Uma criança, portanto, herda todo o seu mtDNA da mãe e nada do pai. Suas filhas, por sua vez, transmitem o mtDNA, mas seus filhos não. Assim, todos os filhos de uma *mulher* com uma mutação no mtDNA herdam a mutação, enquanto nenhuma prole de um *homem* portador da mesma mutação herdará o DNA defeituoso. Um exemplo de um heredograma que manifesta herança materna de uma mutação no mtDNA que causa **neuropatia óptica hereditária de Leber (LHON)** é mostrado na Fig. 12.32.

Homoplasmia e Heteroplasmia

Uma segunda característica única da genética do mtDNA surge do fato de que a maioria das células contém, como já foi mencionado, mais de 1 000 moléculas de mtDNA. Quando surge uma mutação no mtDNA, ela primeiro se apresenta em apenas uma das moléculas de mtDNA de uma mitocôndria. Quando a mitocôndria se divide por simples fissão, cada molécula de mtDNA replica-se dentro da mitocôndria. As moléculas de mtDNA distribuem-se aleatoriamente entre as novas organelas, e as mitocôndrias distribuem-se aleatoria-

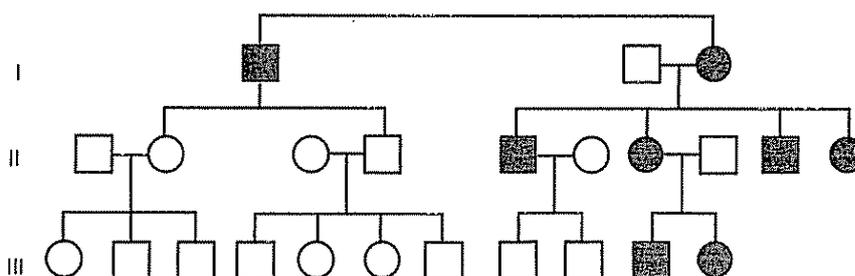


Fig. 12.32 Heredograma da neuropatia óptica hereditária de Leber, um distúrbio causado por um defeito no DNA mitocondrial. A herança é apenas pela linhagem materna, de acordo com a conhecida herança materna de DNA mitocondrial. Nenhum homem afetado transmite a doença.

mente entre as células filhas. Assim, quando uma célula contendo uma mistura de mtDNAs normais e mutantes se divide, suas células filhas podem, por acaso, receber mitocôndrias que contêm apenas uma população pura de mtDNA normal ou uma população pura de mtDNA mutantes (uma situação conhecida como **homoplasmia**). Alternativamente, a célula filha pode receber uma mistura de mitocôndrias, algumas com e outras sem a mutação (**heteroplasmia**) (Fig. 12.33). Como a expressão fenotípica de uma mutação no mtDNA depende das proporções relativas de mtDNA normal e mutante nas células que constituem tecidos diferentes, a penetrância reduzida, a expressividade variável e a pleiotropia são todas características típicas de heredogramas de distúrbios mitocondriais.

A heteroplasmia está associada a três características adicionais da genética do mtDNA que são de significado médico. Primeiro, as moléculas de mtDNA deletadas, uma classe comum de mutação de mtDNA que será discutida mais adiante, em geral não são transmitidas por mães clinicamente afetadas para seus filhos (os motivos desta exclusão não estão claros). Por outro lado, as mulheres portadoras de mutações de ponto de mtDNA heteroplásmico, ou de duplicações do mtDNA, em geral transmitem alguns mtDNAs mutantes para sua prole. Segundo, o número de moléculas de mtDNA dentro de cada ovócito é reduzido antes de ser subsequentemente ampliado para o enorme total visto nos ovócitos maduros. Esta restrição e subsequente ampliação de mtDNA durante a ovocitogênese é chamada de **"gargalo genético" mitocondrial**. Em consequência, a variabilidade na porcentagem de moléculas de mtDNA mutante vista na prole de uma mãe portadora de mutação em mtDNA surge, pelo menos em parte, pela amostragem de apenas um subgrupo de mtDNAs durante a ovocitogênese. Terceiro, a despeito da variabilidade no grau de heteroplasmia que surge deste "gargalo", as mães com uma alta proporção de moléculas mutantes de

mtDNA são mais propensas a ter prole clinicamente alterada que as mães com uma proporção menor.

**Interação de Genomas Mitocondriais e Nucleares.** Como tanto os genomas nuclear quanto mitocondrial contribuem com polipeptídeos para OXPHOS, não é surpreendente que os fenótipos associados a mutações nos genes nucleares em geral sejam indistinguíveis daqueles decorrentes de mutações no mtDNA. A evidência genética demonstrou, entretanto, que existe uma relação mais direta entre os genomas nuclear e mtDNA. A primeira indicação desta interação foi fornecida pela identificação da síndrome de **deleções no mtDNA transmitidas autossomicamente**, cujo fenótipo se assemelha à oftalmoplegia externa progressiva crônica (CPEO) (ver Quadro 12.13). Pode ser necessário mais de um gene autossômico para a integridade do mtDNA normal, pois tanto a forma autossômica dominante quanto a forma autossômica recessiva desta síndrome já foram reconhecidas. Uma segunda doença autossômica rara demonstrou que pelo menos um gene nuclear regula a abundância de moléculas de mtDNA. Este distúrbio, chamado de **síndrome de depleção de mtDNA**, é caracterizado por uma redução quantitativa no número de cópias de mtDNA em vários tecidos. O fenótipo clínico inclui miopatia, bem como outras características também encontradas nas doenças de mtDNA.

#### FENÓTIPO NOS DISTÚRBIOS MITOCONDRIAIS

As mutações mitocondriais em geral afetam os tecidos que precisam de uma fosforilação oxidativa íntata para atender às altas demandas de energia metabólica. Assim, as doenças mitocondriais com frequência envolvem o sistema neuromuscular e produzem encefalopatia, miopatia, ataxia, degeneração da retina e perda de funcionalidade dos músculos oculares externos. O espectro de doenças mitocondriais é muito amplo, entretanto, e, como ilustrado na Fig. 12.31, pode incluir dis-

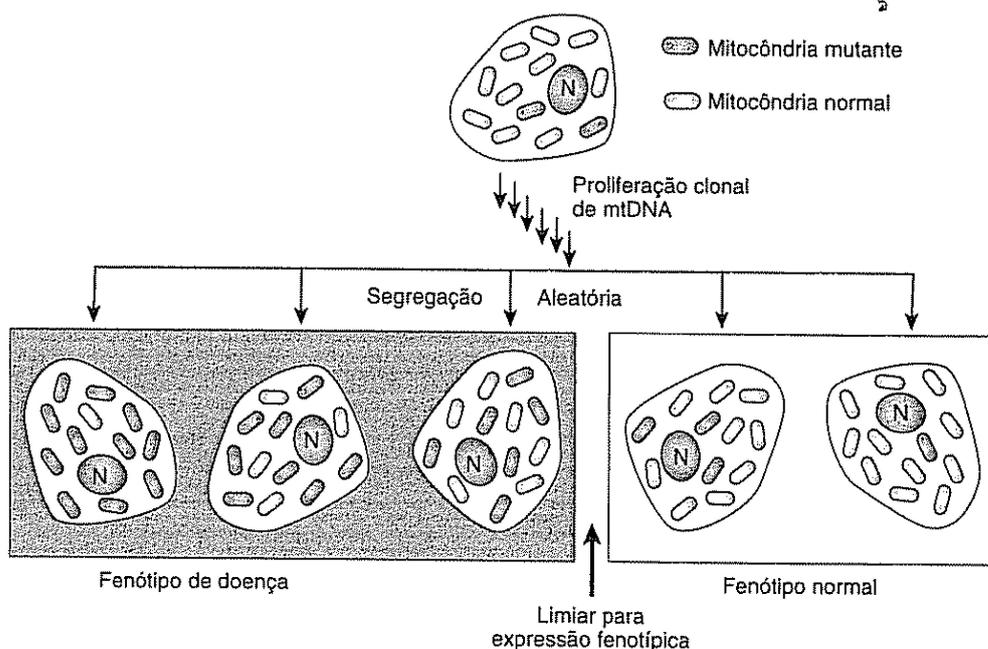


Fig. 12.33 Segregação replicativa de uma mutação mitocondrial heteroplásmica. A repartição aleatória de mitocôndrias mutantes e tipo selvagem por rodadas múltiplas de mitose produz uma coleção de células filhas com ampla variação na proporção de mitocôndrias mutantes e tipo selvagem levadas em cada célula. Resultam disfunções celulares e tissulares quando a fração de mitocôndrias portadoras da mutação excede um limiar.

função hepática, insuficiência de medula óssea, deficiência de células das ilhotas e diabetes, surdez, bem como outros distúrbios.

O grau de distribuição de heteroplasmia contribui significativamente para a pleiotropia e a expressividade variável vistas nas mutações de mtDNA (ver Fig. 12.33 e Quadro 12.13). Por exemplo, em uma única família, uma população de mtDNA mutante pode estar associada a diabetes e surdez em uma pessoa e grave encefalopatia e convulsões em outra. Uma ilustração similar é dada pelo que parece ser a mais comum mutação de mtDNA (sua frequência na população finlandesa é de 1/7.000 pessoas), a mutação A3243G no gene de tRNA<sup>leu</sup> (a nomenclatura refere-se ao nucleotídeo normal na posição 3243 da molécula de mtDNA, seguido do nucleotídeo substituído). Esta mutação em geral está associada ao fenótipo chamado de MELAS (ver Fig. 12.30 e Quadro 12.13), um acrônimo para encefalomiopatia mitocondrial com acidose láctica e episódios tipo derrame (*stroke-like*). Em algumas famílias, entretanto, esta mutação causa predominantemente diabetes e surdez, em outras há CPEO (ver Quadro 12.13) e outras, ainda, apresentam cardiomiopatia. Em adição, entre 0,5% a 1,5% dos casos de diabetes melito da população em geral têm sido atribuídos à substituição A3243G.

Em algumas doenças de mtDNA, tais como a **epilepsia mioclônica com fibras vermelhas anfractuadas** (ver Quadro 12.13), a heteroplasmia é comum. A herança materna ocorre, mas agora há uma complexidade adicional ao padrão de herança e ao fenótipo porque cada criança herdará números variáveis de mitocôndrias com a mutação. Finalmente, a heteroplasmia é a regra na síndrome de Kearns-Sayre e na síndrome de Pearson (ver Quadro 12.13). Estes distúrbios ocorrem como casos esporádicos na família, e não há herança materna do distúrbio porque cada paciente representa uma mutação nova no DNA mitocondrial.

**As Doenças no mtDNA São Multifatoriais.** Embora a heteroplasmia seja a principal fonte de variabilidade fenotípica nas doenças de mtDNA, fatores adicionais também devem desempenhar um papel. Uma forte evidência para a existência de tais fatores é fornecida pelas famílias portadoras de mutações associadas à LHON, uma condição na qual as mutações em geral são homoplásmicas. A LHON expressa-se fenotipicamente como uma perda rápida e bilateral da visão central causada pela morte do nervo óptico em adultos jovens. As pessoas afetadas podem ser homens ou mulheres, mas há um aumento marcante e inexplicado na penetrância da doença em homens: de 80% a 90% dos homens portadores em heredogramas caucasianos desenvolvem perda visual, mas apenas de 8% a 32% das mulheres são afetadas. O fato de que as mutações LHON raramente são associadas a qualquer fenótipo fora do olho, bem como a penetrância variável influenciada pelo sexo, dão uma evidência direta de que a LHON é de origem multifatorial. Além disso, tanto o álcool quanto o tabaco são importantes fatores ecogenéticos associados ao aumento de probabilidade de cegueira nos portadores de mutações LHON.

## DOENÇAS FARMACOGENÉTICAS

A incidência geral de reações adversas a drogas, pelo menos nos hospitais dos EUA, é de cerca de 6,7%. As reações fatais a drogas ocorrem com uma incidência de cerca de 0,3%. Estas reações não-antecipadas a medicamentos são muito, se não totalmente, determinadas por fatores genéticos. A **farmacogenética**

é a área especial da genética bioquímica que lida com a variabilidade na resposta a drogas que é decorrente de variação genética. Em seu sentido restrito, a farmacogenética pode ser restrita às variações genéticas que alteram a habilidade do corpo no que diz respeito a absorver, transportar, metabolizar ou excretar drogas ou seus metabólitos. Em termos mais amplos e mais úteis, a farmacogenética inclui qualquer variação geneticamente determinada em resposta a drogas. Este tipo de variação inclui, por exemplo, o efeito dos barbituratos em precipitar uma doença clínica em pessoas com porfiria intermitente aguda (ver mais adiante), bem como o efeito do uso de álcool por mulheres grávidas sobre a incidência da síndrome do álcool fetal. Cinco exemplos de importantes variações farmacogenéticas são descritos resumidamente nesta seção.

A origem dos polimorfismos de respostas a drogas e os mecanismos pelos quais eles são mantidos geram um problema interessante. Eles obviamente não se desenvolveram em resposta a drogas, pois antecedem as respectivas drogas. Lidar com as drogas, bem como responder a elas, requer muitas reações bioquímicas, e as enzimas envolvidas podem participar do metabolismo de substâncias comuns nos alimentos. Sugeriu-se que estes polimorfismos surgiram como resultado de pressões seletivas dietéticas diferentes em populações diferentes. Esta visão é apoiada pela distribuição geográfica de muitos destes alelos.

Reconhecendo que há uma variação normal em resposta a drogas, os farmacologistas definem a "potência" de uma droga pela dose que produz um determinado efeito em 50% da população. Para características genéticas, a variação contínua em geral é mais bem explicada com base na herança multifatorial ou por uma combinação de fatores genéticos e ambientais, como discutido no Cap. 15. Mas a resposta às drogas também pode apresentar variação descontínua, com grandes distinções entre graus diferentes de resposta. O achado de uma distribuição populacional bimodal ou trimodal da atividade de uma enzima do metabolismo de uma droga pode indicar que a enzima é codificada por alelos em um único locus polimórfico.

## Problemas Genéticos na Anestesia

### HIPERTERMIA MALIGNA

A hipertermia maligna é uma condição autossômica dominante na qual pode haver uma resposta adversa intensa à administração de todos os anestésicos de inalação comumente usados (p. ex., halotano) e relaxantes musculares tais como o cloreto de succinilcolina, desenvolvimento de uma temperatura muito alta, parada de contração muscular e hipercatabolismo. A condição é uma causa importante, se não comum, de morte na anestesia, com uma incidência que é maior em crianças (1 em 12.000) que em adultos (1 em 100.000). Curiosamente, os homens com hipertermia maligna superam as mulheres, 2,5 para 1, uma diferença que provavelmente tem base hormonal.

A anomalia fisiológica fundamental na doença é um nível elevado de cálcio ionizado no sarcoplasma do músculo. Este aumento leva a uma rigidez muscular, à elevação da temperatura corpórea e a outras anomalias. A maioria dos casos de hipertermia maligna está associada a mutações em um gene chamado *RYR1*, codificando o canal de liberação de cálcio. O gene *RYR1* está mapeado no cromossomo 19. A análise de ligação indica que as mutações em *RYR1* são responsáveis por apenas cerca de 50% dos casos, e até o momento as mutações neste gene foram encontradas em 40% das famílias com hipertermia maligna. Vá-