

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

Catedra Biologie moleculară și Genetică umană

Curs

Genetica umană

II

Chișinău, 2012

Cuprinsul

CURS 7.....	3
GENELE UMANE.....	3
CURS 8.....	16
TEHNICI DE ANALIZĂ A GENELOR	16
CURS 9.....	22
CARACTERE EREDITARE	22
CARACTERISTICA GENELOR ALELE ȘI NEALELE	22
CARACTERE MONOGENICE MENDELIENE	23
DETERMINISMUL UNOR CARACTERE EREDITARE NORMALE	24
CARACTERE MONOGENICE NON-MENDELIENE.....	25
CARACTERE EREDITARE NORMALE POLIGENICE.....	27
CURS 10.....	29
STUDIUL CARACTERELOR EREDITARE	29
PARTICULARITĂȚILE CARACTERELOR EREDITARE.....	29
METODE DE STUDIU UTILIZATE ÎN GENETICA UMANĂ.....	31
CURS 11.....	35
INTRODUCERE ÎN PATOLOGIA GENETICĂ UMANĂ.....	35
ASPECTE COMUNE ÎN PATOGENEZA BOLILOR GENETICE	37
BOLI CROMOZOMIALE	39
BOLI MONOGENICE.....	42
TESTAREA GENETICĂ.....	53

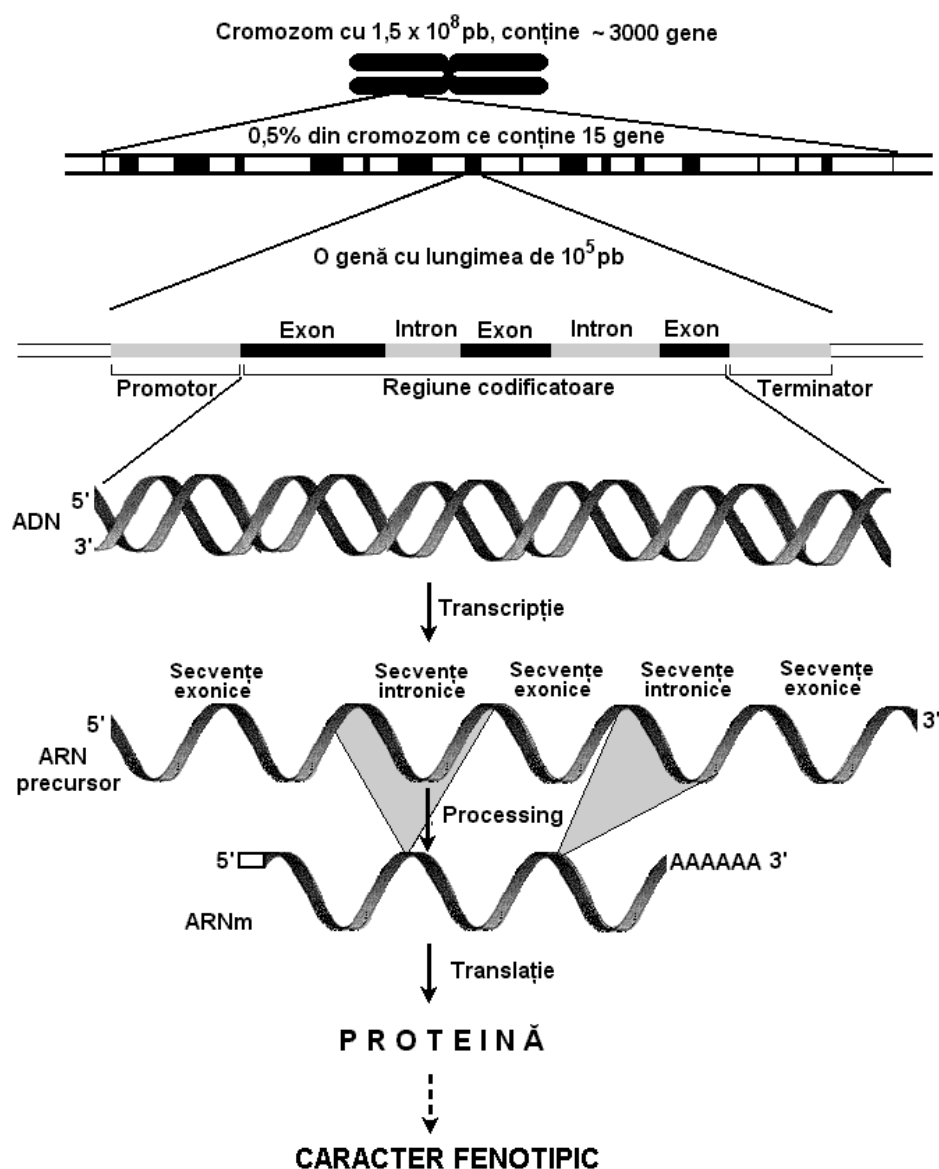
CURS 7

GENELE UMANE

În conceptul clasic gena este un segment cromozomial ce controlează expresia fenotipică a unui caracter, iar în conceptul contemporan gena reprezintă un segment polinucleotidic al moleculei de ADN ce codifică sinteza unei molecule specifice – polipeptid sau ARN.

Astfel substratul molecular al informației genetice este molecula de ADN, iar substratul molecular al caracterului morfologic, biochimic sau fiziologic este proteina.

Genele umane se clasifică în două categorii majore: gene structurale care codifică polipeptide și gene codificatoare de molecule de ARNr și ARNt.



ORGANIZAREA GENERALĂ A GENELOR STRUCTURALE

Gena structurală reprezintă o combinație de secvențe nucleotidice reglatoare și codificatoare:

- secvențe reglatoare proximale – promotorul, enhanceri și silenseri, care sunt responsabili de controlul inițierii transcripției, ratei și vitezei transcripției;
- secvențe reglatoare distale – terminatorul și situsul de poliadenilare, care intervin în controlul terminării procesului de transcripție și maturizării ARN-transcriptului primar;
- secvența codificatoare ce este formată din exoni separați de introni.

Genele sunt localizate în lungul moleculei de ADN cu o poziție fixă (locus) și sunt separate una de alta prin secvențe necodificatoare – spaceri. Ele nu au granițe morfologice, au numai granițe funcționale, ce se stabilesc în procesul transcripției.

În genomul uman se descriu circa 30000 perechi gene structurale ce constituie circa 25% din genom (la 50% din ele funcția este cunoscută).

Dimensiunile genelor umane sunt diferite și au o lungime medie de 3000p.n., de ex:

- gena β globinei – 1, 5 kb;
- gena insulinei - 1, 7 kb;
- gena catalazei - 34 kb;
- gena distrofinei - 2,5 mb;

Clasificarea genelor umane după dimensiuni

Categoria	Exemple	Dimensiunile genei, kb	Dimensiunile ARNm, kb	Numărul intronilor
Gene mici	α -globina	0,8	0,5	2
	β -globina	1,5	0,6	2
	Insulina	1,7	0,4	2
Gene medii	Factorul IX de coagulare	34,0	2,8	7
	Catalaza	34,0	1,6	12
Gene mari	Fenilalaninhidroxilaza	90	2,4	12
Gene gigante	Factorul VIII de coagulare	186,0	9	26
	Tireoglobulina	~300,0	8,7	36
Gene supergigante	Distrofina	~2000,0	16,0	60

Repartizarea genelor umane după lungime

Lungimea, kb	% de la numărul total
până la 10	23,3
10-25	35,6
25-50	20,2
51-100	13,0
101-500	6,7
peste 500	1,2

PARTICULARITĂȚILE GENELOR STRUCTURALE UMANE:

A. au o organizare complexă:

- pot prezenta mai mult de un promotor sau situsuri de inițiere al transcripției;
- pot prezenta mai mulți codoni de inițiere și codoni STOP;
- prezintă secvențe complexe de reglare a transcripției;
- asigură diferite variante de splicing alternativ;

B. se caracterizează prin prezența unor mecanisme de reglare combinată a activității genelor (complexă și precisă în spațiu și în timp):

- în dependență de tipul celulei;
- în dependență de perioada ontogenetică a celulei și a organismului;

- în dependență de factorii de mediu interni sau externi.

Genă distrofinei și izoformele distrofinei

Tipuri		Lungimea ARNm, kb	Localizarea promotorului	Expresie
Dimensiuni complete	Musculară	14	Capătul 5' netranscris	Inimă, mușchi scheletici
	Cerebrală	14	Intronul 1	Scoarța Hipocamp
	Cerebrală	14	Intronul 1	Celulele Purkinje
Forme scurte	1-Dp71	4,5-4,8	Intronul 63	Oriunde, în afară de mușchi
	2-Dp116	5,5	Intronul 56	Nervii periferici
	3-Dp40	2,2		Oriunde, în afară de mușchi
	Dp140	7,5	Intronul 44	Neuroni embrionali
	Dp260			Retină

PROPRIETĂȚILE GENELOR UMANE

- Genele, fiind reprezentate de secvențe de ADN, **se replică**, autoreproducându-se și prin mitoze repetate sau prin meioză se transmit la alte generații de celule sau de organisme, asigurând continuitatea materialului genetic în șirul generațiilor și transmitea genealogică a caracterelor - **ereditatea**;
- Genă este **specifică** - codifică o moleculă polipeptidică, determină expresia unui caracter;
- Genă are o **acțiune dozată** asupra fenotipului prin posibilitatea sintezei unei anumite cantități de produs genic (ARNm și molecule polipeptidice);
- Genă este **stabilă** datorită particularităților de organizare a moleculei de ADN și transmiterii din generație în generație a informației genetice neschimbate, determinând formarea caracterelor asemănătoare la părinți și copii; **dar** există în genomul uman gene nestabile, programate genetic, ce se reorganizează *de novo* în timpul diferențierii celulare (de ex.: genele pentru lanțurile grele și ușoare ale Ig, genele ce codifică pentru receptorii olfactivi, pentru enzimele aparatului de detoxifiere a xenobioticilor);
- Unele gene sunt dependente de factorii de mediu (interni – genetici și negenetici, externi) și determină **expresivitatea variabilă** a unui caracter la diferite persoane în diverse condiții de mediu:
 - factorii de mediu pot modula (mări, micșora sau bloca) expresia genei;
 - factorii de mediu pot modifica expresia genei (expresie patologică, *non-expresie*);
- Genele pot avea **acțiune pleiotropă**; pleiotropia sau acțiunea multiplă a genei este proprietatea genei de a contribui la formarea mai multor caractere; poate fi primară - determinată de acțiunea multiplă a produsului genei sau poate fi secundară – determinată de consecințele secundare ale acțiunii proteinei la nivelul diferitor celule, țesuturi și organe;
- Genele pot exista în mai multe forme moleculare (diferite secvențe nucleotidice), determinând o sursă de **variabilitate genetică**. Prin modificarea secvenței nucleotidice ale unei gene (mutații) – apar variante noi ale genei – **alele**; **alelele multiple** controlează diferite stări sau forme alternative ale unui caracter; caracterul controlat de o serie de alele multiple se numește caracter polimorf (25% din genele umane au variante alelice multiple).

FUNȚIILE GENELOR UMANE

Genele *dețin și păstrează informația genetică* codificată despre sinteza anumitor proteine specifice și formarea anumitor caractere fenotipice (biochimice, morfologice, fiziologice, psihice și comportamentale).

Genele *transmit informația genetică* datorită replicării ADN-ului și reprezintă legătura materială dintre generații, asigurând transmiterea genealogică a caracterelor de specie și de familie.

Genele *realizează informația genetică* prin transcrierea ADN-ului pe molecule informaționale de ARN și translația codului genetic în timpul sintezei proteinelor – substratul material al diferitor caractere la nivel de celulă, țesut și organism.

Expresia genelor reprezintă realizarea informației codificate de gene prin formarea caracterelor - *fenotipului*.

(I) *La nivel molecular*, aceasta constituie procesul prin care informația din ADN este transformată în molecule polipeptidice, ARNt, ARNr. Expresia genelor ce codifică polipeptide reprezintă un proces complicat, ce decurge în câteva etape:

- *transcripția* – copierea informației genetice din ADN și sinteza moleculelor precursore ale ARNm;
- *processingul* – maturizarea moleculelor ARNm: CAParea, poliadenilarea, *splicingul*;
- *transferul* ARNm în citoplasmă;
- *translația* – procesul prin care secvența nucleotidelor din ARN este tradusă într-o secvență de aminoacizi ai lanțului polipeptidic.
- *maturizarea* moleculei proteice prin conformație +/- modificări structurale.

(II) *La nivel celular* expresia genei reprezintă rezultatul integrării proteinei sintetizate într-o structură celulară, într-un lanț metabolic sau într-o rețea de semnalizare celulară. Fenotipul celular – morfologia și funcția – este controlată de genomul celulei, dar realizată de setul specific de proteine sintetizate – *proteinomul*.

(III) *La nivel organismic* expresia genelor se manifestă prin caractere morfologice și însușiri complexe, datorită cooperării tuturor componentelor moleculare și supramoleculare în morfogeneza și fiziogeneza organismului uman.

Astfel, în concept actual, expresia genică este studiată **la diferite nivele**:

- i. molecular – polipeptidul sintetizat, care constituie efectul primar al expresiei genice;
- ii. celular – molecula proteică și funcția ei în celulă – efectul secundar;
- iii. organismic – manifestarea fenotipică a genei – efectul terțiar.

CLASIFICAREA GENELOR UMANE

Există diferite criterii de clasificare a genelor, care includ diferite puncte de vedere asupra legăturii dintre structură, localizare și funcția genelor:

1. după tipul produsului genic:
 - gene codificatoare de proteine – **gene structurale**;
 - gene codificatoare de ARNr și ARNt.
2. după numărul de copii în genom:
 - unice - cu o singură copie;
 - cu mai multe copii (repetate în tandem sau dispersate).
3. în dependență de numărul de celule în care se expresează genele:
 - genele „house keeping” – active în toate celulele;
 - gene specifice de țesut.
4. în dependență de perioada de expresie fenotipică:
 - gene active în toate perioadele vieții;
 - gene active numai în perioada embrionară;
 - gene active în perioada pubertății;
 - gene active la adult.
5. după gradul de activitate:
 - gene normomorfe - cu activitate normală;
 - gene hipomorfe - cu activitate redusă;
 - gene hiperomorfe - cu activitate în exces;
 - gene amorfe - cu activitate blocată.

Activitatea genică se stabilește după cantitatea de molecule de ARN – transcris, cantitatea de proteină sintetizată, activitatea produsului genic – proteinei.

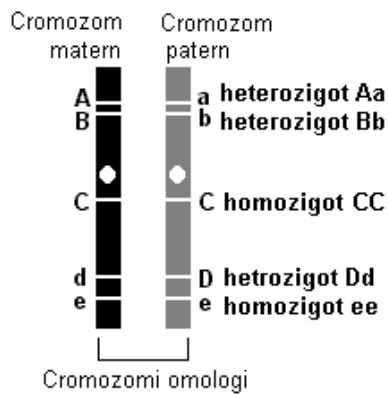
6. după funcția produșilor genici sintetizați sunt gene ce codifică:
 - gene codificatoare de enzime - 31,2%;
 - gene codificatoare de modulatori ai proteinelor sintetizate - 13,6 %
 - gene codificatoare de receptori;
 - gene codificatoare de factori de transcripție;
 - gene codificatoare de proteine ale matricei intracelulare și matricei extracelulare;
 - gene codificatoare de transportori membranari și proteine – canal;
 - gene codificatoare de molecule de semnalizare celulară;
 - gene codificatoare de hormoni;
 - gene codificatoare de imunoglobuline, etc.
- } 50%
7. În dependență de acțiunea modulatoră a factorilor de mediu asupra expresiei genei:
 - gene stabile;
 - gene plastice.

LOCALIZAREA GENELOR

Conform teoriei cromozomiale ale eredității propusă de Th. H. Morgan (1911):

- √ genele sunt localizate pe cromozom, fiecare genă ocupă un anumit **locus**;
- √ genele unui cromozom sunt dispuse liniar și formează grupuri de înlănțuire;
- √ numărul grupurilor de înlănțuire este egal cu numărul haploid de cromozomi;
- √ între cromozomii omologi poate avea loc schimb de gene alele (*crossing-overul*);
- √ frecvența *crossing-overului* este direct proporțională cu distanța dintre gene și este invers proporțională puterii de înlănțuire;

√ distanța dintre gene se măsoară în % de recombinare și 1% de *crossing-over* =1cM (centiMorganidă).



În loci identici ai cromozomilor omologi sunt dispuse gene cu aceeași funcție - **gene alele**, iar genele cu loci diferiți în același cromozom sau cromozomi diferiți se numesc **gene nealele**.

Dacă individul este purtător de alele identice este numit **homozigot**, dar dacă genele alele sunt diferite – **heterozigot**.

Fiecare persoană poartă circa 30 000 perechi de gene, după unele perechi este homozigot, iar după altele heterozigot,

Repartizarea genelor pe cromozomi este neomogenă:

- sunt cromozomi bogați în gene și cromozomi săraci în gene;
- sunt fragmente de cromozomi cu o densitate mare de gene și cu densitate redusă.

Unele gene au o singură copie, altele gene au mai multe copii și formează familii repetitive (în tandem sau pe diverși cromozomi) sau nerepetitive de gene.

Genele de pe un cromozom, ce sunt localizate foarte aproape una de alta formează **haplotipuri**, care deseori au elemente reglatoare comune.

Genele localizate pe autosomi determină **caractere autozomale** ce se transmit de la părinți indiferent de sex, iar genele localizate pe gonosomi determină **caractere sex-lincate** ce se transmit dependent de sex:

- genele și caracterele X-lincate se transmit de la mamă și fiicelor și fiilor, iar de la tată numai fiicelor;
- genele și caracterele Y-lincate (holandrice) se transmit exclusiv din tată în fiu.

HĂRȚILE GENETICE

Genomul celulei include două sisteme de gene cu mod de organizare și moștenire diferite: genomul nuclear și genomul mitocondrial.

În nucleul celulelor umane se conțin circa 30000 perechi de gene, care sunt repartizate de-a lungul a 46 molecule de ADN, care corespund celor 46 cromozomi din setul diploid.

Fiecare cromozom conține în medie 1-2000 de gene. Genele sunt dispuse liniar în cromozom, una după alta, fiind separate prin secvențe necodificatoare (ADN-satelit, *spaceri*). Genele unui cromozom se transmit de la o generație la alta, în bloc, fenomen numit **înlănțuire genică** sau **linkage**. Fiecare cromozom reprezintă un grup de înlănțuire.

Genomul mitocondrial este organizat sub formă ADN inelar, conține 37 gene aranjate compact și se transmite pe linie maternă.

Astfel, la om sunt 25 de grupuri de înlănțuire:

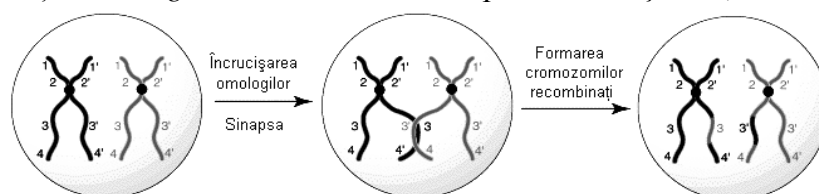
- 22 grupuri ale autosomilor;
- un grup al cromozomului X;
- un grup al cromozomului Y;
- un grup – genele ADN-ului mitocondrial.

Cromozom	1	2	3	4	5	6	7	8
Nr. gene	3511	2368	1926	1444	1633	2057	1882	1315
Lungimea, Mb	250	243	198	191	181	171	159	146
Cromozom	9	10	11	12	13	14	15	16
Nr. gene	1534	1391	2168	1714	720	1532	1249	1326
Lungimea, Mb	141	136	135	134	115	107	103	90
Cromozom	17	18	19	20	21	22	X	Y
Nr. gene	1773	557	2066	857	450	855	1672	429
Lungimea, Mb	81	78	59	63	48	51	155	59

Fenomenul de linkage se manifestă numai în cazul genelor plasate pe același cromozom, în timp ce pentru genele plasate pe cromozomi diferiți transmiterea ereditară a genelor se face independent, mendelian.

Studiul mecanismului de transmitere ereditară a arătat că nu întotdeauna genele ce fac parte din același grup linkage se transmit înlănțuit. Excepțiile sunt explicate prin posibilitatea recombinării între cromozomii omologi – *crossing-over*, care are loc în meioză. În timpul *crossing-over*ului are loc schimbul reciproc de gene alele între cromozomii pereche - cromozomii omologi.

Frecvența *crossing-over*ului este diferită pentru diverși loci, variază de la 0% la 50% și este

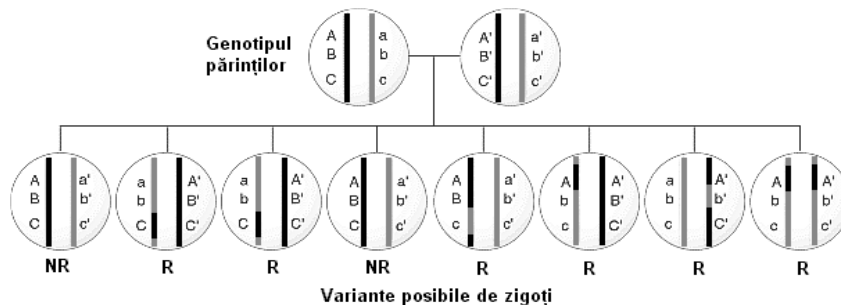


Mecanismul recombinării între cromozomii omologi – *crossing-over*ul

corelată cu distanța dintre gene. La valori de peste 50% nu se mai consideră o recombinare, ci o segregare independentă.

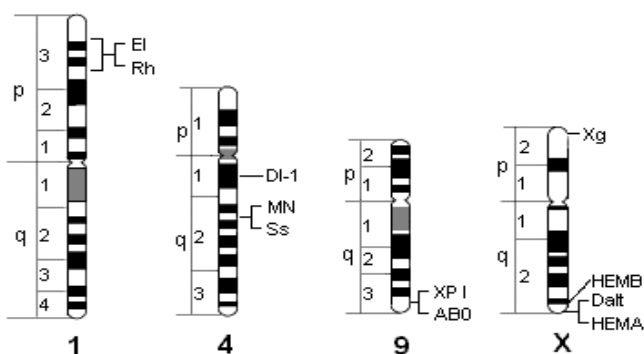
Pe baza observației că între genele foarte apropiate probabilitatea apariției chiasmelor și respectiv a fenomenului de *crossing-over* este mică, iar între genele mai îndepărtate crește spre limita superioară de 50%, determinarea frecvenței recombinărilor genice în procente constituie modalitatea de stabilire a localizării genelor pe cromozom și, respectiv, a alcătuirii *hărților genetice*.

Hărțile genetice se alcătuiesc ținând cont de fenomenul de linkage, *crossing-over*, plasarea liniară a genelor pe cromozomi, etc. Aceste hărți constituie o reprezentare grafică a cromozomilor și a genelor care alcătuiesc diferite grupe de linkage, gene situate pe cromozomi la distanțe relative, exprimate în procente de recombinare (1% de *crossing-over* = 1 cMorganidă (1cM)).



**Moștenirea înlănțuită completă și incompletă.
Formarea zigoților nerecombițați (NR) și a celor recombițați (R) -
produși ai *crossing-over*ului**

În prezent, datorită tehnicilor de genetică moleculară, s-au elaborat ***hărțile fizice ale cromozomilor*** cu distribuția exactă a genelor pe cromozom, iar mărimea genelor și distanța dintre ele se prezintă în perechi de nucleotide (pn).



Stabilirea unor relații (grupe) de înlănțuire între gene și, deci, caractere este foarte importantă în genetica medicală. Se urmărește transmiterea unor caractere patologice în comun cu un caracter normal.

Caracterul normal servește ca marker (indicator) a unei patologii și este important în special pentru bolile ce apar pe parcursul vieții.

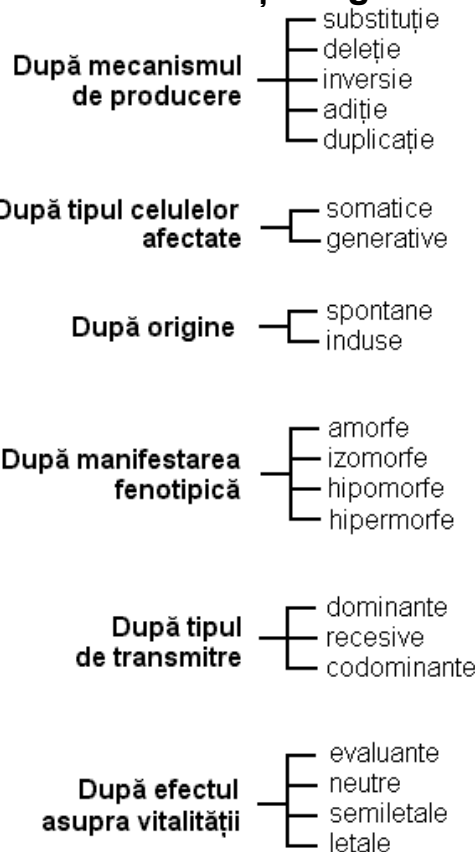
Exemple de grupe de înlănțuire:

- Rh și eliptocitoză (eritrocite cu formă ovală);
- AB0 și *xeroderma pigmentosum* (XP);
- grupa sanguină Duffy și cataracta congenitală;
- grupa sanguină Lutheran, statusul secretor și miopia;
- grupele MNSs și *dentinogenesis imperfecta-1* (DI-1);
- grupa sangvină Xg și hemofilia A (HEMA), hemofilia B (HEMB), daltonismul (Dalt); etc.

MUTAȚIILE GENICE

Mutațiile genice pot interesa genele de structură sau secvențele implicate în reglare: în primul caz se modifică structura (calitatea polipeptidului sintetizat după informația genei), în al doilea caz se schimbă ritmul (cantitatea) sau tipul de proteină sintetizată. Ca rezultat al mutațiilor genice, se produc forme alternative ale genei, numite *alele*.

Clasificarea mutațiilor genice

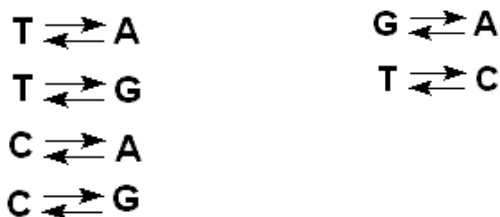


Mutațiile genice se pot produce prin:

- alterări ale secvenței nucleotidice - prin substituție, inversie, deleție, inserție de nucleotide;
- recombinări intragenice și *crossing-over* inegal;
- reversie;
- duplicații și hiperduplicații.

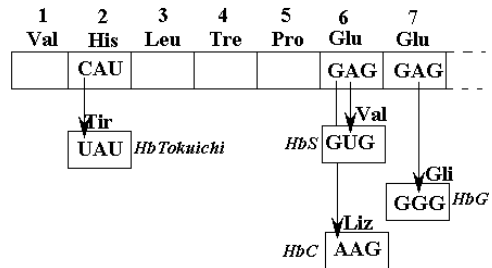
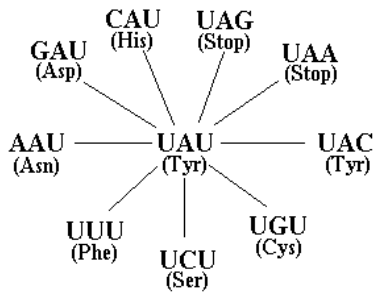
Substituția unui singur nucleotid prin alt nucleotid este cea mai frecventă posibilitate de modificare genică. Substituțiile sunt definite **mutații punctiforme** și se clasifică în:

- ✓ **transversii** - tip de înlocuire (substituție) a bazelor azotate în care o bază azotată purinică este înlocuită de o bază pirimidinică sau invers.
- ✓ **tranziții** - tip de înlocuire (substituție) a bazelor azotate din ADN, în care o bază purinică este înlocuită de o altă bază purinică sau o bază pirimidinică este înlocuită de altă bază pirimidinică.



Substituția duce la modificarea unui singur codon (sens sau nonsens). Schimbarea unui codon sens va determina unul din următoarele efecte:

- schimbarea aminoacidului ca rezultat al modificării codonului –**mutații misens**;
- oprirea sintezei proteinei, în cazul în care codonul format prin substituție este un codon STOP (UAA, UAG și UGA) –**mutații nonsens**;
- păstrarea structurii inițiale (normale) a proteinei deoarece codonul rezultat prin substituție este “sinonim” cu cel modificat – **samesens mutații**.



Substituția poate implica uneori și un codon non-sens sau stop: UAA sau UAG pot deveni CAA sau CAG, codoni care semnifică glutamina. În acest caz sinteza polipeptidului continuă până la un nou codon stop. Un exemplu de “elongație a catenei” îl constituie o altă Hb anormală – Hb CS (Hb Constant Spring) – a cărei catenă alfa are 172 aminoacizi în loc de 141; secvența adițională de 31 aminoacizi începe într-adevăr cu Glutamina.

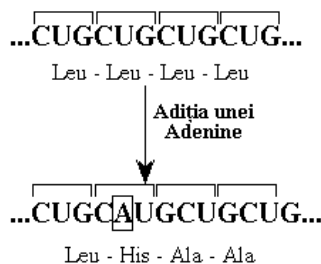
Substituția poate interesa doi sau chiar mai mulți aminoacizi distincți, separați, din catena unui lanț polipeptidic . De ex: Hb C-Harlem = 2 alfa 2 beta ⁶ Glu→Val; ⁷³ Asp→Asn.

Inversia va duce la modificarea unui codon și lectura sa în sens invers. Consecințele inversiei sunt aceleași ca și ale substituției.

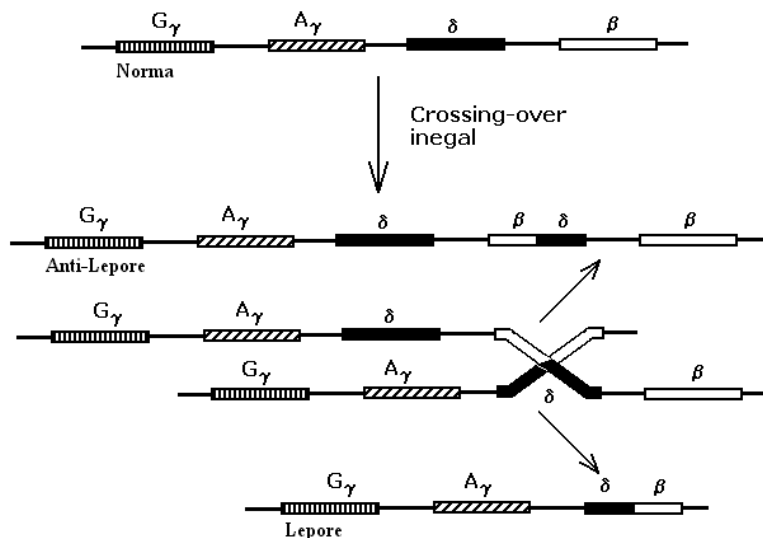
Prin **deleție** se înțelege lipsa a una sau a mai multe perechi de nucleotide din molecula de ADN. Natura anomaliilor produse va depinde de numărul de perechi de nucleotide implicate în deleție. Dacă lipsește o singură pereche de nucleotide se produce o decalare a fazei (cadrului) de lectură a codului genetic (mutații “**frame shift**”); lectura este incorectă și se sintetizează o proteină în care toți aminoacizii, situați dincolo de locul deleției, vor fi modificați (ex: Hb Wayne).

Dacă numărul de nucleotide deletate este multiplu de trei, atunci în catena polipeptidică determinată de gena mutantă vor lipsi unul sau mai mulți aminoacizi (în Hb Gun-Hill sunt absenți cinci aminoacizi din catena beta: 91-95) Uneori se poate realiza deleția completă a unei gene. În alfa-talasemii nu se produc catenele alfa ale hemoglobinei pentru că gena corespunzătoare lipsește din genom, în locul lor se sintetizează alte tipuri de lanțuri: de ex: Hb H=4 beta sau Hb Bart=4 gama.

Insertia sau **adiția** înseamnă introducerea unui nucleotid în secvența unei gene; din punctul de inserție lectura codonilor se va face decalat, realizându-se o proteină cu secvență anormală.



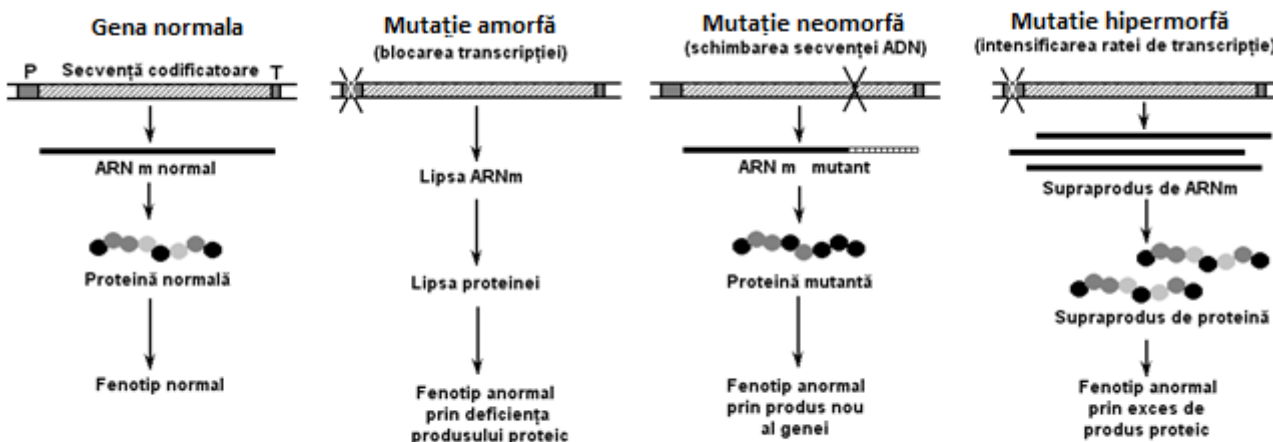
Crossing-overul inegal se poate produce dacă nu are loc o împerechere perfectă a omologilor. În rezultatul CO inegal se produce o rearanjare a secvențelor ADN și deci o modificare a structurii polipeptidelor codificate de aceste secvențe (ex. Hb Lepore).



Reversia (mutația supresivă) este o mutație care interesează o altă mutantă, determinând revenirea la fenotipul normal (sălbatic). Reversia adevărată transformă codonul mutant în normal, iar reversia numită supresivă produce o a doua mutație, diferită ca poziție ca prima dar care corijează efectul ei.

Ex. Hb. Harlem prezintă prima mutație în catena beta $^6 \text{Glu-Val}$ ca și Hb S dar efectul ei de transformare a hematiilor în “seceră” este anulat de o a doua mutație: beta $^{73} \text{Asp-Asn}$. Situația se repetă și în cazul Hb Memphis/S: alfa $^{23} \text{Glu-Gln}$; beta $^6 \text{Glu-Val}$.

Consecințele mutațiilor genice. Efectul primar al mutațiilor genice îl reprezintă modificarea secvenței aminoacizilor în moleculele polipeptidice, sintetizate pe baza informației acestor gene (ele sunt produsul primar al genei respective). Efectul biologic al acestei modificări depinde de tipul aminoacidului substituit și de locul său particular în molecula polipeptidică. Dacă mutațiile vor modifica structura sau ritmul de sinteză a unei enzime, atunci se produce o alterare (bloc complet sau parțial) a unei căi metabolice. Efectul primar este urmat de o mulțime de efecte secundare care vor determina un fenotip modificat.



Relațiile dintre mutațiile genice și fenotip

Mutațiile pot afecta partea reglatoare sau partea codificatoare a genei. Modificarea secvenței nucleotidice a promotorului poate duce la **schimbări cantitative** în sinteza ARN și proteinei:

- blocarea transcripției → lipsa produsului proteic → modificări fenotipice prin deficiență (de ex., fenilcetonuria, intoleranța la zaharoză);
- activarea continuă a transcripției → sinteza unei cantități mari de produs proteic → modificări fenotipice prin exces (de ex., sinteza în cantități mari a HbF și HbA2 duce la hemoliză și anemie).

Modificarea secvenței nucleotidice a regiunii codificatoare, în special a exonilor, poate duce la schimbarea mesajului genetic și secvența de aminoacizi din proteină, producând schimbări calitative în sinteza produsului final:

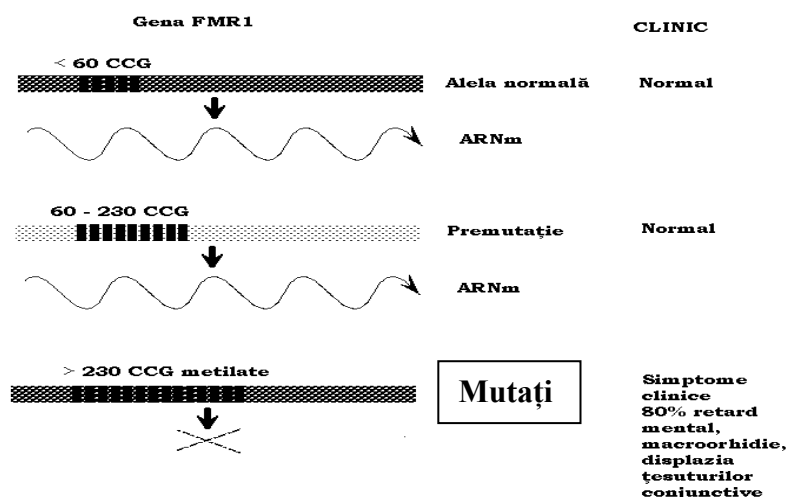
- sinteza unei proteine cu o activitate scăzută (mutație hipomorfă);
- sinteza unei proteine cu o activitate exagerată (mutație hiper morfă);
- sinteza unei proteine inactive (mutație amorfă).

După valoarea adaptivă și consecințele mutațiilor genice asupra structurii și funcției organismelor ele se pot împărți în mai multe grupe:

- **mutații neutre** – care produc polimorfismul biologic intraspecific, variantele normale (de ex., grupele sanguine, serice sau tisulare);
- **mutații deviante** (defavorabile) care antrenează un handicap mai mult sau mai puțin sever și creează fie o stare de boală, fie o predispoziție la boală; unele dintre ele sunt mutații letale sau subletale, afectând decisiv viabilitatea și reproducerea individului;
- **mutații evoluante** cu valoare adaptivă mai mare ca normalul; ele produc indivizi mai bine adaptați, mai rezistenți la mediu.

MUTAȚII DINAMICE

În 1991 s-a descoperit o nouă clasă de alterări ale ADN, diferite de mutațiile clasice, **mutațiile dinamice**. Ele sunt reprezentate de creșteri ale numărului unor *repetări trinucleotidice* situate în proximitatea sau chiar în interiorul genelor structurale. Mutațiile dinamice sunt caracterizate de *instabilitate*, exprimată prin creșterea numărului de copii ale unităților trinucleotidice, cu ocazia diviziunilor pe care le realizează celula purtătoare.



Există variații ale numărului de repetări trinucleotidice:

- polimorfisme ADN **benigne**;
- **premutația** – secvența de ADN devine instabilă, dar nu determină un fenotip patologic;
- **mutația completă** - prin expansiunea repetărilor trinucleotidice determinând fenotip patologic.

Purtătorii premutațiilor sunt fenotipic normali. Expansiunea repetărilor are loc în gametogeneză. Astfel unii din gameții purtătorilor sănătoși vor conține mutația completă, care la descendenți va produce un fenotip patologic. În gametogeneza ultimilor, din cauza instabilității acestor repetări, vor apărea expansiuni adiționale, care la următoarea generație va produce un fenotip patologic mai grav (=fenomenul de anticipație).

Frecvența (rata) mutațiilor

Frecvența medie cu care se produce un eveniment mutațional particular, per celulă (sau individ) și per generație se numește *rată de mutație*. Rata mutațiilor spontane variază pentru diferiți loci, între anumite limite: 1:25000 (sau 4×10^{-5}) – 1:1000000 (sau 1×10^{-6}) per gamet și generație. Există variații regionale.

- 1-2% din persoane au un efect determinat de mutația unei gene;
- fiecare individ este heterozigot (purtător) de circa 6-10 gene recesive;
- fiecare individ este heterozigot (purtător) de circa 3-5 gene letale tot recesive (care dacă vor fi în stare homozigotă la descendenți vor produce moartea lor)

“povară
genetică”

CURS 8

TEHNICI DE ANALIZĂ A GENELOR

Tehnologia ADN recombinant a creat premisele dezvoltării unor metode de diagnostic molecular dotate cu capacitate de rezoluție, grad de precizie și nivel informativ net mai superioare celor ale metodelor convenționale. Superioritatea absolută a abordării moleculare rezultă însă din faptul că spre deosebire de toate celelalte metode de diagnostic, limitate la determinarea exclusivă a trăsăturilor fenotipice, - analiza ADN, destinată nemijlocit studiului genotipului este singura în măsură să obiectiveze alterările primare (mutațiile) care se fac direct responsabile pentru starea de boală.

Tehnicile ADN recombinant permit identificarea genelor normale și/sau a variantelor lor mutante, stabilirea purtătorilor de gene mutante, diagnosticul prenatal sau presimptomatic al patologiilor genetice, iar în viitorul apropiat apare posibilitatea dezvoltării terapiei genice.

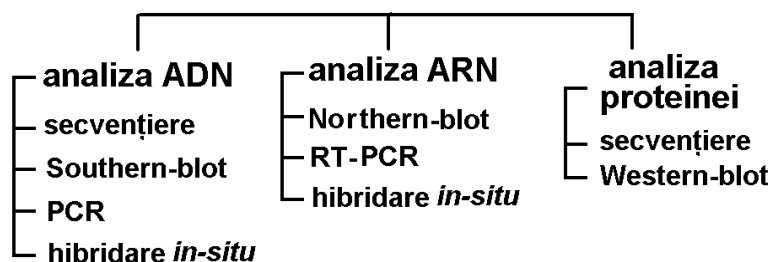
Studiul molecular al genelor poate fi realizat pe mai multe căi în dependență de scopul propus:

- **secvențierea ADN** pentru determinarea structurii primare a genei;
- **tehnica Southern-blot** pentru identificarea RFLPs;
- **tehnica Northern-blot** pentru determinarea expresiei genelor (analiza ARNm);
- **tehnica Western-blot** pentru determinarea produsului proteic al genei;
- **tehnica PCR** pentru identificarea genei normale sau mutante, prin amplificarea specifică a secvențelor de ADN, etc.

În laboratoarele de biologie moleculară se utilizează diverse variante ale metodelor menționate. Toate aceste metode se bazează pe diferite principii de manipulare a acizilor nucleici:

- clivarea specifică a ADN-ului genomic pentru obținerea fragmentelor de cercetat;
- identificarea fragmentelor de ADN sau ARN de cercetat prin hibridare cu sonde specifice complementare secvenței țintă;
- identificarea genelor normale sau mutante prin procesul de amplificare specifică a ADN (PCR) – reacție specificată de alegerea primerilor complementari genei / secvenței de interes;
- vizualizarea fragmentelor de interes după rezultatele electroforezei și marcarea specifică al ADN sau ARN de cercetat, sau utilizându-se programe computerizate de citire și interpretare a rezultatelor;
- interpretarea rezultatelor este un proces complex, legat de fiecare tehnică și procedură în parte în concordanță cu particularitățile metodei utilizate.

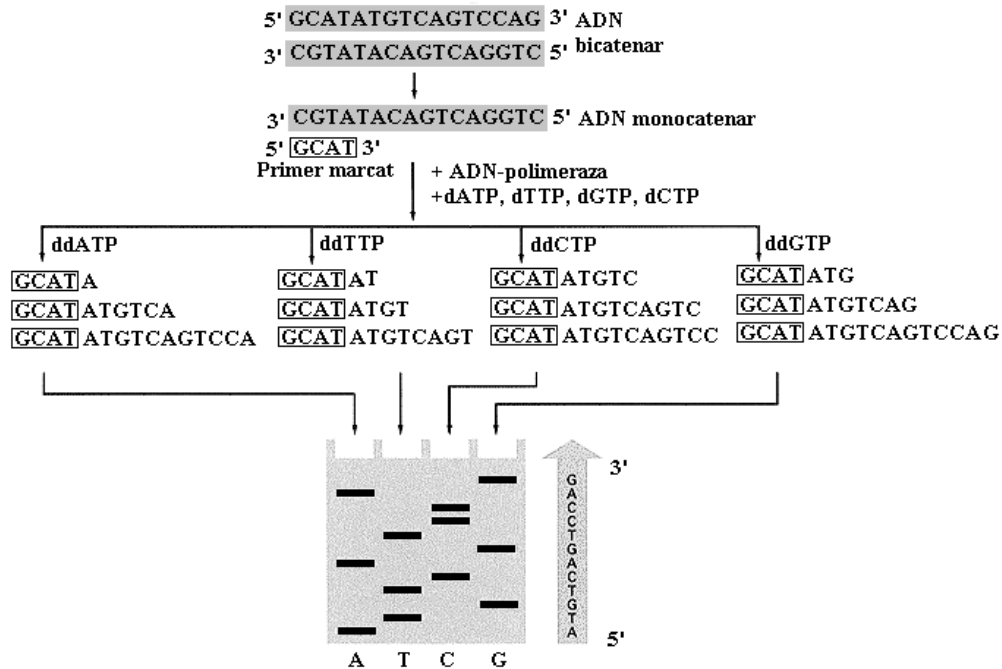
STUDIUL GENELOR



Pentru separarea fragmentelor de acizi nucleici se utilizează electroforeza în gel de agaroză sau de poliacrilamidă. Purtând sarcină negativă, moleculele acizilor nucleici migrează în câmpul electric, iar viteza de migrare depinde de greutatea moleculară a fragmentelor cercetate - fragmentele mai scurte migrează mai rapid, în timp ce fragmentele lungi migrează mai lent. Pentru determinarea dimensiunilor fragmentelor de acizi nucleici, concomitent cu fragmentele de interes sunt supuse electroforezei în trecuri vecine și fragmente-marker ai lungimii. Moleculele acizilor nucleici pot fi vizualizate în gel prin colorare cu agenți chimici, marcarea radioactivă sau fluorescență. În cazul marcării radioactive fragmentele se identifică cu ajutorul autoradiografiei care constă în suprapunerea gelului cu un film fotosensibil.

SECVENȚIEREA ADN

Secvențierea constă în determinarea succesiunii nucleotidelor (bazelor azotate) dintr-un anumit segment al moleculei de ADN. Analiza secvenței bazelor azotate din structura ADN poate fi realizată prin două căi: 1) **calea chimică (Maxam-Gilbert)**, în care se folosesc reacțiile chimice de clivare a ADN-ului în baze individuale, dar fiind o metodă complicată și laborioasă, în ultimii ani nu se mai utilizează; 2) **calea enzimatică (Sanger)** în care ADN-ul este sintetizat *in vitro pe baza matricei ADN studiat*, în așa fel încât reacția se termină specific în poziția care corespunde unei baze anumite. Pentru a determina o secvență de nucleotide pe una din căile menționate, ADN-ul este supus seriei de patru reacții separate, fiecare reacție fiind specifică pentru una din baze. Prin electroforeză produșii de reacție vor migra în patru curse paralele, pe același gel. Urmărind bandă cu bandă, poate fi identificată ordinea nucleotidelor în ADN.



Tehnica Sanger (dideoxi) utilizează sinteza enzimatică a unei catene, complementară cu o matrice clonată. În cadrul acestei proceduri sinteza este stopată prin încorporarea unui **dideoxinucleozid trifosfat** - un analog al dezoxiribonucleotidelor. Dideoxinucleozidtrifosfații conțin în poziția 3' grupa -H, dar nu grupa -OH care împiedică polimerizarea nucleotidelor. Folosind patru analogi dedeoxi diferiți în timpul sintezei catenei noi de ADN, se poate de identificat fiecare nucleotid normal din catena matrice. Electroforeza fragmentelor obținute permite stabilirea ordinii nucleotidelor în molecula de ADN. În ultimii ani se utilizează o metodă automată de secvențiere, bazată pe metoda dideoxi.

În scopuri de diagnostic a purtătorilor de gene normale sau mutante se compară rezultatele secvențierii cu datele structurii primare normale a genei din bibliotecile de ADN. Spre regret, nu se cunoaște încă secvența tuturor genelor umane, de aceea în diagnostic se utilizează metode indirecte: înlănțuirea cu markeri genetici apropiați (repetiții hipervariabile de ADN mini- și microsatelitic), determinarea situsurilor de restricție caracteristice genei date, hibridarea cu sonde al-el-specifice etc.

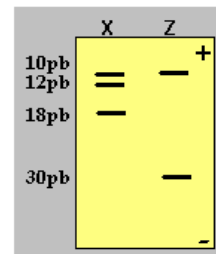
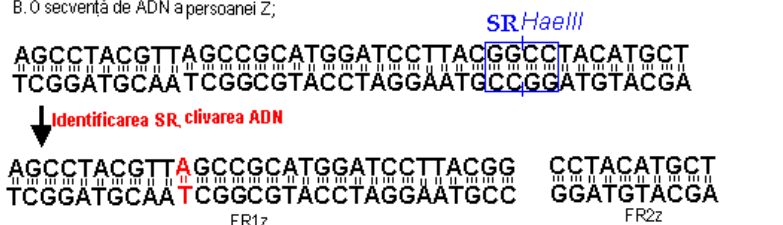
TEHNICA SOUTHERN-BLOT

Tehnica Southern-blot se bazează pe analiza specifică a unor fragmente de ADN genic/genomic obținute prin secționarea ADN-ului genomic cu una sau mai multe enzime de restricție. Ținând cont că enzimele de restricție nu acționează la întâmplare asupra ADN-ului, dar clivează ADN-ul bicatenar numai în anumite situsuri de restricție, la utilizarea unei enzime de restricție se obțin fragmente de ADN bicatenar cu o lungime diferită (numărul și lungimea fragmentelor de restricție depind de harta de restricție pentru enzima utilizată).

A. O secvență de ADN a persoanei X;



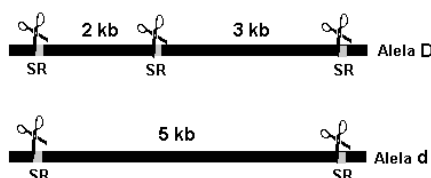
B. O secvență de ADN a persoanei Z;



Luând în calcul polimorfismul ADN / polimorfismul genic determinat de mutații punctiforme, ne putem da seama că hărțile de restricție la diferite persoane se pot deosebi. Diferențele dintre hărțile de restricție obținute de la doi indivizi este numită Polimorfismul Lungimii Fragmentelor de Restricție (RFLP – Restriction Fragment Lenght Polymorphism). Acest polimorfism poate fi folosit ca marker genetic în evaluarea genotipului.

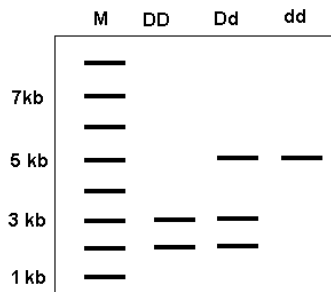
Pentru analiza RFPLs a unor gene e necesar să se cunoască localizarea specifică a situsurilor de restricție. Această informație e pentru compararea genelor normale cu genele mutante, pentru identificarea precoce a purtătorilor de gene mutante patologice. Tehnica Southern-blot se bazează pe principiul RFLPs și vine cu o soluție destul importantă pentru identificarea fragmentului interes din amestecul de mii de fragmente diferite obținute prin digestia specifică a ADN-ului genomic. Identificarea secvenței – se face pe baza hibridării ADN-țintă cu o sondă complementară, radioactivă după transferul fragmentelor de ADN de cercetat suport solid - **tehnica Southern-blot** (de la numele inventatorului Edward Southern).

(I) Hărțile de restricție ale două alele D și d.



utila

(II) Rezultatele electroforezei a FR la trei persoane cu genotip diferit.



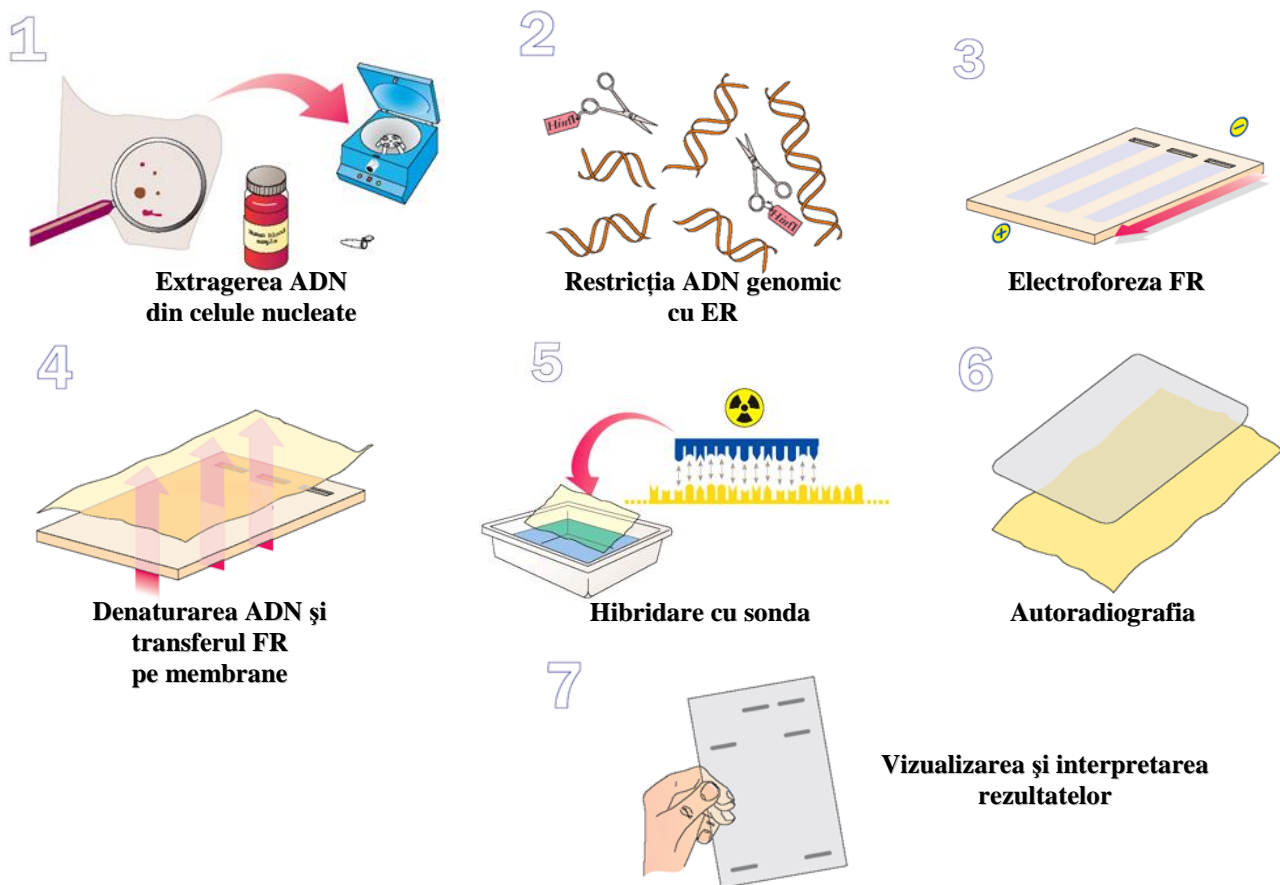
de
de

țintă

pe un

Tehnica Southern-blot constă din următoarele etape:

- (1) extragerea din celule a ADN-ului genomic cu greutate moleculară mare;
- (2) digestia enzimatică a ADN-ului cu diferite ER, fiecare producând fragmente de lungime diferită;
- (3) separarea fragmentelor de restricție prin electroforeză în gel de agaroză;
- (4) denaturarea fragmentelor bicatenare cu o soluție alcalină;
- (5) transferul capilar al fragmentelor de ADN pe membrane filtre de nailon sau nitroceluloză;
- (6) hibridarea cu sondele monocatenare radioactive;
- (7) autoradiografia pentru vizualizarea hibridilor ADN țintă - ADN sondă și interpretarea rezultatelor.



Etapile tehnicii Southern-blot

Datorită tehnicii Southern-blot se poate determina prezența sau lipsa unor situsuri de restricție caracteristice genei analizate care se asociază cu anumite mutații:

- detectarea mutațiilor punctiforme ce implică situsurile de restricție (dispar sau apar noi situsuri de restricție), care se evidențiază prin modificarea numărului și lungimii fragmentelor de restricție;
- detectarea mutațiilor prin deleții, duplicații sau inserții ale unor fragmente polinucleotidice mai mari de 50-100p.b., care se evidențiază prin modificarea lungimii fragmentelor de restricție;
- acestea permit diagnosticul prenatal sau presimptomatic al mutațiilor patologice și depistarea purtătorilor heterozigoți de gene mutante.

Metoda Southern blot are și limite: (1) nu permite detectarea mutațiilor punctiforme sau microdelețiilor la nivelul secvențelor de ADN dintre situsurile de restricție; (2) este laborioasă, complexă și scumpă.

TEHNICA NORTHERN-BLOT

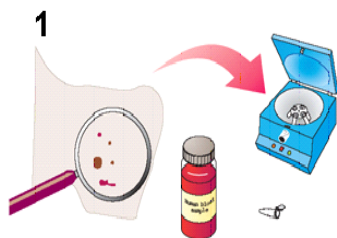
Metoda Northern-blot constă în transferul moleculelor denaturate de ARN pe filtre de nailon sau nitroceluloză, urmat de hibridarea cu sonde marcate. Această metodă este similară tehnicii Southern-blot cu deosebirea că ARNm extras și purificat nu este supus scindării cu enzime, iar electroforeza decurge în condiții de denaturare. Tehnica Northern-blot permite identificarea transcripților genelor analizate, cantității de ARNm, stabilirea lungimii lor.

TEHNICA WESTERN-BLOT

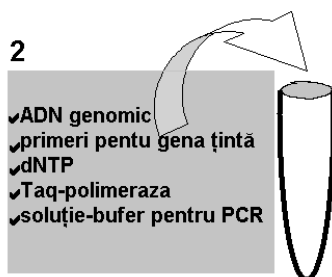
Această metodă constă în identificarea unei proteine specifice din amestecul de proteine celulare. Pentru aceasta, proteinele sunt separate prin electroforeză în condiții de denaturare. Proteinele separate după greutatea moleculară sunt transferate pe filtre de nailon sau nitroceluloză și supuse tratării cu anticorpi specifici marcați radioactiv sau fluorescent. Prin această metodă se poate identifica prezența/lipsa proteinei, dimensiunile ei, rata de expresie a genei.

TEHNICA PCR ÎN ANALIZA GENELOR

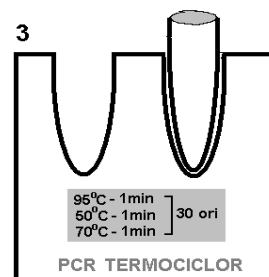
Tehnica PCR poate fi utilizată pentru multiplicarea selectivă a unei secvențe de ADN genic. Ca rezultat, se obțin populații omogene de fragmente care pot fi utilizate în studiile de genetică moleculară sau în diagnostic.



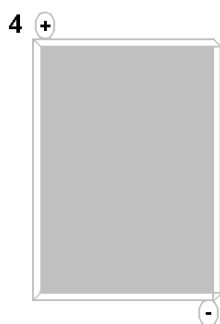
1
Extragerea ADN



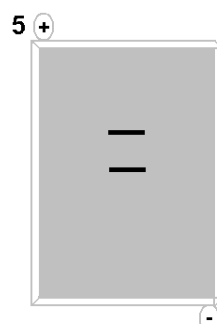
2
Pregătirea componentelor
pentru PCR



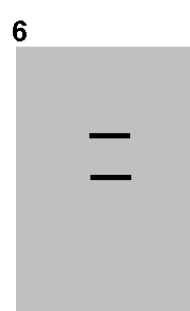
3
Amplificarea ADN-țintă



4 +
Electroforeza
produșilor PCR



5 +
Vizualizarea
produșilor PCR



6
Autoradiografia și interpretarea
rezultatelor

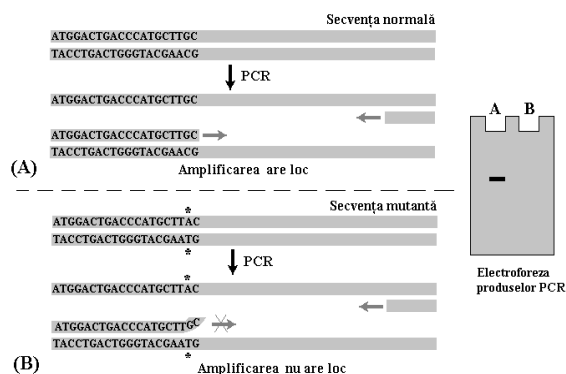
Etapele analizei PCR

Pentru a realiza amplificarea unei secvențe este necesară cunoașterea structurii genei normale sau mutante și sinteza **primerilor** specifici complementari capetelor fragmentului de interes. **Primerii** reprezintă secvențe oligonucleotidice monocatenare de 20-30 baze care sunt obținute prin sinteză artificială. PCR se bazează pe hibridarea ADN țintă - primer și replicarea semiconservativă a ADN.

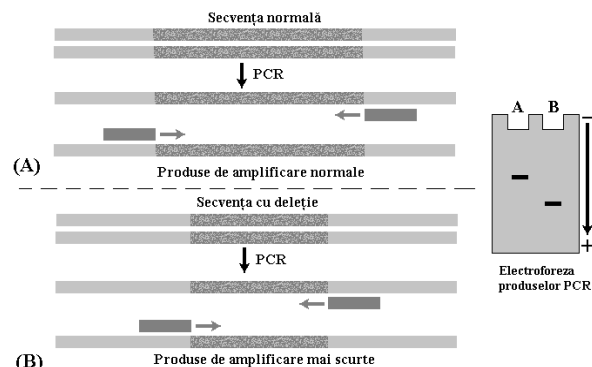
Avantajele tehnicii PCR sunt următoarele: necesitatea cantităților mici de ADN, rapiditatea ei (în câteva ore se obțin milioane copii de ADN), iar specificitatea primerilor permite amplificarea selectivă a ADN și, de menționat că, produsele de amplificare pot fi utilizate în calitate de sonde pentru hibridări în alte tehnici.

Aplicațiile practice ale tehnicii PCR:

- detectarea **mutațiilor cunoscute** la bolnavi și purtători, în diagnosticul prenatal și presimptomatic al bolilor ereditare;
- determinarea genelor de predispoziție la bolile comune (coronaropatii, boala hipertonică, tulburări psihice etc.);
- diagnosticul precoce și evaluarea pronosticului bolilor canceroase;
- determinarea prenatală a sexului;
- identificarea agenților patogeni (virusi, bacterii);
- dactiloscopia genomică în identificarea persoanelor, analiza filiației (paternitate, maternitate);
- tipizarea HLA.



Utilizarea tehnicii PCR pentru identificarea mutațiilor punctiforme cu primeri specifici pentru gena normală



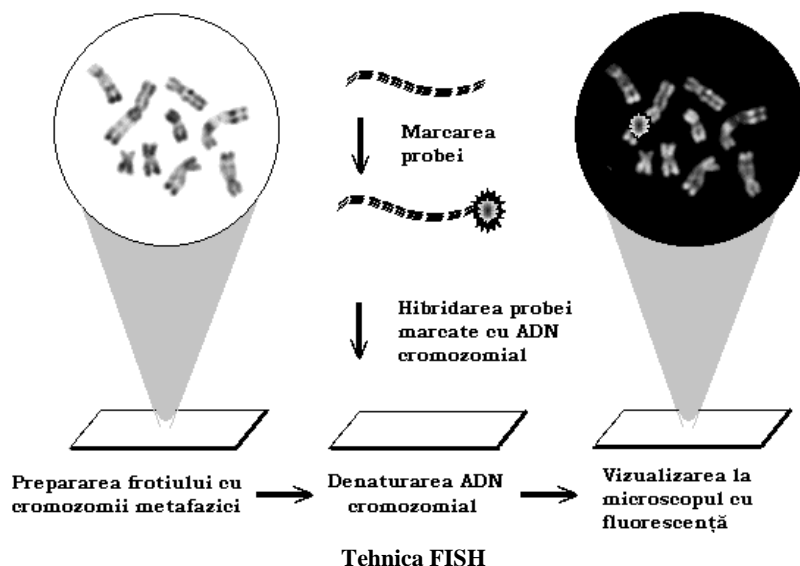
Utilizarea tehnicii PCR pentru identificarea delețiilor

Hibridarea *in situ*

Hibridarea *in situ* reprezintă o tehnică moleculară, în care o sondă specifică marcată poate **identifica direct** pe preparatele celulare:

- (1) o genă pe un anumit cromozom sau fragment de cromozom;
- (2) un ARNm într-o celulă particulară sau țesut;
- (3) numărul moleculelor de ARNm în dependență de perioada ontogenetică sau tip tisular;
- (4) ADN viral;
- (5) delețiile cromozomiale submicroscopice;
- (6) genele responsabile de producerea cancerului, localizarea și nivelul lor de expresie.

În ultimii ani se utilizează metoda FISH (**F**luorescence **I**n **S**itu **H**ibridization) care utilizează sonde fluorescente marcate. Metoda FISH este simplă, poate fi aplicată pe preparate celulare arhivate, este rapidă, nu modifică morfologia celulelor.



CURS 9

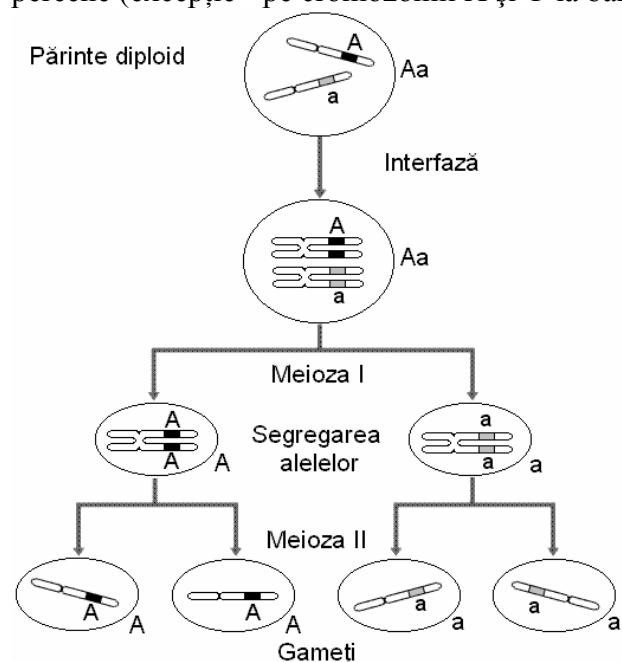
CARACTERE EREDITARE

RELAȚIA GENOTIP - FENOTIP

Definirea biologică a unui individ este determinată de ansamblul unor caractere morfologice, fiziologice, biochimice, psihice și comportamentale – **fenotipul**, controlate de acțiunea, în diferite proporții, a factorilor ereditari și a celor de mediu. Sistemul de gene din setul diploid de cromozomi al unui individ, care determină formarea unui anumit fenotip se numește **genotip**. Caracterele, la formarea cărora genotipul participă într-o proporție mai mare de 50% poartă denumirea de **caractere ereditare**. Caracterele ereditare pot avea determinism **monogenic** sau **poligenic (multifactorial)**.

CARACTERISTICA GENELOR ALELE ȘI NEALELE

Genele alele sunt localizate în loci identici pe cromozomi omologi și controlează același caracter sau forme alternative ale aceluiași caracter. Genele alele se pot prezenta în mai multe forme moleculare diferite – polialelism, dar în genotip, la o persoană, sunt prezente numai două alele – o pereche (excepție - pe cromozomii X și Y la bărbați este prezentă doar o alelă pentru fiecare genă).



Fiecare individ poartă circa 30 mii perechi de gene alele, după unele este **homozigot** - purtător de gene alele identice, după altele este **heterozigot** - purtător de gene alele diferite și **hemizigot** după genele înlănțuite cu cromozomul X la bărbați. În cazul heterozigoției se manifestă alela cu o activitate mai mare (**gena dominantă**) față de a doua (**gena recesivă**). Astfel sunt alele:

- cu activitate moderată – **normomorfe**;
- cu activitate mărită – **hipermorfe**;
- cu activitate mică – **hipomorfe**;
- neactive – **amorfe**;
- cu funcție nouă – **neomorfe**.

Manifestarea fenotipică a unei alele depinde și de alte gene nealele și de factorii de mediu.

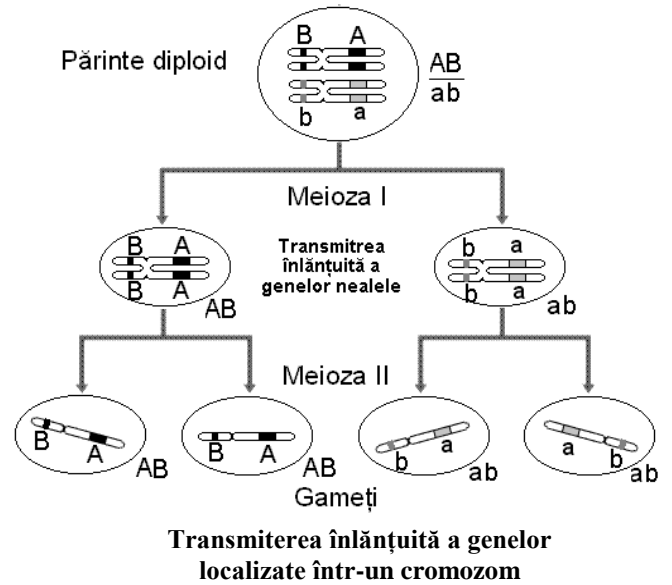
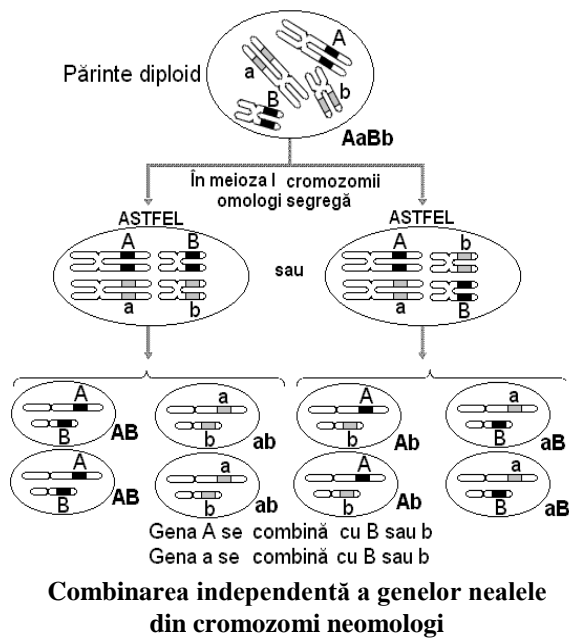
În timpul transmiterii: în meioză, genele alele se separă în gameți diferiți – segregă, iar la fecundare se combină întâmplător formând diferite genotipuri, determinând segregarea caracterelor ce reprezintă baza legilor eredității mendeliene. Alelele unui individ – una este de origine maternă și alta de origine paternă. Individul homozigot produce gameți identici după alela dată, iar individul heterozigot produce gameți diferiți – 50% vor conține o alelă și 50% vor conține cealaltă alelă.

Gene nealele sunt localizate în loci diferiți ai cromozomilor și, de regulă, controlează caractere diferite sau cooperează pentru formarea unui caracter complex. Se manifestă fenotipic independent una față de alta sau interacționează determinate de:

- efectul poziției genelor dintr-un haplotip;
- epistazie;
- acțiunea complimentară;
- poligenia aditivă.

Genele nealele se transmit:

- în bloc – înlănțuit, dacă se află pe același cromozom și formează grup de înlănțuire, haplotipuri;
- independent, dacă se află pe cromozomi diferiți.

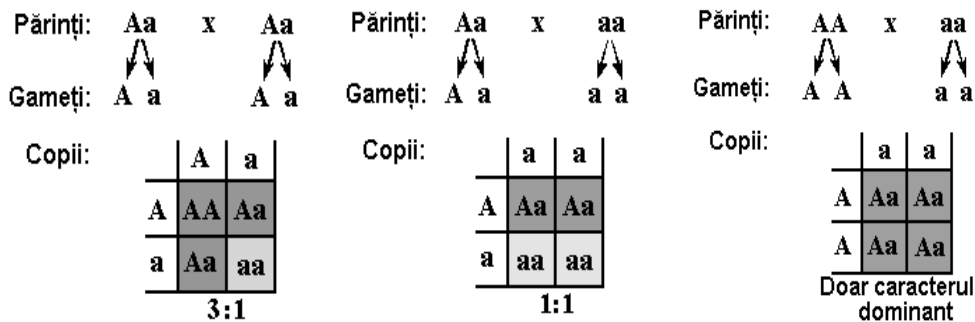


CARACTERE MONOGENICE MENDELIENE

Caracterele monogenice sunt caracterele controlate de o singură pereche de gene alele (conform „dogmei genetice”: o pereche de gene – un caracter). Exemple de caractere monogeneice normale pot fi:

- grupele de antigene eritrocitare (AB0, Rh, MN, Xg, etc.);
- grupele serice (haptoglobine, transferine, etc.);
- grupele enzimatică;
- antigenii tisulari (HLA).

Caracterele monogenice reprezintă produsul interacțiunii a două alele, între care pot exista relații de dominanță / recesivitate sau codominanță; se transmit mendelian și respectă legile monohibridării.



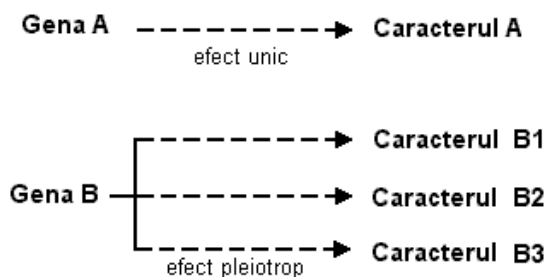
Exprimarea fenotipică în populație a caracterelor monogenice este de regulă **bimodală** (de ex., 75% din populație are Rh+, iar 25% - Rh-). Unele caractere monogenice prezintă mai multe forme alternative – **polimorfisme** – determinate de existența alelelor multiple și/sau interacțiunea cu alți factori ereditari sau neereditari (de ex., mai multe variante de grupe sanguine după sistemul AB0 – I [0], II [A_1 sau A_2], III [B], IV [A_1B sau A_2B]).

Caracterele monogenice pot fi atât normale (de ex., grupele sanguine, grupele serice, antigenii tisulari, etc.), cât și patologice (de ex., polidactilia, albinismul, fenilcetonuria, hemofilia, daltonismul, unele forme ale displaziei smalțului dentar, etc.).

DETERMINISMUL UNOR CARACTERE EREDITARE NORMALE

Caracterul	Alele	Localizare pe cromozom	Relațiile dintre alele	Genotipuri	Fenotipuri
Factorul Rhesus	D, d	1	Dominanță / recesivitate	DD, Dd dd	Rh+ Rh-
Gustător	G, g	?	Dominanță / recesivitate	GG, Gg gg	Gustător Negustător
Secretor	Se, se	19	Dominanță / recesivitate	SeSe, Sese sese	Secretor Nesecretor
Grupe sangvine ABO	0, A ₁ , A ₂ , B	9	Dominanță / recesivitate	00 A ₁ A ₁ , A ₁ A ₂ , A ₁ 0 A ₂ A ₂ , A ₂ 0 BB, B0	0 (I) A ₁ (II) A ₂ (II) B (III)
			Codominanță	A ₁ B A ₂ B	A ₁ B (IV) A ₂ B (IV)
Grupe sangvine MN	M, N	4	Codominanță	MM MN NN	M MN N
Haptoglobine	Hp1, Hp2	16	Codominanță	Hp1Hp1 Hp1Hp2 Hp2Hp2	Hp1-1 Hp1-2 Hp2-2
Grupe sangvine Xg	Xg(a+), Xg(a-)	X	Dominanță / recesivitate	Xg(a+)Xg(a+), Xg(a+)Xg(a-), Xg(a+)Y	Xg+
				Xg(a-)Xg(a-), Xg(a-)Y	Xg-

Unele gene au acțiuni unică (o genă – un caracter), altele – au acțiuni multiplă, **pleiotropă** (o



genă controlează formarea mai multor caractere).

În dependență de capacitatea de manifestare fenotipică caracterele pot fi: **dominante**, **intermediare** și **recesive**. Gena ce se manifestă atât la homoziгоți cât și la heteroziгоți se numește **alelă dominantă (A)**, iar cea care se manifestă doar în stare homoziгоtă – **alelă recesivă (a)**. Fiecare individ este heterozigot pentru unii loci și este homozigot pentru alții. Între genele alele pot exista mai multe tipuri de relații – **interacțiuni alelice**:

- **dominare completă** – la heteroziгоți se manifestă alela dominantă (de ex., indivizii DD sau Dd prezintă Rh+, iar dd prezintă Rh-);
- **dominare incompletă** – la heteroziгоți se formează un caracter intermediar (de ex., Hb^AHb^A – hemoglobină normală – 100% eritrocite normale; Hb^AHb^S – anemie formă ușoară, 50% eritrocite normale și 50% eritrocite în formă de seceră; Hb^SHb^S – anemie formă letală, 100% eritrocite în formă de seceră);
- **codominare** – la heteroziгоți se manifestă ambele alele (de ex., grupa sangvină IV – A₁B sau A₂B).

Manifestarea fenotipică a caracterelor monogenice poate fi influențată și de gene nealele din același grup de înlanțuire sau din grupuri diferite – **interacțiuni nealelice**:

- **epistazia** – fenomenul când o genă (**epistatică**) influențează activitatea unei alte gene nealele (**hipostatică**). De ex., gena **h** în stare homozigotă blochează expresia genelor sistemului ABO – fenotipul Bombay:
 - o persoanele cu genotip HHBO sau HhBO prezintă antigeni B pe eritrocite, iar
 - o persoanele cu genotip hhBO nu prezintă antigeni B pe eritrocite.
- **acțiunea complementară a genelor** – pentru formarea unui caracter cooperează diferite gene prin acțiunea concomitentă a produșilor lor (de ex., hemoglobina A este rezultatul expresiei genelor α -globinei de pe cromozomul 16 și β -globinei de pe cromozomul 11);
- **efectul poziției** - activitatea unei gene este influențată de alte gene sau secvențe învecinate; modificarea secvențelor învecinate pot duce la inhibarea sau activarea defectivă a genei.

Genotipul se află sub influența diferitor factori genetici sau negenetici, interni sau externi ce pot influența capacitatea de manifestare fenotipică a genei:

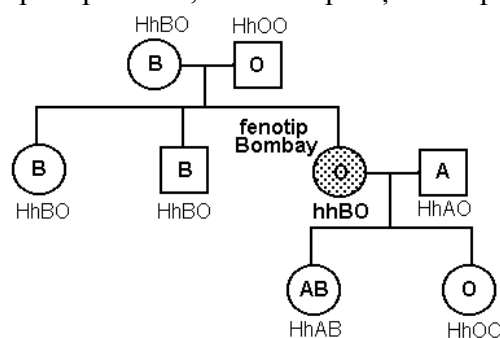
- **penetranța** – reprezintă frecvența cu care o genă se manifestă fenotipic la indivizii heterozigoți; penetranța poate fi completă (toți heterozigoții prezintă caracterul dominant) sau incompletă (doar o parte dintre heterozigoți prezintă caracterul dominant);
- **expresivitatea** – reprezintă gradul sau severitatea de manifestare fenotipică a unei gene (de ex., forme complete sau incomplete ale unui sindrom, forme ușoare sau forme grave ale unei patologii).

CARACTERE MONOGENICE NON-MENDELIENE

Majoritatea caracterelor monogenice normale sau anormale se transmit după regulile lui Mendel având o manifestare distinctă în dependență de genotipul persoanei, prezentând și unele excepții determinate de interacțiuni cu alte gene sau cu factorii de mediu – **penetranța incompletă** sau **expresivitatea variabilă**. Dar există caractere ce prezintă abateri de la regulile mendeliene care sunt determinate de fenomene genetice neobișnuite:

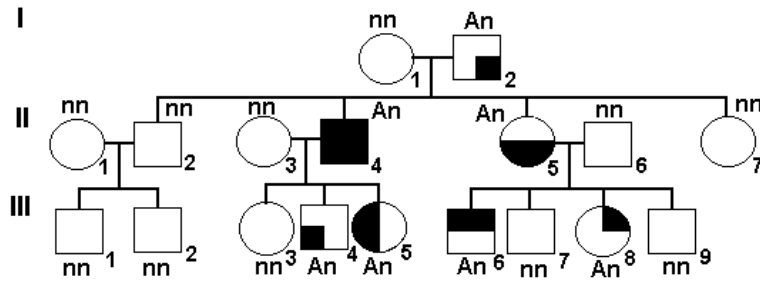
- instabilitatea genelor;
- amrentarea genomică;
- disomia uniparentală;
- mozaicismul,
- ereditatea mitocondrială.

Penetranța reprezintă frecvența cu care o genă se manifestă fenotipic la indivizii heterozigoți. Penetranța poate fi completă (toți heterozigoții prezintă caracterul dominant) sau incompletă (doar o parte dintre heterozigoți prezintă caracterul dominant). Cauzele non-penetranței unei gene pot fi interacțiunile genelor nealele de tipul epistaziei, efectului poziției sau pot fi factorii de mediu.



Un exemplu de non-penetranță a genei B, fenotip Bombay, în cazul epistaziei recesive între genele H și ABO.

Expresivitatea reprezintă gradul sau severitatea de manifestare fenotipică a unei gene la diferiți indivizi cu același genotip. Cauzele expresivității variabile pot fi interacțiunile genice sau factorii de mediu și se manifestă prin forme complete sau incomplete ale unei patologii, forme ușoare sau forme grave ale unei patologii, etc..



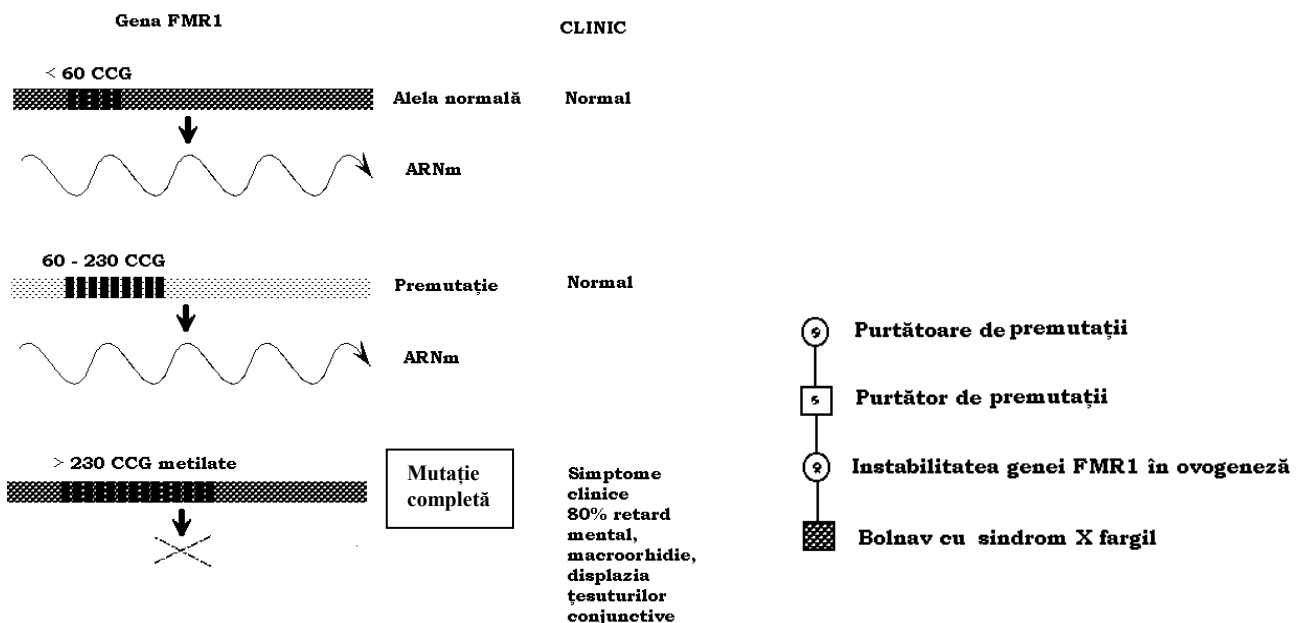
Expresivitatea variabilă a genei polidactiliei la indivizii heterozigoți: I-1 are șase degete la piciorul drept, II-4 are câte șase degete și la mâni și la picioare, II-5 –numai la picioare, III-4 – la piciorul stâng, III-5 – la mâna și piciorul stâng, III-6 – la ambele mâni și III-8 are șase degete numai la mâna dreaptă.

Instabilitatea genelor în șirul generațiilor este determinată de **mutații dinamice**. Ele sunt reprezentate de creșterea numărului de copii ale unor **repetări trinucleotidice** situate în proximitatea sau chiar în interiorul genelor structurale, cu ocazia diviziunilor pe care le realizează celula purtătoare. Există variații ale numărului de repetări trinucleotidice:

- polimorfisme ADN **benigne**;
- **premutația** – secvența de ADN devine instabilă, dar nu determină un fenotip patologic;
- **mutația completă** - prin expansiunea repetărilor determinând fenotip patologic.

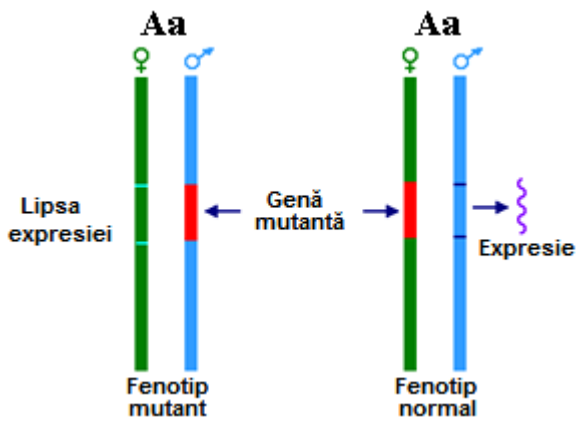
Purtătorii premutațiilor sunt fenotipic normali. Expansiunea repetărilor are loc în gametogeneză. Astfel unii din gameții purtătorilor sănătoși vor conține mutația completă, care la descendenți va produce un fenotip patologic.

În gametogeneza ultimilor, din cauza instabilității acestor repetări, vor apărea expansiuni adiționale, care la următoarea generație va produce un fenotip patologic mai grav (=fenomenul de **anticipație**).



Amprentarea genomică este un proces genetic implicat în reglarea activității genelor, în special prenatal, controlând *dozajul genetic* prin inactivarea selectivă a genelor de origine maternă sau paternă.

Mecanismele amprentării gnelor nu sunt pe deplin elucidate. Unul din acestea ar putea fi determinat de metilarea ADN – proces asociat cu inactivarea genei.



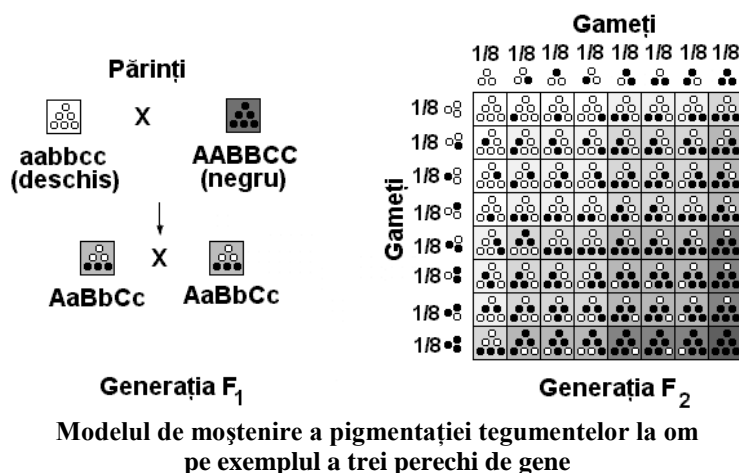
De exemplu, gena *Igf-2* ce controlează sinteza unuia dintre factorii de creștere poate fi implicată în procesul de creștere (talie). Mutația acestei gene este implicată în apariția nanismului, în cazul dacă este moștenită pe linie paternă. Astfel indivizii heterozigoți (Na) pot avea fenotip normal dacă gena mutantă (a) este de origine maternă sau sunt cu hipostatură (pitici) dacă gena (a) are origine paternă. Duplicația genei normale ($N \rightarrow NNa$) poate cauza supracreșterea dacă este moștenită pe linie paternă sau prezintă fenotip normal dacă moștenește pe linie maternă.

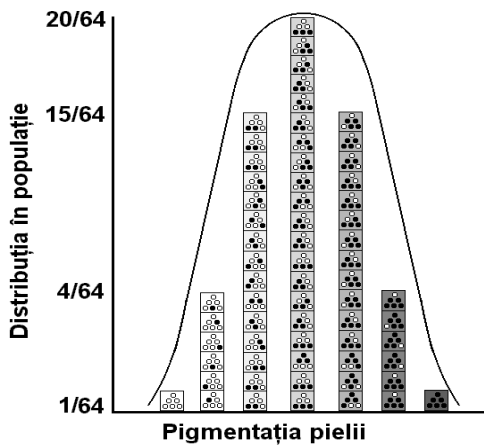
Disomia uniparentală este fenomenul, când zigotul conține doi cromozomi omologi moșteniți de la același părinte. Ea apare ca rezultat al nedisjuncțiilor cromozomilor în meioza maternă sau paternă, urmată de eliminarea postzigotică a cromozomului supranumerar de cealaltă origine. O altă cauză a apariției disomiei uniparentale ar putea fi translocația robertsoniană. Astfel, persoanele cu disomie uniparentală moștenesc de la un singur părinte alelele pentru anumite caractere, înălțuite cu cromozomul disomic. Dar, în dezvoltare există o contribuție diferențiată a informației din cromozomii materni și paterni (dozaj genetic). Totodată prezența ambelor genomuri parentale este esențială pentru dezvoltarea feților viabili. Necesitatea existenței materialului genetic a ambilor părinți a fost demonstrată prin consecințele *disomiei uniparentale*. Sindromul Prader – Willi și sindromul Angelman sunt determinate de amprentarea genei *Snrpn* cu localizare în cromozomul 15q11-13. În cazul sindromului Prader – Willi s-a identificat disomia uniparentală maternă a cromozomului 15, care se manifestă fenotipic prin retard mental moderat, obezitate și hipostatură. Sindromul Angelman rezultă prin disomie uniparentală paternă, manifestându-se fenotipic prin retard mental sever și ataxie. În disomia uniparentală maternă a cromozomului 7 au fost depistat retard de creștere.

CARACTERE EREDITARE NORMALE POLIGENICE

Caracterele poligenice sunt controlate de mai multe gene nealele, care acționează independent unele de altele (nu există relații de dominanță / recesivitate sau epistazie), care, de regulă, au efecte cantitative

mici aditive. Caracterul poligenic prezintă o distribuție continuă în populație (distribuție normală gaussiană) și nu există clase fenotipice distincte, specifice transmiterii monogenice. Fiecare individ din populație diferă, uneori aproape imperceptibil, de toți ceilalți. Expresia caracterelor poligenice este influențată de mediu, de aceea pot fi numite *caractere multifactoriale*. Exemple de caractere poligenice normale pot fi menționate: distribuția pigmentației pielii, talia, masa corpului, inteligența, dermatoglifele, etc.





Distribuția normală (Gaussiană) în populație pigmenția pielii

Culoarea pielii depinde de mai mulți factori: grosimea și transparența epidermei; starea circulației la nivelul vaselor subepidermice; cantitatea de pigment melanic și distribuția acestuia (cel mai important). Cantitatea de melanină din piele este determinată de 2-6 perechi de gene. Modelul de moștenire a pigmenției tegumentelor este reprezentat în figurile alăturate. Fiecare alelă dominantă (A, B, C) determină sinteza unei anumite cantități de melanină, iar alele recesive (a, b, c) sunt inactice. Cantitatea de melanină, și ca rezultat – intensitatea pigmenției, depinde de sumarea dozelor genelor dominante, fenomen numit *poligenie aditivă (cumulativă)*.

VALOAREA CUNOAȘTERII CARACTERELOR EREDITARE NORMALE

Din punct de vedere teoretic, cunoașterea eredității caracterelor normale la om permite:

- demonstrarea valabilității legilor lui Mendel;
- studiul funcției genice;
- evidențierea unor fenomene genetice cunoscute la alte specii (himerele, dubla fecundare, recombinarea genetică, nedisjuncția meiotică);
- investigarea localizării genelor pe cromozomi și stabilirea "hărților genetice" (utilizarea caracterelor normale ca markeri și analiza fenomenelor de înlănțuire genică între genele normale care le determină și alte gene, normale sau anormale);
- elucidarea unor aspecte de genetică a populațiilor.

Din punct de vedere practic, cunoașterea eredității caracterelor normale la om permite:

- elaborarea testelor de identificare a persoanei (fiecare individ are o combinație specifică, unică, de caractere ereditare normale - ex. dermatoglife unice, combinație HLA specifică, etc.);
- stabilirea compatibilității între donator și recipient (grupe sanguine - pentru transfuzii; grupe tisulare, sanguine - pentru transplanturi);
- expertiza filiației și paternității, diagnosticul gemenilor monoziigoți (concordanță 100% pentru caracterele monogenice, 95% pentru dermatoglife) și dizigoți;
- elaborarea testelor de diagnostic în diferite boli:
 - diagnosticul unor afecțiuni prin studiul înlănțuirii genelor anormale cu anumite gene normale (ex. elipsocitoza - locus înlănțuit cu locusul Rh);
 - relații între sistemul HLA și predispoziția sau rezistența față de anumite boli;
 - prezența unor modificări ale dermatoglifelor în unele anomalii cromozomice (de ex. sindromul Down - pliu palmar transvers unic, triradius axial t' sau t", exces de bucle cubitale).

CURS 10

STUDIUL CARACTERELOR EREDITARE

Caracterele ereditare normale sau anormale (bolile genetice) se caracterizează prin determinism monogenic, poligenic sau multifactorial. De regulă, **determinismul genetic** al caracterelor se stabilește odată cu formarea genotipului individului la fecundare. Astfel, caracterele ereditare au un șir de particularități prin care se deosebesc de cele neereditare:

- sunt produse **prenatal**;
- au manifestare **congenitală**;
- **se transmit genealogic**;
- sunt **familiale**;
- sunt **concordante la gemenii monoziгоți**;
- se asociază cu **marcheri genetici**;
- au o **distribuție populațională specifică**.

De fapt aceste particularități luate fiecare în parte, nu au o valoare absolută deoarece unele dintre ele se pot întâlni și la caracterele și bolile neereditare dar, atunci când ele se asociază mai multe deodată la un caracter, semnifică, de obicei, natura ereditară.

PARTICULARITĂȚILE CARACTERELOR EREDITARE

1. Determinismul genetic

Fiecare caracter ereditar este determinat de interacțiunea genotip – factorii de mediu. Gena sau genele moștenite determină un caracter fenotipic prin:

- sinteza unor proteine specifice (**caracter elementar**);
- realizarea funcției specifice a proteinei la nivel de celulă și/sau țesut;
- manifestarea unui anumit caracter (normal sau patologic) la nivel de organism – **caracter fenotipic**.

2. Determinismul prenatal

Constituția genetică a fiecărui individ se stabilește în momentul formării zigotului, iar fenotipul se formează prin expresia diferențiată a genelor moștenite (caractere de specie, caractere normale individuale, anomalii). Caracterele ereditare sunt determinate până la naștere, deși se pot manifesta la diferite etape ale ontogenezei. **Dar**, în perioada prenatală, organogeneza poate fi influențată și de factorii mediului, producând anomalii de dezvoltare neereditare (de ex., fenocopiile).

3. Manifestarea congenitală

Manifestarea congenitală reprezintă prezența caracterului sau a bolii încă de la naștere. Majoritatea caracterelor și bolilor ereditare sunt prezente la naștere, dar există și excepții, când ele se manifestă mai târziu la o anumită vârstă, mai precoce sau mai tardiv (de ex., hipodonția, miopia, coreea Huntington etc.). **Dar**, există și afecțiuni neereditare cu manifestare congenitală (de ex., fetopatia rubeolică, fetopatia alcoolică, boala constricțiilor amniotice).

4. Transmiterea genealogică

Transmiterea genealogică reprezintă moștenirea unui caracter de la părinți și transmiterea lui la descendenți. Este cunoscut că caracterele și bolile ereditare se transmit din generație în generație. **Dar** există și unele care nu se transmit:

- datorită decesului precoce a persoanelor afectate (bolnavii cu hemoglobinopatii severe);
- datorită sterilității persoanelor afectate (de ex., sindromul Morris - testicul feminizant);
- apariția unor mutații noi care ar putea să se transmită generațiilor următoare;
- boli recesive rare.

Există și boli neereditare care se pot transmite de la o generație la alta (de ex., transmiterea mamă - făt a sifilisului, SIDA etc.).

Analiza transmiterii genealogice este un lucru esențial în stabilirea naturii ereditare a unui caracter sau a unei boli deoarece transmiterea ereditară se face după niște reguli stricte, matematice (ex: legile lui

Mendel), în timp ce transmiterea neereditară are un caracter aleator, în funcție de condițiile momentane de mediu.

5. Distribuția familială

Distribuția familială reprezintă frecvența crescută a anomaliei / caracterului la membrii înrudiți ai aceleiași familii, comparativ cu frecvența din populația generală (concentrare familială a caracterului). Majoritatea bolilor ereditare prezintă o netă distribuție familială, deși există și boli ereditare cu apariție sporadică (de ex., anomaliile cromozomice care apar sporadic deoarece de obicei determină anomalii de reproducere). Există și boli neereditare care pot prezenta distribuție familială atunci când membrii familiei suferă influența unor condiții similare de mediu (de ex., gușa endemică, tuberculoza, intoxicațiile, unele infecții etc.).

6. Concordanța caracterului la gemenii monoziгоți

Caracterele monogenice, pur ereditare sunt totdeauna identice la gemenii monoziгоți (100 % concordanță), iar cele neereditare sau multifactoriale pot fi discordante. Când concordanța unui caracter este regula, iar discordanța excepție, se vorbește despre caractere determinate parțial ereditar (caractere multifactoriale). În cazul **caracterelor ecologice**, concordanța este egală cu discordanța la gemenii monoziгоți.

7. Frecvența diferită în populații diferite

Anumite caractere ereditare prezintă frecvențe diferite în populații genetic diferite. Aceasta se explică prin concentrarea anumitor gene într-o anumită regiune. De exemplu:

- deficiența în G6PD (glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza) sau unele hemoglobinopatii (de ex., sicklemlia) sunt mai frecvente în zonele cu malarie, deoarece heterozigoții pentru aceste afecțiuni sunt rezistenți la plasmodiul malariei;
- în izolatele umane (geografice, etnice sau religioase), prin căsătorii consangvine se creează un fond crescut de alele comune (de ex., în majoritatea populațiilor din Europa frecvența albinismului este 1:20000, iar într-un izolat din regiunea Bihorului, România este de 1:100).

8. Prezența anomaliilor cromozomice

Toate afecțiunile care se însoțesc de anomalii cromozomice de număr sau de structură (vizibile la analiza cariotipului) sunt anomalii genetice (ereditare). Dar nu toate bolile ereditare se însoțesc de anomalii cromozomice (de ex., bolile ereditare produse prin mutații genice sau poligenice se însoțesc de un cariotip normal). Cariotipul normal nu exclude deci existența unui caracter ereditar anormal la subiectul cercetat.

9. Asocierea cu marcheri genetici

Unele caractere fenotipice anormale se pot asocia cu marcheri genetici specifici ușor detectabili, de obicei caracteristici pentru o familie, la care se referă:

- o anumită secvență ADN, reprezentând o genă normală, localizată în vecinătatea genei patologice;
- un microsatelit aflat în vecinătatea sau interiorul unei gene patologice;
- un situs de restricție.

Asocierea se poate explica prin următoarele fenomene:

- transmiterea înlănțuită a genelor ce formează haplotip (de ex., asocierea Rh - eliptocitoză);
- o genă favorizează apariția unei anumite tulburări (ex. asocierea HLA-B27 - spondilită anchilozantă).

Numai asocierea criteriilor prezentate permite stabilirea naturii ereditare a unui caracter. Criteriile luate separat, nu au valoare practică.

METODE DE STUDIU UTILIZATE ÎN GENETICA UMANĂ

În genetica umană, pentru a stabili natura ereditară a unui caracter se utilizează mai multe metode ce au ca țintă următoarele:

- analiza materialului genetic cu depistarea directă sau indirectă a mutațiilor, analiza markerilor genetici (**metode molecular-genetice, metode citogenetice**);
- analiza produsului genic primar (proteina), depistarea defectelor de metabolism (**metode biochimice**);
- studiul transmiterii ereditare a caracterelor normale și patologice în familie (**metoda genealogică**);
- stabilirea ponderii factorilor genetici și factorilor de mediu în geneza unui caracter normal sau patologic (**metoda gemenilor**);
- stabilirea structurii genetice a populației (**metoda populațional-statistică**).

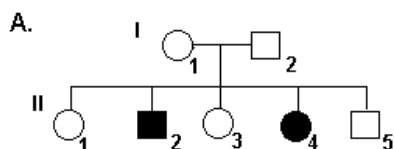
METODE MOLECULAR GENETICE

Metodele molecular-genetice sunt bazate pe tehnologia ADN – recombinant și include mai multe tehnici de studiu a secvenței nucleotidelor în ADN și expresiei genice la nivel de ARN. Acestea au ca scop depistarea genelor normale sau mutante responsabile de un anumit caracter, modificările genice asociate cu un anumit fenotip, unele particularități de organizare a ADN-ului asociate cu anumite anomalii – markeri genetici (minisateliti, situsuri de restricție, metilarea ADN-lui etc.), analiza expresiei genelor (expresia specifică de țesut, într-o anumită perioadă a ontogenezei, rata expresiei). În dependență de scopul studiului se pot folosi mai multe metode bazate pe:

- secvențierea ADN;
- tehnica PCR;
- tehnica Southern-blot;
- tehnica Northern-blot, etc.

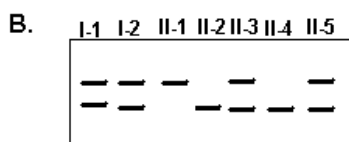
Analiza acizilor nucleici este utilă în:

- depistarea purtătorilor de mutații genice;
- diagnosticul prenatal sau postnatal a unor boli genice;
- depistarea genelor de predispoziție la boală;
- analiza filiației (maternitate / paternitate);
- stabilirea identității biologice (criminologie);
- depistarea ADN-ului (ARN-ului) străin în diagnosticul infecțiilor.



În figura din stânga se prezintă:

A. o familie cu două generații, unde ambii părinți sunt sănătoși și au 5 copii dintre care doi prezintă semnele clinice ale fenilcetonuriei (afecțiune autozomal – recesivă);



B. rezultatele electroforezei produșilor PCR a tuturor membrilor familiei respective; I-1, I-2, II-3, II-5 sunt heterozigoți (Na), II-2 și II-4 sunt homozigoți după alela recesivă patologică (aa), iar II-1 este homozigot dominant după alela normală (NN).

METODE CITOGENETICE

Metodele citogenetice includ diverse tehnici de analiză microscopică a materialului genetic la nivel de celulă:

- analiza cromozomilor metafazici și prometafazici (cariotiparea);
- teste de citogenetică moleculară pe cromozomi interfazici (FISH, mFISH, SKY);
- testul Barr pentru analiza cromatinei sexuale X;
- testul F pentru analiza cromatinei sexuale Y.

Cariotiparea reprezintă analiza setului de cromozomi din celulele somatice în diviziune pentru aprecierea numărului, formei și mărimii cromozomilor, utilizând diferite tehnici de colorare / vizualizare. Astfel, analiza plăcilor metafazice sau prometafazice permite depistarea diferitor anomalii cromozomice de număr sau de structură implicate în sindroame plurimalformative, neoplazii, stări intersexuale.

Analiza cromozomilor interfazici, bazată pe hibridizarea *in situ* permite stabilirea unor anomalii cromozomice submicroscopice (microdeleții sau microduplicații) sau stabilirea poziției unor gene în cromozomi.

Testul cromatinei sexuale permite diagnosticul sindroamelor cromozomiale cu implicarea heterozomilor X sau Y și stabilirea sexului genetic. Cromatina sexuală X (corpusul Barr) poate fi ușor vizualizată pe preparate citologice în interfază (numărul corpușculilor Barr + un cromozom X = numărul cromozomilor X în celula analizată).

METODE BIOCHIMICE

Spectrul de metode biochimice presupune analiza produsului primar al expresiei genetice – proteina, precum și a metaboliților controlați de această proteină. Sunt utilizate metode calitative și cantitative specifice unui anumit tip de metaboliți. Aceste tehnici sunt indicate în:

- diagnosticul unor boli monogenice – enzimopatii;
- diagnosticul unor boli multifactoriale;
- stabilirea unei predispoziții la boală.

De exemplu, prin analiza electroforetică a proteinelor serice se poate stabili polimorfismul individual și, indirect, constituția genetică a individului (genotip homozigot sau heterozigot).

METODA GENEALOGICĂ

Una dintre particularitățile caracterelor ereditare este concentrarea lor familială și transmiterea de la o generație la alta. **Metoda genealogică** presupune analiza familială, identificarea persoanelor cu un anumit caracter și urmărirea acestuia pe parcursul mai multor generații. Aceasta este importantă pentru stabilirea tipului de transmitere a caracterului și calcularea probabilității de reapariție a caracterului ereditar la descendenții unui cuplu.

Studiul genealogic se realizează în mai multe etape:

- anamneza familială;
- analiza clinică și paraclinică a membrilor familiei;
- întocmirea arborelui genealogic;
- analiza tipului de transmitere a caracterului;
- stabilirea genotipurilor persoanelor din familia studiată și calcularea probabilității de manifestare a unui fenotip normal sau patologic;
- sfat genetic.

Anamneza familială este primul pas în obținerea informațiilor despre prezența unui anumit caracter într-o familie. De regulă, informația este obținută de la **proband** (*cazul princeps* – persoana ce se adresează după sfat genetic). Datele despre structura familiei sunt înregistrate în fișe speciale de consult genetic și sunt completate pe baza informațiilor obținute din analiza familială.

Analiza familială include chestionarea rudelor probandului (cel puțin 2-3 generații), analiza clinică și paraclinică a probandului și a rudelor afectate și sănătoase, analiza fișelor medicale personale, efectuarea testelor genetice (în dependență de caz – cariotip, cromatină sexuală, analiza ADN, studiul înălțurii cu markeri genetici). Toate aceste informații pe de o parte completează istoricul familiei, pe de altă parte concretizează tipul anomaliei sau afecțiunii (diagnostic clinic precis). Fișele de consult genetic includ următoarele date:

(a) dacă probandul este copil – evoluția sarcinii, boli acute sau cronice ale mamei și medicamente administrate în timpul sarcinii, expunerea la agenți teratogeni sau mutageni; vârsta părinților; prezența consangvinității; nașterea la termen sau prematură, durata travaliului, naștere naturală sau prin manevre obstetricale; date despre nou-născut – greutatea și talia la naștere, scor Apgar; evoluția postnatală.

(b) dacă probandul este adult – evoluția pubertății, funcția reproductivă (normală sau perturbată: sterilitate, avorturi spontane, nou-născuți morți sau nou-născuți vii malformați); locul de muncă, expunere la noxe.

Analiza familială este utilă pentru diferențierea unei anomalii congenitale neereditare de o boală ereditară propriu-zisă.

Întocmirea arborelui genealogic. Arborele genealogic este reprezentarea grafică, cu ajutorul unor semne convenționale, a rezultatelor **anchetei familiale** și servește la stabilirea tipului de transmitere în cazul în care acesta este ereditar.

Stabilirea tipului de transmitere a caracterului în cazul când acesta este ereditar, se efectuează în conformitate cu criteriile de recunoaștere (prezența caracterului în fiecare generație sau discontinuitate în transmitere; raportul prezenței caracterului la cele două sexe). Transmiterea poate fi monogenică sau poligenică, autozomală, sau lincată cu cromozomii sexuali, determinată de alele dominante sau recesive. În dependență de tipul de transmitere, se stabilește genotipul persoanelor sănătoase și afectate, se calculează **riscul de recurență** (probabilitatea apariției anomaliei analizate la descendenți).

Rezultatele analizei genealogice a familiei stau la baza unui consult genetic adecvat pentru:

- informarea obiectivă a familiei;
- planificarea familiei;
- opțiuni pentru diagnosticul prenatal în scop de prevenire a nașterii copiilor cu anomalii;
- prevenirea manifestării unor complicații în cazul bolilor genetice cu manifestare la adult.

METODA GEMENILOR

Prin analiza comparativă a unui caracter la gemenii monoziгоți și gemenii dizigoți se poate urmări o concordanță sau discordanță care poate fi asociată cu ponderea factorilor genetici și de mediu în manifestarea unui fenotip.

Gemenii monoziгоți (GMZ) provin din același zigot și ca urmare sunt genetic identici. De regulă GMZ, având genotip identic, au caractere ereditare asemănătoare (concordanță) și diferă doar după caracterele influențate de mediu (discordanță).

Gemenii dizigoți (GDZ) sunt gemeni proveniți din fecundarea a două ovule diferite de către doi spermatozoizi, ei diferă genetic ca oricare membru al unei fratrii față de ceilalți.

Pentru stabilirea cotei factorilor genetici și celor de mediu în formarea unui caracter, se calculează coeficientul de ereditate (H):

$$H = \frac{\text{ConcordanțaGMZ} - \text{ConcordanțaGDZ}}{100\% - \text{ConcordanțaGDZ}} \times 100\%$$

Concordanța GMZ sau GDZ reprezintă procentul de asemănare după un anumit caracter la mai multe perechi de gemeni (valori statistice veridice). Cu cât raportul este mai apropiat valoric de 100%, participarea factorilor genetici în determinismul caracterului este mai mare. Coeficientul are valoarea 100% pentru caracterele pur ereditare (concordanța la gemenii monoziгоți este de 100%).

La valorile H cuprinse între 100-70% factorul ereditar are rol major, preponderent; între 70-40% caracterul este format sub influența mediului dar cu predispoziție genetică; mai puțin de 40% - caracterul este ecologic.

În prezent metoda gemenilor se utilizează pentru stabilirea rolului factorilor genetici și de mediu în longevitate, manifestarea talentului, sensibilitatea la medicamente, etc.

Caracterul analizat	Concordanța la GMZ (%)	Concordanța la GDZ (%)	H (%)	Tipul caracterului
Sexul	100	58	100	Genetic
ABO	100	65	100	Genetic
Dermatoglife	95	60	88	Genetic
Reumatism	60	34	40	Cu predispoziție genetică
Diabet zaharat	30	16	17	Ecologic

METODA POPULAȚIONAL-STATISTICĂ

Populația umană reprezintă totalitatea indivizilor ce locuiesc pe un anumit teritoriu, între care are loc schimb permanent de informație ereditară. Structura genetică a unei populații se poate deosebi de alta datorită existenței unui **genofond** particular determinat de suma genotipurilor indivizilor din această populație. S-a stabilit că genofondul unei populații este relativ constant de-a lungul mai multor generații. Stabilitatea genetică este valabilă pentru populația ideală care se caracterizează prin următoarele particularități:

- este numeroasă (peste 1,5 mii indivizi);
- este panmictică (căsătorii la întâmplare);
- lipsa fluxului interpopulațional de gene (lipsa migrațiilor);
- rata mutațiilor rămâne constantă;
- lipsa selecției în favoarea sau defavoarea unui genotip;
- lipsa undelor populaționale.

Echilibrul genetic al unei populații ideale este caracterizat de legea Hardy-Weinberg, valabilă pentru caracterele monogenice:

1. Într-o populație ideală frecvența alelelor rămâne constantă de-a lungul generațiilor:

$$p+q=1, \text{ unde}$$

p – frecvența alelei dominante (A)

q – frecvența alelei recesive (a)

2. Într-o populație ideală frecvența genotipurilor rămâne constantă de-a lungul generațiilor:

$$p^2+2pq+q^2=1, \text{ unde}$$

p² – frecvența homozigoților dominanți (AA)

2pq – frecvența heterozigoților (Aa)

q² – frecvența homozigoților recesivi (aa).

Factorii care ar putea modifica genofondul populației sunt: izolatele, căsătoriile consanguine sau asortative, migrațiile, mutageneza, selecția, deriva genică etc.

Valoarea practică a metodei populațional statistice constă în cunoașterea genofondului populației, estimarea frecvenței unor alelele mutante, calcularea numărului aproximativ al persoanelor afectate și purtătoare de mutații patologice etc. Datele statistice pot fi utile în planificarea activității instituțiilor medicale, inițierea unor programe de profilaxie a patologiilor genetice.

CURS 11 INTRODUCERE ÎN PATOLOGIA GENETICĂ UMANĂ

Bolile genetice reprezintă stări patologice determinate sau condiționate de modificări specifice ale materialului genetic (mutații). Bolile genetice sunt numeroase și variate atât după cauza apariției, momentul manifestării, cât și tabloul clinic.

ETIOLOGIA BOLILOR GENETICE

Cauzele producerii bolilor genetice pot fi clasificate în trei grupe:

- **anomalii cromozomice de număr sau de structură**, ce determină un deficit sau surplus al materialului genetic și ca consecință, în dependență de dezechilibrul genic – sindroame plurimalformative viabile sau letale;
- **mutații genice** cu efect patologic major, ce determină anomalii calitative sau cantitative în sinteza unei proteine (enzimă, receptor, canal, etc.) și producerea unei boli monogenice sau unui sindrom monogenic;
- **mutații poligenice** cu efect patologic minor, dar aditiv, ce reprezintă predispoziția la boală, iar acțiunea unor factori de mediu determină apariția unor boli multifactoriale.

Mutațiile reprezintă modificări anormale ale materialului genetic la diverse nivele:

- substituții nucleotidice în secvențele codificatoare sau necodificatoare ale moleculei de ADN;
- deleții sau aditii nucleotidice;
- deleții sau duplicații a unor fragmente cromozomiale;
- monosomii sau trisomii cromozomiale.

Mutațiile pot afecta atât materialul genetic nuclear, cât și ADN-ul mitocondrial; pot afecta materialul genetic al celulelor generative și se pot transmite genealogic, sau pot afecta materialul genetic al celulelor somatice realizându-se o clonă celulară mutantă cu consecințe patologice doar asupra fenotipului purtătorului, fără transmitere genealogică.

Mutațiile pot fi ereditare (moștenite), manifeste sau nu la alte generații, sau pot fi *de novo* - spontane sau produse sub acțiunea unor factori de mediu mutageni (radiații, virusuri, noxe profesionale, diverse substanțe chimice toxice).

CLASIFICAREA BOLILOR GENETICE

Bolile genetice sunt **determinate sau condiționate** de mutații la nivelul moleculelor de ADN (modificări calitative sau cantitative ale materialului genetic). În dependență de cota de participare a factorilor genetici bolile genetice se clasifică în:

- **boli cromozomiale** determinate de anomalii de număr sau structură a cromozomilor;
- **boli monogenice sau monofactoriale**, determinate de mutații dominante sau recesive, manifestarea cărora nu depinde de anumite condiții de mediu;
- **boli poligenice sau multifactoriale** care sunt condiționate de mutații mai multe gene cu efect minor sau aditiv și determinate de acțiunea patologică a factorilor de mediu.

În dependență de perioada ontogenetică de manifestare, bolile genetice pot fi clasificate în:

- **anomalii sau malformații congenitale;**
- **boli și sindroame congenitale;**
- **boli și sindroame ale adultului.**

Bolile genetice sunt rezultatul modificării materialului ereditar, dar pot fi:

- **ereditare**, cu **transmitere genealogică mendeliană** sau **nonmendeliană**;
- **neereditare**, produse prin mutații spontane, dar care se pot transmite la generațiile următoare;
- **anomalii de reproducere**, ca rezultat al mutațiilor letale sau mutațiilor sterile;
- **boli genetice ale celulelor somatice**, ca rezultat a apariției postnatale a unei clone celulare mutante.

Specialiștii din domeniul geneticii medicale insistă asupra clasificării etio-patogenetice a bolilor genetice:

- **boli cromozomiale** sau sindroame cromozomiale plurimalformative;
- **boli monogenice** sau moleculare;
- **boli poligenice** sau multifactoriale, boli cu predispoziție genetică;
- **boli mitocondriale**;
- **boli genetice ale celulelor somatice** (boala canceroasă);
- **boli de incompatibilitate materno-fetală**.

În prezent sunt cunoscute peste **1000 sindroame cromozomiale**. După datele Dr. Mc.Kusick au fost descrise și înregistrate peste **9000 de boli și sindroame monogenice**. Luată fiecare în parte, au o frecvență populațională mică, dar în ansamblu reprezintă o categorie de patologie umană importantă, în special luând în considerație impactul lor medico-social:

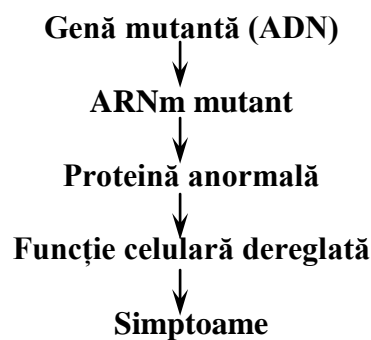
- **50% din toate avorturile spontane** cunoscute în primul trimestru de sarcină prezintă o **anomalie cromozomială**;
- **2-3% dintre nou-născuți** au o **anomalie congenitală majoră**;
- **0,6% din toți nou-născuții** au o **anomalie cromozomială**;
- **50% din toți copiii cu retard mintal sever**, cecitate sau surditate prezintă o **cauză genetică**;
- **30% din toți copiii spitalizați** prezintă o **maladie genetică**;
- **40-50% din mortalitatea infantilă** au **cauză genetică**;
- **1% din toate cazurile de malignitate** sunt direct determinate de **factorii genetici**;
- **10% din cazurile comune de cancer** (CR de sân, CR de colon sau CR ovarian) au o **componentă importantă genetică**;
- **5% din populația cu vârste < 25 ani** va manifesta o **maladie genetică**;
- **10% din adulți** prezintă fie o **maladie pur genetică**, fie o **maladie cu predispoziție genetică**.

ASPECTE COMUNE ÎN PATOGENEZA BOLILOR GENETICE

Specificitatea mecanismului patogenic al bolii este determinat de caracterul lezării materialului genetic, dar se formează la nivelul întregului organism → determinând particularitățile individuale de desfășurare a procesului patologic.

În bolile cromozomiale dereglările fenotipice corelează cu gradul de dezechilibru cromozomic, cu cât mai mult material genetic este implicat în mutație, cu atât mai precoce apar defectele de dezvoltare în ontogeneză și mai grave sunt consecințele. Bolile cromozomiale se caracterizează prin anomalii multiple de dezvoltare (dismorfii cranio-faciale, anomalii scheletice, anomalii cardio-vasculare, anomalii ale sistemului nervos, anomalii ale aparatului urinar etc.).

Mecanismele patogenetice în bolile monogenice sunt diverse și depind de caracterul modificărilor biochimice determinate de mutație:



Patogeneza multor boli ereditare și neereditare poate fi influențată de alți factori interni: starea sistemului imun și endocrin, vârsta și sexul pacientului, particularitățile metabolismului.

Tabloul clinic al bolilor genetice este foarte polimorf. Polimorfismul clinic este definit prin varietatea manifestărilor clinice și de laborator a unei boli, determinată de:

- heterogenitatea genetică;
- penetranța incompletă a unor gene dominante;
- expresivitatea variabilă a genelor patologice, pleiotropie, interacțiunea factorilor genetici cu factorii de mediu.

Cauzele genetice ale polimorfismului clinic sunt determinate de unicitatea biologică a fiecărui individ. Un rol important în expresivitatea bolii genetice îl au factorii de mediu ce pot interacționa cu cei ereditari la orice etapă de dezvoltare prenatală și postnatală.

Bolile cu predispoziție genetică se caracterizează printr-un polimorfism mai accentuat, manifestându-se prin continuitatea distribuirii de la formele ușoare, până la formele grave.

EREDITATEA ȘI CONSECINȚELE BOLII

1. Unele **mutații** (genice sau cromozomiale) sunt **letale**, fiind responsabile de moartea prenatală, perinatală și infantilă. Se cunosc peste 150 gene ce provoacă moartea prenatală, printre nou-născuții morți 1:5 are un defect genetic. Factorii externi cu acțiune distructivă (hipoxia, trauma la naștere, intoxicarea, hipotrofia, infecțiile) produc mai frecvent moartea copiilor cu genotip anormal, decât la cei cu genotip normal. Cele mai frecvente cauze ale mortalității infantile sunt bolile cromozomice, fibroza chistică, fenilcetonuria, sindromul adreno-genital, hipotireoza.

2. **Mutațiile patologice**, ca factori etiologici, pot fi cauza **bolilor cronice**. Evoluția cronică și progresivă în bolile genetice este o caracteristică, cu excepția celor letale.
3. **Mutațiile genice** se manifestă nu numai cu semne specifice, dar și cu **diminuarea rezistenței nespecifice a organismului** la bolile asociate, determinând cronizarea ultimelor.
4. **Constituția genetică a pacientului:**
 - poate modifica eficacitatea măsurilor terapeutice,
 - poate determina reacție patologică a unor indivizi la anumite medicamente,
 - determină un polimorfism în viteza de eliminare sau oxidare a unor preparate medicamentoase, sau a metaboliților care pot modifica farmacocinetica unor medicamente.
5. Unele mutații sau asocierea lor duc la **scăderea capacității organismului de a rezista la acțiunea distrugătoare a factorilor de mediu**, astfel și însănătoșirea bolnavului va fi problematică. Acțiunea genelor asupra cronizării proceselor patologice poate fi explicată prin modificarea direcționării unor procese biochimice, modificarea statusului hormonal, deficiențe ale răspunsului imun.

PARTICULARITĂȚILE BOLILOR GENETICE

Fiecare caracter ereditar este determinat de interacțiunea genotip – factorii de mediu. Gena sau genele mutante determină un fenotip patologic prin:

- sinteza anormală a unor proteine specifice (**efectul patologic primar al mutației**);
- dereglarea structurii sau funcției specifice la nivel de celulă și/sau țesut (**efectul patologic secundar al mutației**);
- manifestarea unui anumit caracter patologic sau sindrom la nivel de organism – *simptoamele bolii* (**efectul patologic terțiar al mutației**).

Bolile și sindroamele genetice se caracterizează prin determinism monogenic, poligenic, multifactorial sau apar în rezultatul anomaliilor cromozomiale. De regulă, **determinismul genetic** al bolii se stabilește odată cu formarea genotipului individului la fecundare. Astfel, afecțiunile ereditare au un șir de particularități prin care se deosebesc de cele neereditare:

- sunt produse **prenatal** și se pot manifesta **congenital sau în orice perioadă de viață**;
- **se transmit genealogic și au o agregare familială**; dar pot apărea spontan prin mutații *de novo*;
- se asociază cu **marcheri genetici** (anomalii cromozomice sau secvențe nucleotidice specifice);
- sunt **concordante la gemenii monoziгоți** și au o **distribuție populațională specifică**;
- **au evoluție cronică, progresivă și recidivantă** determinate de acțiunea permanentă a genei mutante, cu manifestare variabilă de la pacient la pacient, chiar și în cadrul aceleași familii;
- **se manifestă cu modificări patologice a mai multor organe și sisteme**, datorită efectului pleiotrop al genei mutante;
- **sunt rezistente la metodele de tratament tradiționale**.

METODELE STABILIRII NATURII GENETICE A UNEI BOLI

Pentru a stabili implicarea factorilor genetici în bolile umane și ponderea lor în producerea unei patologii se urmărește:

- **studiul transiterii genealogice** a bolii sau anomaliei și determinarea tipului de moștenire, **calcularea riscului** de manifestare sau de recurență;
- **evidențierea unor anomalii cromozomice sau mutații genice** ce ar putea fi responsabile de fenotipul patologic;

- **determinarea defectului biochimic primar** la nivel de sinteză proteică sau efectele acestuia asupra unui proces biochimic controlat de gena/proteina modificată.
- **identificarea unor marcheri genetici specifici** asociate cu fenotipul patologic;
- **calcularea indicelui de ereditate** în cadrul patologiei multifactoriale;
- **studiul distribuției populaționale** a bolilor genetice și calcularea frecvenței genelor patologice, purtătorilor heterozigoți de gene mutante.

BOLI CROMOZOMIALE

Bolile cromozomiale sunt rezultatul unor modificări specifice ale numărului cromozomilor caracteristic speciei (46 în celulele somatice umane) sau modificări structurale ale acestora. Efectele și gravitatea anomaliilor cromozomice depind de **tipul de anomalie și mărimea dezechilibrului genetic** - cu cât defectul cantitativ este mai mare, cu atât consecințele sunt mai grave.

Sindroamele cromozomice prezintă modificări fenotipice comune (tulburări de creștere pre- și postnatală; întârziere în dezvoltarea psiho-motorie și debilitate mintală; multiple anomalii viscerale, disgenezii gonadice) și modificări specifice ale cromozomului sau cromozomilor implicați.

SINDROMUL DOWN (TRISOMIA 21)

Sindromul Down este un sindrom plurimalformativ congenital cu incidența medie de 1:700 nou-născuți, dar dependentă de vârsta maternă:

- la 20 ani – 1:1500;
- la 30 ani – 1: 900;
- la 35 ani – 1: 400;
- la 40 ani – 1:100;
- la 45 ani – 1:30.

Cauza sindromului Down este trisomia 21:

- 95% - trisomia 21 omogenă liberă, având ca origine nondisjuncția meiotică;
- 5% - trisomia 21 mozaică sau translocațională.

Cariotipuri asociate în sindromul Down:

- 47, XX (XY), +21;
- 47, XX(XY), +21/ 46,XX(XY);
- 46, XX(XY), rob (21;13);
- 46, XX(XY), rob (21;14);
- 46, XX(XY), rob (21;15);
- 46, XX(XY), rob (21;21);
- 46, XX(XY), rob (21;22);
- 46, XX(XY), i(21q).

Manifestările clinice majore sunt determinate de anomalii multiple de dezvoltare:

- hipotonie generalizată;
- dismorfism cranio-facial;
- malformații cardiace;
- retard mintal și fizic;
- imunitate scăzută;
- risc crescut pentru leucemii.

Evoluție:

- în cazul de malformații severe – decesul în perioada de sugar;

- în celelalte cazuri evoluția și gradul de retardare mentală și somatică depinde de menegementul medical și social, dar longevitatea este redusă.

Riscul de recurență – depinde de forma trisomiei și variază între 1 și 100%;

Diagnosticul este bazat pe studiul cromozomilor (cariotip, FISH).

SINDROMUL PATAU (TRISOMIA 13)

Sindromul Patau este un sindrom plurimalformativ congenital cu incidența medie de 1:5000 - 7000 nou-născuți și dependentă de vârsta maternă. **Cauza:** 75% - trisomia 13 omogenă liberă, având ca origine nondisjuncția meiotică; 20% - trisomia 13 prin translocății reobertsoniene; 5% - trisomia 13 forma mozaică. **Cariotipuri asociate** în sindromul Patau:

- 47, XX (XY), +13;
- 47, XX(XY), +13/ 46,XX(XY);
- 46, XX(XY), rob (13;13);
- 46, XX(XY), rob (13;14);
- 46, XX(XY), rob (13;15);
- 46, XX(XY), rob (13;21);
- 46 ,XX(XY), rob (13;22);
- 46, XX(XY), i(13)q.

Manifestările clinice majore sunt determinate de anomalii multiple de dezvoltare:

- dismorfism cranio-facial: microcefalie, holoprosencefalie, microftalmie, despicătură labio-palatină, defecte ale scalpului;
- polidactilie;
- criptorhidie;
- malformații cardiace;
- retard mintal și fizic;
- imunitate scăzută.

Evoluția sdr Patau este determinată de prezența malformațiilor viscerale: 50% din cazuri se termină cu deces în prima lună de viață; 70% - deces înaintea vârstei de 6 luni de viață, 70% - deces înainte de 6 luni; 10% - supraviețuiesc vârstei de 1 an.

Riscul de recurență – depinde de forma trisomiei și variază între 1 și 100%.

Diagnosticul este bazat pe studiul cromozomilor (cariotip, FISH).

SINDROMUL EDWARDS (TRISOMIA 18)

Sindromul Edwards este un sindrom plurimalformativ congenital cu incidența medie de 1:3000 nou-născuți și dependentă de vârsta maternă. **Cauza** sdr Edwards este: în 89% din cazuri - trisomia 18 omogenă liberă, având ca origine nondisjuncția meiotică; 1% - duplicații ale cromozomului 18; 10% - trisomia 8 forma mozaică. **Cariotipuri asociate** în sindromul Edwards:

- 47, XX (XY), +18;
- 47, XX(XY), +13/ 46,XX(XY);
- 46,XX(XY), 18p+;
- 46,XX(XY), 18q+.

Manifestările clinice majore sunt deteminate de asocierea anomaliilor multiple de dezvoltare:

- dismorfism cranio-facial;
- stern scurtat,
- criptorhidie;
- malformații cardiace și renale;
- retard mintal și fizic;
- imunitate scăzută.

Evoluție: 30% din cazuri – deces în prima lună de viață; 10% - supraviețuiesc vârstei de 1 an cu retard sever mental și somatic. Riscul de recurență 1%. Diagnosticul este bazat pe studiul cromozomilor (cariotip, FISH).

SINDROMUL TRISOMIEI 8

Sindromul trisomiei 8 este un sindrom plurimalformativ congenital cu incidența medie de 1:5000 nou-născuți și dependentă de vârsta maternă, mai frecvent sunt afectați indivizii de sex masculin. **Cauza – trisomia 8:** 90% din cazuri sunt rezultatul unei nedisjuncții postzigotice, determinând forme mozaice ale trisomiei 8; 10% - sunt trisomii parțiale determinate de rearanjamente structurale ale cromozomului 8 (duplicații). **Cariotipuri asociate** în sindromul Patau:

- 47, XX (XY), +8;
- 47, XX(XY), +8/ 46,XX;
- 46, XX(XY), 8p+;
- 46, XX(XY), 8q+.

Manifestările clinice majore sunt determinate de asocierea anomaliilor multiple de dezvoltare:

- dismorfism cranio-facial: frunte proeminentă, strabism, epicanț, hipertelorism, palatin arcuit, despicătură palatină, buze îngroșate, urechi mari malformate;
- contracturi articulare, camptodactilia, aplazia rotulei, pliu palmar transvers unic;
- anomalii ale anusului;
- malformații cardiace și renale;
- retard mintal și fizic;
- imunitate scăzută.

Evoluție: Trisomia 8 totală este letală, iar în formele parțiale sau mozaice pacienții au longevitate scăzută. Riscul de recurență –1 %. Diagnosticul este bazat pe studiul cromozomilor (cariotip, FISH).

SINDROMUL TURNER

Sindromul Turner este un sindrom plurimalformativ congenital cu incidența medie de 1:2000 – 1 : 5000 nou-născuții de sex feminin. **Cauza :** 50% - 69% - monosomia X totală și omogenă, 30-40% - forme mozaice și restul cazurilor, mult mai rare, sunt rezultatul unor monosomii X parțiale (deleții, izocromozomi, cromozom X inelar). **Cariotipuri asociate** în sindromul Turner:

- 45,X;
- 45,X / 46,XX;
- 46, X, Xq-;
- 46, X, i(X q);
- 46, X, del(Xp);
- 46, X, r(X);

Manifestările clinice majore sunt determinate de anomalii multiple de dezvoltare:

- la nou-născut piele abundentă în exces la nivelul gâtului, *pterygium coli*, limfedem periferic localizat mai ales pe fața dorsală a piciorului;
- malformații cardiace (DSA);
- hipostatură disproporționată;
- impubertizm, amenoree primară.

Evoluție: statura finală a adulților este între 125-145 cm; inteligența și speranța de viață sunt, în general, normale; tratamentul de substituție cu hormoni estrogeni de la adolescență induce dezvoltarea caracterelor sexuale secundare și previne osteoporoza, dar nu influențează statura și infertilitatea. Riscul de recurență –1 %. Diagnosticul este bazat pe studiul cromozomilor (cariotip, FISH); testul Barr, de regulă, este negativ.

SINDROMUL KLINEFELTER

Sindromul Klinefelter este un sindrom cu infertilitate masculină, cu **incidența medie de 1:1000** nou-născuții de sex masculin; 1 : 10 din bărbații infertili; 1 : 100 din băieții din instituțiile pentru retard mental. Cauza: 85% - disomie X totală și omogene (47,XXY), 15% - forme mozaice sau polisomii X totale sau parțiale. **Cariotipuri asociate** în sindromul Klinefelter:

47, XXY
47, XXY / 46,XY
48, XXXY
48, XXYY
49,XXXXY
etc.

Manifestări clinice majore:

- Talie înaltă;
- Constituție de tip feminin;
- Ginecomastie;
- Piloziitate scăzută de tip feminin;
- Testicule mici (sub 2 cm la adult), incapabile de a secreta testosteron;
- Oligo- sau azoospermie;
- Sterilitate primară;
- Retard mental moderat.

Evoluție: Tratatamentul de substituție cu testosteron induce dezvoltarea caracterelor sexuale secundare și previne osteoporoza. De regulă, indivizii cu sindrom Klinefelter sunt infertili, dar în cazurile cu mozaicism ar putea fi fertili. Riscul de recurență – 1 %. Diagnosticul este bazat pe studiul cromozomilor (cariotip, FISH); testul Barr este pozitiv.

Alte sindroame cromozomice

Sindromul	Cauza	Manifestări clinice majore
Cri-du-chat	5p-	Sindrom plurimalformativ congenital: microcefalie, deficiență mintală, hipertelorizm, epicanț, fante palpebrale de tip antimongolian, țipăt specific datorat malformațiilor laringelui, malformații viscerale și scheletice.
Wolf-Hirschhorn	4p-	Sindrom plurimalformativ congenital: microcefalie, hipotrofie staturo-ponderală, dismorfie facială caracteristică, malformații cardiace grave, retard mental sever.
Prader - Willi	del (15)(q11-q13), crs patern	Hipotonie neonatală, dismorfie craniofacială caracteristică, obezitate, hipogonadism, retard mental moderat, tulburări de comportament.
Angelman	del (15)(q11-q13), crs matern	Microcefalie, retard mental sever, tulburări de mers și echilibru, absența vorbirii, tulburări de comportament
Williams	Del (7) (q11.23)	Dismorfie facială caracteristică, stenoză aortică, laxitate articulară, hipostatură, retard mental, dereglări psihice
Velo-cardio-facial DiGeorge	Del 22(q11.2) sau Del 10(p13)	Despicătură palatină, malformații cardiace, dismorfie facială caracteristică, hipoplazia paratiroidei și timusului.

BOLI MONOGENICE

Bolile și sindroamele monogenice sunt stările patologice determinate de mutații dominante sau recesive într-o singură genă cu efect major, ce determină o sinteză anormală a lanțului polipeptidic codificat și, prin efect pleiotrop, anomalii de structură sau funcție celulară. Acestea la rândul lor vor

determina manifestarea fenotipică cu o simptomatologie specifică genei date și diverse simptome secundare. Patologia monogenică mai este numită monofactorială datorită independenței manifestării genelor mutante de factorii de mediu. Dar, factorii de mediu pot modula expresia genică și determina o expresivitate variabilă a bolii la diferiți pacienți. O caracteristică a bolilor monogenice este transmiterea lor genealogică mendeliană cu posibilitatea calculării riscului de recurență. După tipul transmiterii bolile monogenice se clasifică în 5 categorii:

- dominante-otozomale
- dominante X-lincate;
- recesive-otozomale;
- recesive X-lincate;
- mitocondriale.

În general bolile monogenice sunt rare și pot apărea atât prin mutații moștenite cât și mutații *de novo*. În ansamblu bolile monogenice sunt numeroase (peste 9000 entități nozologice) și au implicații deosebite pe plan medical și social. Majoritatea din ele nu sunt posibil de tratat iar prevenirea lor necesită teste genetice specifice pentru diagnosticul prenatal.

**Distribuția bolilor monogenice în dependență de tipul de transmitere
conform catalogului lui Mc. Kusick**

Boli	a. 1966	a. 1975	a. 1986	a. 1994	a. 1998	a. 2012
Autozomal dominante	837	1218	2201	4458	8005	19769
Autozomal recesive	531	947	1420	1730		
X-lincate	119	171	286	412	495	1172
Y-lincate	-	-	-	19	27	59
Mitocondriale	-	-	-	59	60	64
Total	1487	2336	3907	6678	8587	21064

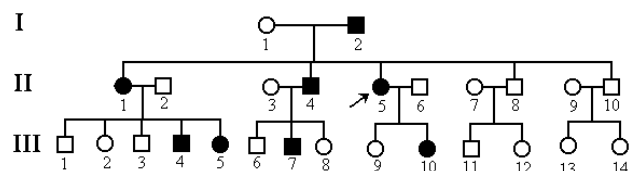
Afecțiuni cu transmitere otozomal dominantă

Principalele afecțiuni cu transmitere **otozomal dominantă** sunt:

- hipercolesterolemia familială;
- sindromul Marfan;
- coreea Huntington;
- boala polichistică renală;
- neoplazia multiplă endocrină;
- miotonia congenitală Thomsen;
- neurofibromatoza Recklinghausen;
- retinoblastomul;
- sindroamele Wiliams, Noonan și velocardiofacial;
- afecțiunile de colagen (osteogeneza imperfecta și sindromul Ehlers-Danlos).

HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIALĂ

- Este cea mai frecventă afecțiune cu transmitere otozomal-dominantă;
- are o incidență de 1 : 500;
- **etiologia:** apare ca urmare a unui defect al receptorului lipoproteinelor cu densitate joasă (LDL), determinat de mutația genei situate în locusul 19p13;
- vârsta de debut – după 30-40 ani;



- **se caracterizează prin următoarele particularități clinice:**
 - xantelasme la nivelul feței, palpebral, xantoame pe tendoanele extensorilor) tendonul lui Achile);
 - cardiopatie ischemică precoce (crize anginoase, infarct de miocard);
 - deces prematur prin cardiopatie ischemică (50% din bărbați decedează – fără tratament – până la vârsta de 60 ani);
 - valori mari ale colesterolemiei – 300-600mg/dl; LDL peste 200mg/dl;
 - anamneză familială pozitivă (alți cardiaci în familie);
- diagnostic prenatal prin analiza ADN.

SINDROMUL MARFAN

- Sindrom autozomal-dominant ce afectează țesutul conjunctiv cu expresivitate variabilă, dependentă de factorii de mediu;
- are o incidență de 1 : 10000 – 1 : 15000;
- **etiologia:** apare ca urmare a unei mutații în gena fibrilinei care este situată în locusul 15q21;
- **debutează în primii ani de viață prin:**
 - creșterea rapidă a membrilor cu aspect de arahnodactilie;
 - subluxația de cristalini, cataractă, strabism,
 - articulații laxe cu scolioză și cifoză;
 - pectus excavatum sau carinatum;
 - afecțiuni cardiace (anevrism de aortă);
- speranța medie de viață – 40-50 ani;
- diagnosticul presiptomatic se bazează pe analiza ADN.

COREEA HUNTINGTON

- Afecțiune neurovegetativă cu transmitere atozomal-dominantă ce se manifestă la indivizii de peste 30-40 ani;
- are o incidență de 1 : 18000;
- **etiologia:** apare ca urmare a unei mutații dinamice în gena ce codifică proteina huntingtina, situată în locusul 4p16.3;
- mutația produce atrofia de nucleu caudat, putamen și globus palidus;
- **manifestări clinice majore:**
 - tulburări neurologice motorii progresive (coree, distonie);
 - în timp apar tulburări de personalitate și demență;
- decesul se produce la 15-20 ani de la debutul clinic;
- agregare familială, afectează mai frecvent bărbații;
- diagnosticul presiptomatic se bazează pe analiza ADN.

ADPKD

- Boala Polichistică Renală de tip Autozomal Dominant este o afecțiune multisistemică, caracterizată prin scăderea rezistenței țesutului conjunctiv și astfel apar modificări structurale ale organelor supuse stres-ului presional: tubii nefronali, conducte biliare, perete vascular, ducte pancreatice, aparat valvular cardiac;
- are o incidență de 1 : 1000;
- **etiologia:** apare ca urmare a unui defect în gena PKD1 situată în locusul 16p13.3 (85%) sau PKD2 – din locusul 4q21-22 (15%);
- **manifestări clinice majore:**
 - dezvoltarea progresivă și difuză de chiști renali multipli, bilaterali, în toate segmentele tubilor uriniferi;
 - asocierea variabilă cu alte anomalii extrarenale (cardiovasculare, digestive) - în special chiști hepatice;
 - manifestată de obicei la adult și evoluând frecvent spre IRC;

- 6-10% din pacienții cu IRCT, admiși în dializă, au ADPKD;
- vârsta medie la care se atinge IRCT este 55 ani, dar există variații individuale;
- diagnosticul presimptomatic se bazează pe analiza ADN.

MIOTONIA CONGENITALĂ THOMSEN

- Afecțiune musculară nondistrofică cu transmitere autozomal-dominată și manifestare congenitală;
- frecvența 1:20000-50000 nou-născuți;
- **etiologia:** apare ca urmare a unui defect în gena ce codifică canalul de clor tip 1 din mușchii scheletici (localizare – 7q35);
- **manifestări clinice majore:**
 - afectarea musculară în special la nivelul centurilor scapulară și pelviană;
 - slăbiciune musculară, astenie fizică marcată;
- diagnosticul este susținut prin electromiogramă;
- diagnosticul prenatal bazat pe teste ADN.

NEUROFIBROMATOZA RECKLINGHAUSEN

- Este o afecțiune cu transmitere autozomal-dominantă cu expresivitate variabilă;
- are o incidență de 1 : 3000;
- **etiologia:** apare ca urmare a unui defect în proteina *neurofibromina* – o GTP-ază ce reglează expresia proteinelor RAS, acționând ca o proteină supresoare de tumori; gena NF1 este situată în locusul 17q11.2;
- debutul clinic în copilărie și pubertate, boala evoluează în timp;
- **manifestările clinice majore:**
 - prezența de pete “cafe au lait” cutanate ce apar încă din copilărie;
 - neurofibromatoză cutanată și subcutanată;
 - modificări ale irisului – noduli Lisch;
 - tumori benigne pe traiectul unor nervi;
 - anomalii de creștere și dezvoltare, retard mental, HTA secundară (frecvent de natură renală – displazie de arteră renală);
- copiii cu neurofibromatoză au un risc crescut pentru leucemia mielomonoclonală tipul juvenil și pentru mielodisplazie;
- testul prenatal sau presimptomatic este bazat pe analiza ADN.

RETINOBLASTOMUL

- Este cea mai frecventă tumoră intraoculară cu transmitere autozomal-dominantă, exprimată în copilărie;
- are o incidență de 1 : 18000 – 1 : 30000;
- **etiologia:** apare ca urmare a unui defect în gena RB1, localizată în 13q14.3, produsul căreia intervine în reglarea ciclului celular și a transcripției;
- **manifestări clinice majore:**
 - tumoare embrionară cu origine în celulele retinei;
 - la adulți se asociază cu alte neoplazii – sarcomul osteogenic, sarcoamele de părți moi sau melanoamele;
 - diagnostic prenatal se bazează pe testele ADN.

OSTEOGENEZA IMPERFECTĂ (TIP I – IV)

- Este o afecțiune cu transmitere autozomal-dominantă cu expresivitate variabilă ce determină o predispoziție la deformații scheletice și fracturi osoase în urma unor traumatisme minime;
- are o incidență de 1 : 10000;
- **etiologia:** apare ca urmare a unui defect în gena ce codifică pentru sinteza colagenului tip I (locus: 17q21.31-q22) sau în alte gene ce codifică lanțurile procolagenului;
- **manifestări clinice majore:**

- Tip I (Boala Lobstein) – forma ușoară;
 - fragilitate osoasă;
 - sclere albastre;
 - surditate presenilă;
- Tip II (Boala Vrolik) – forma severă, letală în perioada neonatală;
 - fracturi osoase;
 - deformații scheletice;
 - sclere de culoare închisă;
- Tip III – fracturi prezente la naștere;
 - deformații osoase progresive;
 - hipostatură;
 - sclere albastre;
 - tulburări ale dentiției;
 - surditate;
- Tip IV – deformații osoase ușoare sau moderate;
 - susceptibilitate la fracturi;
 - surditate;
 - sclere de culoare normală;
 - anomalii ale dentiției;
- diagnosticul prenatal prin teste ADN.

SINDROMUL EHLERS-DANLOS

- Reprezintă un grup de boli genetice ale țesutului conjunctiv cu transmitere autozomal-dominantă;
- are o incidență de 1 : 5000 – 1 : 50000;
- **etiologia:** apare ca urmare a unui defect în gena ce codifică colagenul tip V (2q31);
- **manifestări clinice majore:**
 - manifestări cutanate – aspectul hiperextensibil (cutix laxa); textură moale, catifelată; apariția unor escare atroifice și a echimozelor;
 - manifestări articulare – hipermobilitate articulară;
 - cifoscolioză;
 - anomalii oculare – keratoconus; sclere albastre; subluxație de cristalini; dezlipirea retinei;
 - complicații – ruptura prematură a membranelor și hemoragiile pre- sau postpartum;
 - ruperea vaselor ce reprezintă o cauză frecventă de deces;
- diagnostic prenatal pe baza testelor ADN.

AFECTIUNI CU TRANSMITERE AUTOZOMAL-RECESIVĂ

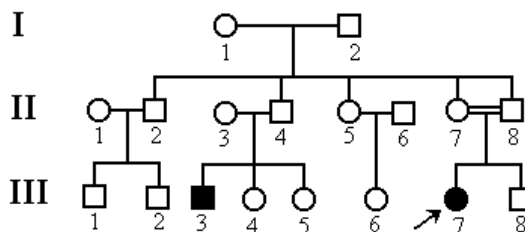
Principalele afecțiuni genetice cu transmitere **autozomal-recesivă** sunt:

- fenilcetonuria;
- fibroza chistică;
- boala Wilson;
- surditatea nonsindromică recesivă;
- hemoglobinopatiile;
- atrofia musculară spinală acută infantilă;
- atrofia musculară progresivă a copilului;
- trombastenia Glanzmann.

FENILCETONURIA

- Reprezintă o hiperfenilalaninemie severă cu transmitere autozomal-recesivă;
- are o incidență de 1 : 10000 nou-născuți;

- **etiologia:** apare ca urmare a unui defect în gena pentru fenilalaninhidroxilază (PAH), cu localizare 12q24.1;
- **manifestări clinice majore:**
 - tulburări neurologice;
 - retard somatic și mintal;
 - demență în formele netratate;
 - miros particular al urinei;
 - dermatită cronică descuamativă;
- boala se manifestă în copilărie și depinde de dietoterapie (excluderea fenilalaninei din produsele alimentare);
- diagnosticul prenatal sau neonatal prin dozarea fenilalaninei plasmatice sau analiza ADN.



FIBROZA CHISTICĂ (MUCOVISCIDOZA)

- Reprezintă o alterare a funcției exocrine cu producerea de secreții glandulare vâscoase ce conduc la afectare pulmonară cronică și insuficiență pancreatică; patologia are o transmitere autozomal-recesivă;
- are o incidență de 1 : 2500;
- **etiologia:** apare ca urmare a unui defect în gena CF (locus 7q31.2) ce codifică pentru un canal de clor la nivelul polului apical al celulelor apicale;
- **manifestări clinice majore:**
 - la nivel-pulmonar – infecții recurente cu evoluție spre insuficiență pulmonară;
 - la nivelul pancreasului – obstrucția canalelor pancreatice, deficiența enzimelor pancreatice și ca rezultat – afectarea digestiei;
 - creșterea concentrației de sodiu și clor în secrețiile sudorale;
 - tulburări gastrointestinale – ileus meconal (la 10-25% dintre noul-născuții cu FC);
 - absența congenitală bilaterală a vaselor deferente la băieți (95% de cazuri);
 - supraviețuirea medie este de 25 – 30 de ani;
 - diagnosticul prenatal prin teste de ADN.

BOALA WILSON

- reprezintă o degenerescență hepato-lenticulară cu transmitere autozomal recesivă.
- Are o incidență 1 : 100000;
- **etiologia:** apare ca urmare a unui defect în gena localizată pe crs. 13q14.3, ce determină tulburări în transportul cuprului cu scădere a capacității de încorporare a cuprului în ceruloplasmină și scăderea secreției biliare; cuprul se acumulează în ficat producând leziuni la acest nivel; se depune în creier, rinichi.;
- **manifestări clinice majore:**
 - debutează la persoanele tinere cu afectare hepatică și tulburări neurologice;
 - afecțiunea hepatică are o evoluție ciclică cu caracterul unei hepatopatii cronice (icter, astenie, inapetență) cu citoliză;
 - poate asocia anemie hemolitică;
 - manifestările neurologice – tremor fin al extremităților, coree, dizartrie, imposibilitate de a coordona mișcările;
 - manifestări psihice cu alterarea personalității (schizofrenie), scăderea performanțelor școlare la copii;
 - semn specific – prezența inelului Kayser-Fleischer.
- supraviețuirea depinde de gradul de afectare a ficatului; ciroza hepatică – cauză frecventă de deces;
- diagnosticul prenatal prin teste de ADN.

HEMOGLOBINOPATIILE

- Reprezintă un grup heterogen de patologii, cu transmitere autozomal - recesivă, determinate de diverse variante ale Hb, care induc tulburări prin afectarea structurii și funcției hematiilor;

- **etiologia:** apar ca urmare a unor mutații în două familii de gene:
 - familia alfa-globinelor localizată pe crs. 16p, formată din 4 gene funcționale (ϵ^2 , α^2 , α^1 , δ^1);
 - familia beta globinelor – pe crs. 11p, cuprinde 5 gene funcționale
- se disting diferite forme de hemoglobinopatii - hemoglobinoza S, hemoglobina C, talasemiile.

Hemoglobinoza S apare ca urmare a înlocuirii acidului glutamic din poziția 6 a lanțului β cu valina. Boala se poate manifesta la homozigoți și heterozigoți – prin anemie drepanocitară. Clinic – copiii **aa** sunt icterici, cu întârziere de creștere, dureri osoase, peste 50% au splenomegalie. Pacienții prezintă eritrocitele în formă de seceră, viscozitate sanguină, stază și risc de tromboze vasculare. Diagnosticul – pe baza datelor clinice, hematologice, electroforezei Hb, diagnosticul prenatal – analiza ADN.

Hemoglobina C apare prin înlocuirea acidului glutamic (6, lanț β) cu lizina, se caracterizează printr-o solubilitate scăzută, clinic – anemie hemolitică gravă, splenomegalie și icter cutaneo-mucos, hematologic-eritrocite “în țintă”.

Talasemiile – determinate de afectarea sintezei lanțului α sau β a Hb, ce reprezintă modificări cantitative. În dependență de defectul molecular se manifestă de la forme ușoare până la forme grave, letale de anemie. *Beta – talasemia majoră Cooley* - se manifestă precoce, în primul an de viață cu retard de creștere, paloare a tegumentelor, hepatosplenomegalie compensatorie, hiperplazia medulară, în special la nivelul oaselor feței și craniului - aspect caracteristic de “craniu în perie”, la nivelul oaselor lungi - subțiere a corticalei cu risc crescut de fractură, pacienții fac ușor infecții intercurrente. Diagnosticul clinic, hematologic, anamneza familială (părinți heterozigoți cu semne ușoare de anemie), diagnostic prenatal – teste ADN.

ATROFIA MUSCULARĂ SPINALĂ ACUTĂ INFANTILĂ

- Afecțiune gravă, ce se manifestă precoce prin hipotonie musculară, rețracția spațiului intercostal în timpul inspirației, tuse ineficiente, areflectivitate, cu transmitere autozomal-recesivă;
- **etiologia:** apare ca urmare a unui defect în gena localizată pe crs. 5q13.2;
- moartea survine în primii doi ani de viață;
- diagnosticul pe baza biopsiei musculare și electromiogramei;
- diagnosticul prenatal – pe baza testelor ADN.

AFECȚIUNI CU TRANSMITERE RECESIVĂ X – LINCATĂ

DISTROFIA MUSCULARĂ DUCHENNE (DMD) – afecțiune cu debut în prima copilărie, de obicei sub vârsta de 5 ani, cu afectarea mușchilor centurilor, se asociază cu retard mental. Criteriile de diagnostic sunt dozarea creatinkinazei (crescută), electrocardiograma și biopsia musculară.

DISTROFIA MUSCULARĂ BECKER (DMB) – afecțiune cu debut în a doua copilărie, fiind asemănătoare simptomatologic cu DMD, dar cu o supraviețuire mai mare și fără retard mental.

DMD și DMB se transmit XR, gena afectată fiind localizată pe brațul p (Xp21). Proteina codificată de această genă se numește *distrofina*: face parte din clasa spectrinei (din citoscheletul celular).

Studiile electroforetice *in vitro* pe biopsiile musculare de la pacienții cu DMB au arătat o diminuare a conductanței clorului sarcolemal. Repausul în conductanța clorului pentru fibra musculară sintetică contribuie la repolarizarea potențialelor de acțiune în țesutul dat, iar reproducerea lor conduce la instabilitate electrică.

Astfel, genele canalelor de clor din fibra musculară par a fi cele mai indicate în explicarea acestor modificări.

Fiind o maladie XR, se manifestă în special la băieți, mama fiind purtătoare de genă patogenă. În astfel de cazuri diagnosticul prenatal se poate face prin detectarea genei mutante în vilozitățile coriale, folosind RFLP intra- și extragenic.

HEMOFILIIILE A ȘI B

Hemofiliile A și B sunt afecțiuni XR; genele mutante responsabile sunt localizate pe brațul lung (Xq28), având ca urmare deficitul factorilor VIII și respectiv IX, componente ale căii intrinseci a coagulării.

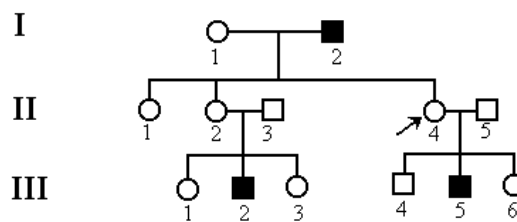
Boala afectează 1 din 5000 de băieți.

Hemofilia A este de 10 ori mai frecventă ca hemofilia B.

Aspectul clinic al hemofiliei A depinde de gradul de activitate a factorului VIII și se exprimă în 4 forme:

Forma	Concentrația factorului VIII	Manifestări clinice
Severă	< 1%	Sîngerare spontană și după circumcizie. Hemartroze repetate. Deformări articulare.
Moderată	1-5%	Hemartroze ocazionale. Deformări articulare rare.
Ușoară	5-20%	Sîngerare rară: după intervenții chirurgicale, stomatologice, după traumatisme.
Ascunsă	>25%	Se includ și purtătoarele genei patologice.

Diagnosticul prenatal al hemofiliilor se bazează pe stabilirea sexului, analiza ADN în vilozitățile coriale și dozarea factorului VIII sau IX în sângele fetal.



PROFILAXIA BOLILOR EREDITARE

Profilaxia primară constă în evitarea concepției sau nașterii copilului cu anomalie gravă, incurabilă prin diverse măsuri ce țintesc:

- micșorarea procesului mutațional;
- limitarea concepției în cazurile cu risc 100% sau întreruperea sarcinii după diagnosticul prenatal;
- diagnosticul preimplantiv cu selecția produșilor de concepție mutați în cazurile de fertilizare *in vitro*;
- terapie genică germinală sau somatică cu revenirea la genotip normal.

Profilaxia secundară cuprinde o serie de intervenții pentru prevenirea / atenuarea manifestării complicațiilor la indivizii cu mutații patologice:

- măsuri terapeutice perinatale și în timpul sarcinii;
- diagnosticul preclinic cu aplicarea terapiei de prevenire a complicațiilor;
- excluderea factorilor ce pot provoca apariția bolilor cu predispoziție genetică;
- terapie de substituție / dietoterapie / transplant de țesut pentru fiecare caz în particular.

Profilaxia eficientă poate fi relizată în cadrul unui centru specializat de consult genetic.

Diagnosticul prenatal cu scop de prevenire a bolilor genetice sau AC grave are ca scop depistarea anomaliilor congenitale sau a bolilor genetice la embrion sau făt. Se realizează în cazurile de sarcini cu risc teratogen sau genetic (anamneză familială sugestivă) și poate fi ca metodă de screening populațional.

Diagnosticul prenatal necesită respectarea principiului de siguranță și precizie și se poate realiza numai în cadrul unui centru specializat de consult genetic.

Strategii de terapie a bolilor genetice

Pentru atenuarea consecințelor patologice a unor mutații se aplică diverse strategii de tratament simptomatic, corecție a tulburărilor metabolice, ce acționează asupra proteinei deficitare, transplante

de organe, terapii celulare. **Terapia genică** are ca scop **corecția cauzei bolii – mutației genice**. Terapia genică reprezintă modificarea genetică a celulelor afectate prin substituția genei mutante amorfe cu o genă normală sau inhibarea unei gene patologice sau ARNm mutant. Terapia genică poate fi realizată la nivelul celulelor somatice sau celulelor germinale (interzis). Boli candidate pentru terapia genică sunt:

- **Deficiența ADA – SIDC** (deficiența de adenozindezaminază implicată în sindromul imunodeficienței combinate);
- **Hemofilia B;**
- **Fibroza chistică;**
- **FH** (hipercolesterolemia familială);
- **Cancerul.**

SFATUL GENETIC

Sfatul genetic este actul medical specializat și complex prin care se determină probabilitatea (riscul) ca o boală ereditară sau parțial ereditară să se manifeste sau să reapară într-o familie. Sfatul genetic este atribuția medicului genetician și se acordă la solicitarea persoanelor interesate, deoarece prin calcularea riscului și stabilirea conduitei ulterioare, sfatul genetic are rol important în profilaxia bolilor genetice. După calcularea riscului de recurență și comunicarea acestuia, trebuie avută în vedere posibilitatea efectuării diagnosticului prenatal, precum și întreruperea sarcinii când se consideră că riscul este prea mare.

Necesitatea actuală a sfatului genetic este determinată de **2 condiții**:

1. Diferitele substanțe poluante din mediul urban, precum și iradierea accidentală, profesională sau diagnostică în timpul sarcinii pot duce la apariția de mutații și deci a bolilor genetice. Datorită creșterii frecvenței bolilor genetice, cresc și morbiditatea, mortalitatea și mortalitatea infantilă prin boli genetice.
2. Datorită intervenției medicinei moderne persoanele cu boli genetice pot supraviețui până la vârsta de adult și deci pot transmite boala genetică la descendenți.

Ideal, sfatul genetic ar trebui solicitat în următoarele situații:

*** Premarital:**

1. Unul sau ambii parteneri au anomalii congenitale sau boli genetice;
2. Parteneri sănătoși, dar unul sau ambii au rude apropiate cu boli genetice (frați, părinți, bunici, unchi-mătușă, verișor);
3. Parteneri sănătoși, dar doresc o căsătorie consangvină;
4. Persoane expuse accidental, profesional sau terapeutic la agenți teratogeni sau mutageni;
5. Cupluri care se căsătoresc târziu sau planifică să aibă copii la mai mult de 35 ani;

*** Postmarital (cele mai frecvente solicitări):**

1. Nașterea unui copil malformat sau cu o boală genetică;
2. Cupluri cu copii născuți morți sau avorturi spontane repetate;
3. Femei care necesită:
 - a. doze mari de medicamente care pot afecta dezvoltarea fătului;
 - b. femei care au avut boli infecțioase virale (rubeolă);
 - c. radiografii pe micul bazin, vaccinări.

Sfatul genetic se acordă în centre specializate de genetică medicală, de către o echipă complexă de specialiști (genetician, obstetrician, pediatru, chirurg pediatru, endocrinolog etc). Centrul trebuie să fie dotat cu un laborator bine utilat pentru a efectua investigațiile necesare unui diagnostic corect și complet.

Metodologia sfatului genetic

- ◆ **Stabilirea diagnosticului** precis clinic și paraclinic (date biochimice, radiografii, ecografie, ECG, EEG etc) ;
- ◆ **Stabilirea autenticității filiației și a caracterului genetic** al bolii prin:

- ◇ Ancheta familială, care va încerca atât depistarea bolnavilor, cât și a purtătorilor de genă anormală pe baza analizei arborelui genealogic;
- ◇ Explorări genetice (măsurători antropometrice, cromatină sexuală, cariotip, Southern blot, PCR etc).
- ◆ **Cunoașterea datelor din literatura** de specialitate, mai ales frecvența de apariție a bolii în populația respectivă.
- ◆ **Calcularea riscului de recurență** presupune folosirea unor noțiuni de calcul al probabilităților.

Tipuri de risc:

a. Total 100% în:

- Boli monogenice: - bolnav + bolnav în anomalii recesive;
- Boli cromozomice: - translocatii reciproce echilibrate între cromozomi omologi

b. Foarte mare 50-75% în:

- Boli monogenice: - bolnav + sănătos heterozigot în anomalii recesive (50%);
- bolnav + bolnav în boli dominante autozomale cu penetranță completă (75%);
- bolnav + sănătos în boli dominante autozomale cu penetranță completă (50%);

c. Mare - 25% - în boli monogenice: - heterozigot + heterozigot în anomalii recesive;

d. Moderat 10 - 25% în:

- Boli monogenice: - boli dominante cu penetranță redusă;
- Boli poligenice: - în situația când există mai multe persoane afectate în familie;
- Boli cromozomice: - translocatii între cromozomi diferiți;

e. Mic, mai puțin de 5% în:

- Boli poligenice: - în situația când există o singură persoană afectată în familie;
- malformații;

Risc 0% nu există. Riscul minim este de 3,2% .

Acordarea sfatului genetic

Sfatul genetic trebuie să precizeze:

- a. Natura și consecințele bolii;
- b. Riscul de recurență;
- c. Mijloacele de modificare a consecințelor;
- d. Mijloacele de prevenire a recurenței (diagnostic prenatal, sfat).

Răspunsul celui care dă sfat genetic trebuie să fie explicit, obiectiv, personalizat în funcție de pacient, modulat după contextul psihologic creat de gravitatea handicapului, vârsta de procreere, vârsta sarcinii, prezența altor copii normali sau anormali, echilibrul psihologic al cuplului.

Medicul trebuie să informeze, nu să decidă.

Latura psihologică a sfatului genetic este deosebit de importantă.

După acordarea sfatului genetic pot fi stabilite **măsurile de îngrijire ulterioară:**

- a. Trimitere la specialiști corespunzători, agenții de sănătate, grupuri de susținere;
- b. Continuarea evaluării clinice dacă este indicată;
- c. Continuarea susținerii prin sfat genetic dacă este indicată.

În boli monogenice calcularea riscului de recurență se face pe baza legilor eredității (gene mutante cu efecte majore ce se transmit dominant sau recesiv, autozomal sau gonosomal).

În boli poligenice se calculează "riscul empiric", stabilit pe baza studiilor populaționale.

În boli cromozomice în aprecierea riscului de recurență trebuie ținut cont de mecanismul de producere (nedisjuncție, translocație între cromozomi omologi sau neomologi etc). (Vezi Cap. Anomalii cromozomice).

APARIȚIA UNOR COPII BOLNAVI DIN PĂRINȚI SĂNĂTOȘI

Apariția unor copii bolnavi din părinți sănătoși determină adesea o adevărată dramă familială fiind o situație frecventă ce implică sfat genetic în practica obișnuită a geneticii medicale. Cauzele acestui eveniment nedorit pot fi foarte diverse și explică riscul diferit de recurență în diferite familii.

1. Boli recesive autozomale sau gonosomale cu părinți sănătoși, dar purtători (risc 25 % sau 50 %). Se întâlnește întâmplător, dar mai frecvent în legăturile consanguine.
2. Boli dominante cu penetranță incompletă (dominanță neregulată) în care unul din părinți este heterozigot nemanifest (risc variabil 20 - 30 %).
3. Boli recesive cu heterogenitate genetică (gene diferite determină același aspect fenotipic). Ex: surditatea congenitală (surdomutitatea), retinită pigmentară etc. Riscul este de 50 % iar transmiterea mimează o transmitere dominantă neregulată.
4. Anomalii poligenice în care părinții sunt sănătoși, dar copilul moștenește un număr de gene de risc ce depășește pragul. Riscul variabil este de 4 - 10 % .
5. Mutație nouă. Riscul este variabil de la neglijabil până la foarte mare în funcție de existența acțiunii factorului mutagen.
6. Factorii de mediu teratogeni (medicamente, substanțe chimice, infecții) pot determina anomalii (malformații) neereditare dar cu manifestare congenitală. Riscul poate fi neglijabil în cazul în care se elimină agenții teratogeni.

ROLUL CONSANGVINITĂȚII ÎN TRANSMITEREA RECESIVA

Consangvinitatea (căsătorie între rude de sânge) crește riscul întâlnirii a doi părinți sănătoși dar purtători ai unei gene recesive anormale și duce la apariția unor copii bolnavi de boli recesive. Acest lucru se explică deoarece într-o familie în care există o persoană cu o anomalie recesivă, frecvența heterozigoților pentru această genă anormală este mult mai mare decât în populația generală datorită fondului genetic comun al persoanelor înrudite.

În bolile recesive este important a se calcula:

◆ COEFICIENTUL DE ÎNRUDIRE:

- * reprezintă probabilitatea a doi indivizi de a prezenta o anumită gena moștenită de la un strămoș comun;
- * coeficientul de înrudire se notează cu r;
- * el se calculează folosind următoarea formulă:

$$r = \left[\frac{1}{2} \right]^{(n1+n2+1)}$$

r = coeficient de înrudire;

n1 = numărul de generații situate între unul dintre cei doi indivizi și strămoșul comun;

n2 = numărul de generații situate între al doilea individ și strămoșul comun.

- * exemple de coeficienți de înrudire:

- ◇ - rude de gr. I - părinți/copii; frate (soră)/frate (soră) - au r = 1/2
- ◇ - rude de gr. II - bunici, mătuși, unchi - au r = 1/4
- ◇ - rude de gr. III - veri primari - au r = 1/8.

◆ COEFICIENTUL DE CONSANGVINITATE:

- * Coeficientul de consangvinitate se calculează pentru indivizii rezultați în urma căsătoriei a două persoane înrudite.

- * Coeficientul de consangvinitate al unui individ este probabilitatea acestuia de a prezenta pentru un locus dat din genomul său două gene alele identice moștenite de la un strămoș comun.
- * Coeficientul de consangvinitate se notează cu F
- * Coeficientul de consangvinitate se poate calcula prin două formule:
 - ◇ în cazul în care membrii cuplului consanguin prezintă un singur cuplu de strămoși comuni:

$$F = 2 \times r \times \frac{1}{4}$$

- ⇒ F = coeficient de consangvinitate;
- ⇒ r = coeficient de înrudire.

- ◇ în cazul în care membrii cuplului consanguin prezintă mai multe cupluri de strămoși comuni:

$$F = \sum \left[\frac{1}{2} \right]^{(n-1)}$$

- ⇒ F = coeficient de consangvinitate;
- ⇒ n = numărul de indivizi prezenți într-o buclă care începe la nivelul unui strămoș comun, merge pe linie descendentă până la copilul rezultat în urma unei căsătorii consanguine, trecând pe la unul dintre membrii acestui cuplu consanguin și se întoarce pe linie ascendentă până la același strămoș comun, trecând pe la al doilea membru al cuplului consanguin.

NOTĂ:

n se calculează pentru toți strămoșii comuni

- * De obicei cu cât o boală recesivă este mai rară cu atât consangvinitatea la părinți este mai frecventă.

TESTAREA GENETICĂ

Testarea genetică este o metodă de studiu ce identifică genotipurile asociate cu o anumită afecțiune sau predispoziție la boală sau care pot duce la apariția unor boli la descendenți. Scopul testării genetice constă în identificarea următoarelor categorii:

- Persoane afectate (cât mai precoce pentru o cât mai promptă intervenție terapeutică);
- Purtători sănătoși heterozigoți (pentru afecțiuni recesive);
- Purtători sănătoși de genă mutantă dominantă (pentru afecțiuni dominante cu debut tardiv);
- Persoane cu predispoziție genetică pentru boli cu determinism multifactorial.

În dependență de caz, scopul final al acestei identificări este alegerea unei opțiuni reproductive optime sau acolo unde este posibil un tratament precoce. Testarea genetică este parte componentă a screeningului neonatal, populațional sau familial.

Screening-ul neonatal

Reprezintă programul de depistare presimptomatică și de prevenire a unor boli genetice. Are drept scop depistarea nou-născuților cu anumite boli genetice nemanifestate la naștere, boli a căror evoluție poate fi controlată și eventual oprită prin terapie adecvată și inițiată precoce. Constituie o strategie eficientă de sănătate publică, aplicabilă pentru unele afecțiuni tratabile precum fenilcetonuria, hipotiroidismul congenital și galactozemia.

Pentru alte tipuri de afecțiuni, programele de screening variază de la o țară la alta, în funcție de prevalența afecțiunilor ce pot beneficia de ameliorări terapeutice prin depistare precoce: mucoviscidoza (frecventă în Europa), anemia falciformă (frecventă la afro - americani), maladia Tay Sacks (frecventă la evreii ashkenazi); thalasemia (frecventă la populația circum - mediteraniană); depistate neonatal, acestor afecțiuni li se poate influența evoluția, depistarea lor putând constitui factor de decizie pentru sarcinile ulterioare.

Există deja protocoale specifice pentru o serie de afecțiuni:

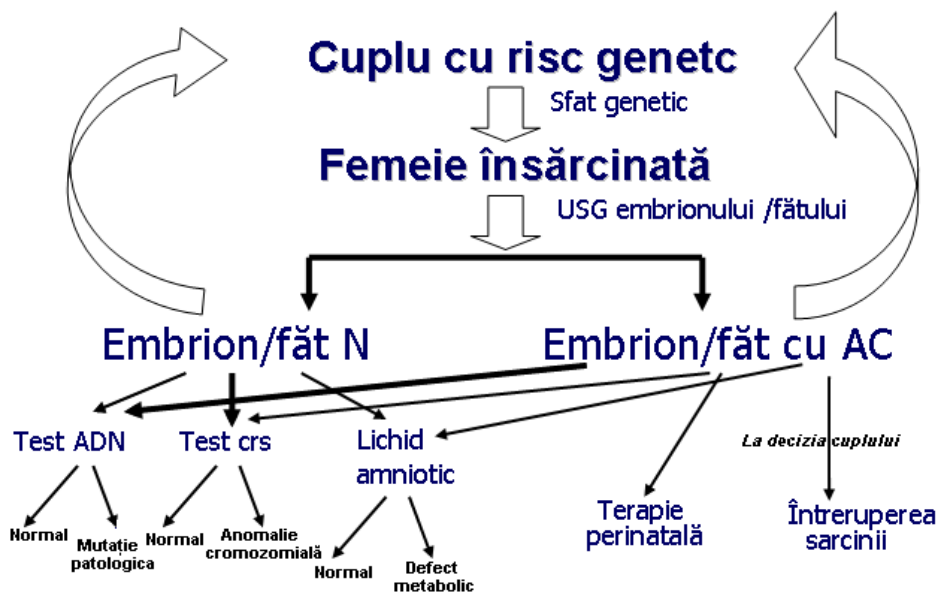
Screening-ul pentru fenilcetonurie, aplicabil nou-născuților, se realizează prin testarea nivelului fenilalaninei în ser în primele 4-5 zile după naștere, sensibilitatea testului fiind de 98%, iar specificitatea practic de 100%.

Screening-ul neonatal în hipotiroidia congenitală se bazează pe: detectarea imunologică a hormonilor tiroideni sanguini care prezintă valori scăzute; testele moleculare de screening neonatal și de depistare a heterozigoților sunt cel mai frecvent aplicate.

Efectuarea screening-ului neonatal la anemia falciformă în zonele afectate cu predilecție se realizează pe baza tabloului hematologic și prin diagnostic ADN.

DIAGNOSTICUL PRENATAL

Este necesar în cazul sarcinilor cu risc crescut, identificate prin screening sau în urma consilierii genetice a cuplurilor parentale cu risc. Un diagnostic prenatal complet va impune consultări interdisciplinare (obstetrician, pediatru, genetician, neonatolog etc.).



Deși diagnosticul prenatal constituie o sursă de disconfort pentru mamă și chiar o sursă de risc vital pentru făt, acesta rămâne un instrument predictiv extrem de eficient în epidemiologia bolilor genetice, permițând în unele situații evitarea nașterii unui copil malformat.

Existând riscurile citate mai sus, efectuarea diagnosticului prenatal impune îndeplinirea unor criterii clar definite:

- severitatea malformației: neîndoielnică în cazul prezumpției de sindrom Down (sau alte anomalii trisomice), defecte de tub neural deschis sau boli metabolice neurodegenerative, decizia rămâne discutabilă în alte situații (defecte ale membrilor, despicătură labio- maxilo – palatină), în care intelectul și durata de viață pot rămâne neafectate; zona geografică poate fi decisivă pentru unele afecțiuni, impactul malformației fiind diferit receptat în funcție de particularitățile socio-culturale zonale;

- existența unui tratament satisfăcător: astfel, fenilcetonuria poate rămâne fără consecințe neuropsihice în țările în care există posibilitatea detecției prenatale prin analiza moleculară și a unei diete specifice corespunzătoare, în timp ce galactozemia afectează sever ficatul în majoritatea cazurilor;
- acceptarea prealabilă de principiu a întreruperii sarcinii de către cuplu și comunitate ca sancțiune terapeutică în cazul confirmării unei malformații grave;
- existența unui test diagnostic prenatal cu dezabilitate satisfăcătoare; stabilirea existenței unui risc genetic semnificativ la consilierea genetică prealabilă sarcinii.

Metoda utilizată poate varia în funcție de vârsta sarcinii și tipul afecțiunii implicate (boala cromozomică, monogenică sau alt tip de anomalie congenitală). Pot fi necesare atât metode invazive care comportă risc abortiv (caz în care acordul ambilor părinți este obligatoriu).

Indicațiile pentru diagnostic prenatal:

- *vârsta maternă gestațională peste 35 de ani* (risc de nondisjunctie cromozomică meiotică-gameți anormali);
- *istoric familial pozitiv* (defecte de tub neural, boli cromozomice, boli monogenice depistabile prin diagnostic enzimatic/ ADN, anomalii morfologice congenitale);
- *sarcini anterioare cu anomalii cromozomice;*
- *teste screening pozitive sugestive;*
- *un părinte cu anomalie cromozomică echilibrată cunoscută;*
- *expunere la agenți teratogeni cunoscuți în cursul sarcinii* (în special în trimestrul I);
- *boli cronice materne cu posibil impact asupra fătului* (prin deficiențele funcționale organice sau prin medicația folosită).

Diagnosticul prenatal cuprinde atât metode noninvazive, cât și metode invazive, acestea din urmă având însă risc abortiv.

METODE NONINVAZIVE

Echografia are ca scop identificarea unor anomalii fetale structurale: defecte de tub neural, malformații congenitale de cord, anomalii scheletice, renale etc.

Detecția celulelor fetale în circulația maternă, metodă la limita dintre cercetare și practica medicală, se bazează pe apariția în sângele matern a anticorpilor față de celulele trofoblastice sau sanguine (trombocite, leucocite) încă din primul trimestru de sarcină. Metodologia poate fi utilă atât în determinarea sexului produsului de concepție (important în transmiterea bolilor legate de cromozomul X), dar și în boli monogenice cu transmitere autozomală precum și în anomalii cromozomice de tip aneuploidie. Poate fi utilizată ca test screening în grupuri țintă speciale cu risc crescut.

Detecția ADN-ului fetal în plasma maternă – acest ADN, provenind din apoptoza celulelor fetale, ar fi în cantitate mai mare decât cel izolat din celulele fetale și în consecință, mai ușor de detectat.

METODE INVAZIVE SUB CONTROL IMAGISTIC

Fetoscopia - efectuată în săptămânile 17-20 de sarcină permite vizualizarea endoscopică a fătului, recoltarea de sânge ombilical din cordon, biopsia tegumentară (în suspiciunea de epidermoliză buloasă, ichtioza, hiperketatoză, în afara acestor facilități diagnostice, metoda permite și proceduri terapeutice precum transfuzia sanguină în vena ombilicală în caz de necesitate. Prezintă însă risc semnificativ (5-10%) de avort spontan, naștere prematură, pierdere de lichid amniotic, infectare de lichid amniotic.

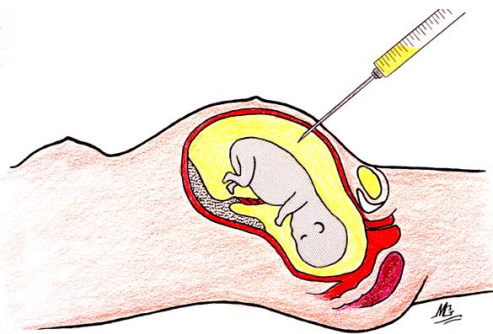
Cordonocenteza prin PUBS (percutaneous umbilical blood sampling) constă în puncționarea transabdominală echoghidată a cordonului ombilical încă din săptămâna 17 de gestație. Se practică în următoarele situații:

- boli cromozomice ce necesită o analiză cromozomică rapidă (prin amniocenteza sunt necesare culturi celulare, ceea ce întârzie diagnosticul);

- boli monogenice caracterizate prin sinteza de proteine anormale specifice: hemoglobinopatii (tip talasemie), hemofilie;
- suspiciune de infecție fetală (în caz de infecție maternă virală – rubeolă, virus citomegalic – sau bacteriană);
- incompatibilitate de grup sanguin (în cazul confirmării fiind posibilă transfuzia sau exsanguinotransfuzia „în utero”);
- deficite imunologice.

Riscul de avort spontan și naștere prematură este mai redus în cazul fetoscopiei, deși rămâne semnificativ (aproximativ 2% deoarece se practică cu ac subțire, motiv pentru care această metodă tinde să înlocuiască fetoscopia.

Amniocenteza - constă în aspirarea transabdominală de lichid amniotic sub ghidaj echografic. Permite efectuarea de cariotip (rezultat tardiv însă, deoarece implică culturi celulare), analiza ADN,



determinări biochimice. Celulele amniotice prelevate permit studierea cromozomilor (cariotipului) pentru identificarea rearanjamentelor structurale, a mozaicurilor și a aneuploidiilor, cu interpretare viciabilă însă prin contaminarea cu celule materne sau, în cazul sarcinilor gemelare, prin confuzie cu celulele celuilalt făt, datorită punțării din greșeală a sacului amniotic al acestuia. Alte surse de eroare țin de tehnică sau de prezența mozaicurilor cromozomice, linia anormală ținând, în acest din urmă caz, nu de celulele fetale ci de cele extraembrionare. În plus, prelevarea de celule amniotice face

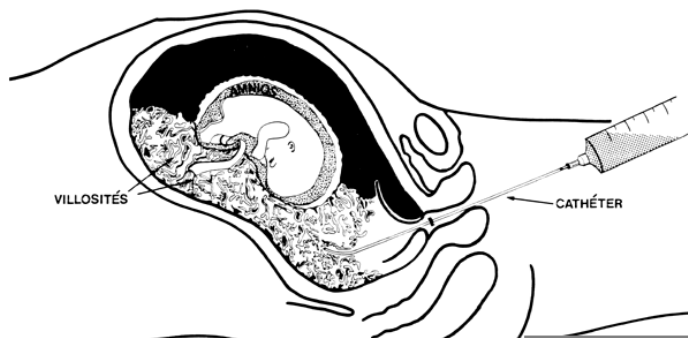
posibil studiul ADN, necesar în unele boli genice, cum ar fi: fibroza chistică de pancreas, hemofilia, distrofia musculară Duchenne, sindromul X fragil, rinichiul polichistic etc. Din lichidul amniotic se pot face analize biochimice în vederea identificării de proteine anormale caracteristice unor enzimepatii (fenilketonuria, tirozinemia galactozemia, polizaharidozele etc.).

Riscurile fetale ale amniocentezei sunt reprezentate de:

- avort – 1% (în caz de manevre repetate poate atinge 10%);
- chorioamniotită;
- pierderi de lichid amniotic.

Riscurile materne nu sunt neglijabile:

- hemoragii vaginale;
- izoimunizare Rh.



Puncția vilozităților choriale (CVS) - placenta primitivă (corionul) derivând din blastocist ca și embrionul, puncția vilozităților choriale efectuată în săptămânile 9-11 de sarcină, (niciodată mai devreme) sub control ecografic, transabdominal sau transcervical, permite, prin studierea biopunctatului obținut, diagnosticul în caz de:

boli cromozomice – prin metoda FISH (pe celule interfazice, identificându-se eventuale mozaicuri cromozomice, precum și aneuploidii ce interesează cromozomii 13, 18, 21, X, Y) sau prin PCR pentru identificarea unor markeri specifici cromozomici.

- boli moleculare prin analiza ADN-ului ce permite fie detecția directă a mutației (distrofia amiotrofică, mucoviscidoza, sindromul X fragil, sicklemya), fie detecția indirectă (prin analiza de înlănțuire – în hemofilie), fie combinarea ambelor metode (neurofibromatoza, coreea Huntingron, distrofia musculară Duchenne, cancerul mamar familial, hemocromatoza).

Avantajele metodei:

- diagnostic precoce (trimestrul I de sarcină);

- decelarea (în 1-3% din cazuri) de mozaicuri cromozomice adevărate (dar celulele fetale pot fi contaminate cu celulele maternelor ceea ce pretează la confuzii; în plus, pot exista alte fapte derutante); se impune monitorizarea sarcinii și efectuarea cariotipului din celulele fetale obținute prin amniocenteză și cordono-centeză.

Riscurile constau în:

- avort (risc superior amniocentezei);
- anomalii ale membrilor (de aceea metoda este interzisă înainte de săptămâna a 9-a de gestație);
- pierderi de lichid amniotic,
- sângerări vaginale.

Placentocenteza transabdominală - este un echivalent al puncției vilozităților coriale, utilă în trimestrele II și III de sarcină în caz de oligohidramnios, când celelalte metode (amniocenteza, cordiocenteza, PUBS) sunt practic contraindicate. Puncția vilozităților coriale având indicații asemănătoare amniocentezei (dar un termen diferit), s-ar impune o contrapondere amniocenteză versus CVS.

PROBLEME ETICE ÎN TESTAREA GENETICĂ

Testarea genetică este una din cele mai importante aplicații ale cunoștințelor obținute din Proiectul Genomului Uman și reprezintă analiza ADN-ului, cromozomilor, proteinelor și a unor metaboliți umani pentru detectarea bolilor transmise ereditar, mutațiilor, identificarea purtătorilor, stabilirea diagnosticului sau prognosticului prenatal și clinic, monitorizarea și screeningul prenatal și al nou-născuților.

Principiile eticii identificate de Comitetul de Apreciere a Riscului Genetic din USA. (Committee on Assessing Genetic Risks) se referă la dreptul la autonomie, intimitate, confidențialitate și echitate.

Pe baza acestor principii, Comitetul a emis următoarele recomandări:

- Screeningul nou-născuților nu poate fi avizat fără dovada necesității lui pentru detecția și tratamentul efectiv al bolilor specifice.
- Testarea copiilor se face numai în cazul bolilor pentru care există și este necesar tratament curativ sau preventiv.
- Confidențialitatea poate fi elucidată, prin dezvăluirea diagnosticului la rude, numai când ne așteptăm la lipsa unei dezvăluiri voluntare și numai în situațiile când există o înaltă probabilitate de afectare ireversibilă sau/și fatală a rudelor în lipsa acestei dezvăluiri
- Falsa paternitate poate fi relevată exclusiv mamei (nu și partenerului acesteia).
- Informația genetică, privitoare la statusul de purtător al solicitantului / consultantului nu poate fi dezvăluită partenerului fără consimțământul consultantului.
- Legislația ar trebui astfel adoptată încât riscurile genetice să nu fie luate în considerare la luarea deciziei de asigurare medicală sau privind costul acesteia.
- Legislația ar trebui astfel adoptată încât informația genetică să nu poată fi accesată de către angajatorul prospectiv sau existent, decât în cazul în care poate influența exercitarea atribuțiilor profesionale.