

**Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”**

**Catedra Biologie moleculară și Genetică umană**

**Curs**

# **Genetica umană**

**I**

**Chișinău, 2012**

## Cuprinsul

CURS 1.....	3
GENETICA UMANĂ – ȘTIINȚĂ FUNDAMENTALĂ ȘI MEDICALĂ.....	3
CURS 2.....	7
APARATUL GENETIC AL CELULEI UMANE .....	7
CARACTERISTICA GENOMULUI UMAN .....	12
CURS 3.....	17
VARIABILITATEA ȘI FORMELE EI.....	17
(A) VARIABILITATEA NEEREDITARĂ .....	18
(B) VARIABILITATEA EREDITARĂ SAU GENOTIPICĂ.....	19
CURS 4.....	21
CROMOZOMII UMANI .....	21
(B) CLASIFICAREA CROMOZOMILOR UMANI.....	26
STUDIUL CROMOZOMILOR UMANI.....	28
NOMENCLATURA CROMOZOMILOR UMANI .....	32
CURS 5.....	36
ANOMALII CROMOZOMICE.....	36
ANOMALIILE CROMOZOMICE DE STRUCTURĂ .....	36
ANOMALIILE CROMOZOMICE NUMERICE .....	40
CURS 5.....	47
TRANSMITEREA MATERIALULUI GENETIC DE LA CELULĂ LA CELULĂ.....	47
ERORILE MITOZEI.....	50
CURS 6.....	55
TRANSMITEREA INFORMAȚIEI GENETICE DE LA PĂRINȚI LA COPII.....	55
GAMETOGENEZA .....	55
DINAMICA CROMOZOMILOR ÎN MEIOZĂ .....	57
ERORILE MEIOZEI ȘI CONSECINȚELE LOR.....	60

# CURS 1

## GENETICA UMANĂ – ȘTIINȚĂ FUNDAMENTALĂ ȘI MEDICALĂ

Genetica este o știință biologică fundamentală, cu ritm rapid de dezvoltare, ce studiază proprietățile universale ale vieții – ereditatea, variabilitatea și substratul lor material – moleculele de ADN. În conceptul actual, organismul viu este un sistem deschis, ce se autoreglează și se autoreproduce. Activitatea vitală este susținută de schimbul permanent de energie, substanțe și informație. Particularitățile organizării și funcționării sistemelor biologice, căile de transformare a substanțelor și energiei sunt controlate de informația ce se conține în gene. Descifrarea informației genetice se realizează în procesul de biosinteză a diverse proteine, care reprezintă suportul tuturor proceselor vitale ale organismului.

**Ereditatea** este proprietatea organismului de a păstra și a transmite caracterele morfologice, fiziologice, biochimice și de comportament generațiilor următoare. Ereditatea este asigurată de proprietatea moleculelor de ADN de a se replica cu mare exactitate și a determina transmiterea de-a lungul miilor și milioanele de generații a informației și, deci, a caracterelor. Astfel, în realitate, nu caracterele se păstrează și se transmit, ci informația genetică despre ele, codificată în ADN. Ereditatea face posibilă conservarea speciilor în spațiu și timp.

**Variabilitatea** este proprietatea organismului de a prezenta caractere deosebite de cele ale părinților, asigurând diferențe individuale, intrafamiliale și intrapopulaționale. Sursele principale ale variabilității sunt diferite modificări ale materialului ereditar (**mutațiile**) care apar în rezultatul erorilor de replicare sau acțiunii diferitor factori mutageni fizici, chimici sau biologici. O altă sursă de variabilitate, este capacitatea moleculelor de ADN de a se recombină și, ca rezultat, apar combinații noi de gene și, respectiv, de caractere. Totodată, diverși factori ai mediului (intern și extern) pot modula activitatea genelor, asigurând răspunsul organismului în condiții concrete. Apariția la descendenți a caracterelor noi este importantă din punct de vedere evolutiv, asigurând adaptarea indivizilor la condițiile noi ale vieții. Transmiterea caracterelor evaluante la descendenți determină dezvoltarea speciei în timp.

Substratul eredității și variabilității la majoritatea organismelor vii este molecula de ADN (ca excepție, la unii viruși materialul genetic este reprezentat de molecule de ARN). Structura moleculelor de ADN, proprietățile, structura și funcția genelor, mecanismele moleculare ale reglării activității genice reprezintă obiectul de studiu al geneticii contemporane. Permanent sunt elaborate metode noi de cercetare, identificate gene noi, stabilite legități noi ce permit de a pătrunde mai profund în tainele vieții.

Genetica oferă o înțelegere științifică a proceselor biologice ce stau la baza activității vitale normale a organismului, cât și a dereglărilor în diverse stări patologice. Toate științele despre om integrează realizările geneticii, fapt confirmat prin compartimentele geneticii care s-au transformat în discipline independente:

- Genetica generală, clasică;
- Genetica dezvoltării;
- Genetica senescenței;
- Imunogenetica;
- Genetica ecologică;
- Neurogenetica;
- Farmacogenetica;
- Genetica comportării;
- Genetica medicală;
- Genetica clinică.

**Genetica umană** contemporană reprezintă o știință bazată pe genetica clasică și genetica moleculară ce se focusează pe:

- legitățile păstrării, transmiterii și realizării informației ereditare;
- mecanismul apariției, manifestării și transmiterii modificărilor materialului genetic;
- structura și funcțiile genelor normale și patologice.

Genetica umană contemporană utilizează atât metodele clasice ale geneticii cât și cele moleculare:

- **metoda genealogică** – studiul agregării familiale ale caracterelor ereditare, stabilirea tipului de transmitere și calcularea riscului de recurență la generațiile următoare, reprezentând o etapă importantă în consultul și sfatul genetic;
- **metoda gemenologică** – studiul ponderii factorilor genetici și ecologici în manifestarea caracterelor normale sau patologice;
- **metode citogenetice** - analiza cromozomilor și depistarea anomaliilor cromozomiale de număr și de structură;
- **metode moleculare – genetice** – analiza variațiilor nucleotidice la nivelul moleculei de ADN, studiul genelor normale și genelor mutante, identificarea polimorfismelor normale și mutațiilor patologice;
- **metoda populațional – statistică** – analiza genofondului populației, stabilirea frecvenței unor gene patologice, evaluarea factorilor ce dereglează echilibrul populațional;
- **modelarea matematică și biologică;**
- **genetica celulelor somatice** – studiul corelației dintre modificările materialului genetic cu modificările fenotipice la nivel celular;

Medicii de diferite specialități în activitatea lor întâlnesc boli genetice, de aceea utilizează diverse metode în investigarea acestora. Depistarea modificărilor în structura genelor prin studiul ADN reprezintă o cale în diagnosticul corect al bolilor genetice. Ingineria genică permite elaborarea și producerea diferitor preparate medicamentoase: hormoni, factori de creștere, interferon, etc. Una dintre problemele actuale ale medicinei se referă la posibilitatea clonării embrionilor pentru transplantul țesuturilor și organelor. Se elaborează metode ale terapiei genice, prin care gena patologică este înlocuită cu cea normală. Din aceste considerente, genetica umană este o știință aplicativă, cu un rol deosebit în medicină.

Profilaxia bolilor genetice se bazează pe realizările geneticii umane:

- diagnosticul prenatal prin *screeningul* mutațiilor patologice;
- terapia genică ce permite introducerea genelor umane în genomul celulelor somatice ale purtătorilor de mutații cu revenirea la un genotip normal;
- obținerea produșilor genetici artificiali, transferul lor în altă celulă sau organism, studiul funcției;
- sinteza noilor proteine cu proprietăți terapeutice.

\*\*\*

Piatra de temelie pentru progresul **Geneticii umane** este pusă în anul 1956, an în care a fost stabilită cromosologia umană și an în care a avut loc I-ul Congres în Genetica Umană la Copenhaga. Principalele evenimente discutate la acest congres au fost:

- numărul de cromozomi la specia umană (46,XX; 46,XY);
- analiza grupelor de înlănțuire;
- studiul proteinelor prin electroforeza în gel;
- stabilirea defectului molecular în siclemie.

Din 1956 până în 1991 (Congresul VIII, Washington) au apărut metode moleculare în studiul cromozomilor umani; s-a reușit să se studieze variațiile ADN-ului.

Spre 1961 deja s-au evaluat implicațiile clinice ale anomaliilor cromozomiale:

- rolul cromozomilor X și Y în sexualizare, patogenia sdr. Turner, Klinefelter; a fost descoperit TDF – *testis determining factor*; a fost înaintată ipoteza Mary Lyon privind activitatea cromozomilor X la cele două sexe;
- s-a stabilit corelația dintre cromozomul Philadelphia și LMC (leucemia mieloidă cronică) care este prima piesă în „teoria cancerului” cu implicarea cromozomilor.

În 1966 a fost descifrat în totalitate codul genetic și se descriu erorile înnăscute de metabolism; se pun bazele diagnosticului prenatal prin amniocenteză.

În 1971 se pun la punct erorile înnăscute de metabolism prin studiul pe culturi celulare.

În 1980 se practică deja clonarea genelor umane. Iar din anul 1981 (Congresul de la Ierusalim) se discută metodele de genetică moleculară implicate în studiul localizării genelor la nivel de cromozomi, prin studiul familial a patologiilor cu transmitere mendeliană. În 1985 a apărut tehnica PCR. În 1986 la congresul de la Berlin s-a discutat despre studiul RFLPs în boala Huntington; s-a evidențiat importanța studiului molecular în așa patologii ca Granulomatoza cronică, distrofia Duchenne, retinoblastom, leucemia mieloidă cronică și limfomul Burkitt.

În 1991 s-au clonat și studiat genele implicate în patologia Duchenne, fibroza chistică, neurofibromatoză, polipoza de colon, retinita pigmentară, cardiomiopatia hipertrofică, sdr. Marfan, hipertermia malignă; au apărut diverse concepte legate de *imprinting*-ul genelor și disomia uniparentală.

În 1994 a fost publicat „Catalogul Fenotipurilor Autosomal Dominante, Autosomal Recessive și X-lincate”; acest catalog este denumit „Catalogul genelor umane și a defectelor genice”.

În 1996 a avut loc al XIX-lea Congres în Genetica Umană la Rio-de-Janeiro unde s-au discutat marcherii ADN-ului; YAC-urile; rolul acidului folic în defectele apărute la nou-născuți și introducerea acestuia ca supliment obligatoriu în perioada prenatală; diagnosticul preimplantativ al celulelor utilizate în fertilizarea in vitro și metodele de selecție a produșilor de concepție non-mutanți.

Din 1996 până în 2001 s-au descoperit mai mult de 1000 de gene implicate în patologia umană (cu una sau mai multe mutații); s-a studiat expresia genică, diagnosticul maladiilor genetice, s-au făcut studii de omologie pe drojdii și drosofilă.

În 2001 a demarat Proiectul „Genomul Uman”. În perioada 2001 - 2003 se schimbă paradigmele Geneticii:

- *de la structural – la studiul funcțional al genelor;*
- *de la aranjarea genelor la nivel de cromozomi – la secvențierea ADN-ului;*
- *de la diagnosticul unei afecțiuni genetice – la determinarea predispoziției genetice în bolile comune;*
- *de la etiologie – la patogenie, la mecanismul producerii bolilor genetice;*
- *de la studiul unei gene ce cauzează boala – la studiul familiilor de gene;*
- *de la genom – la proteinom;*
- *de la Genetica Medicală – la Medicina Genetică; Genetica Medicală se axează pe studiul patologiilor mendeliene și a aberațiilor cromozomiale, pe când Medicina Genetică se focusează pe implicarea geneticii în orice parte a medicinei clinice, factorii genetici fiind implicați în toate bolile existente, iar predispoziția genetică există pentru maladiile comune ale adultului și copilului; Genetica Moleculară prevalează în toate aspectele Geneticii Umane și Medicale.*

Complexitatea studiilor din „Proiectul Genomul uman”, chiar în zilele noastre încă nu sunt definitive, deoarece, deși marea majoritate a genelor sunt cunoscute, încă nu se știe cu certitudine, cum se comportă marea majoritate a acestor gene „solo”, darămi-te „în concert” cu celelalte gene din genotipul uman.

Genetica Nouă se bazează pe studiul secvențelor specifice de ADN cu funcție necunoscută și corelațiile genotip – fenotip. Așa dar, progresând în ultimii 40 de ani de la fenotip la ADN, în următorii 30 de ani ne vom întoarce de la ADN la fenotip determinând funcția anumitor secvențe de ADN.

O altă problemă ce ține de viitor este studiul corelației: secvențe ADN – funcție – variație a secvențelor ADN – funcție. Se așteaptă o înțelegere a implicației factorilor genetici în afecțiunile multifactoriale (ex: HTA, boli psihice). Se așteaptă o viziune nouă asupra maladiilor genetice ale celulelor somatice – a patra mare categorie de maladii genetice (cancerul), celelalte trei categorii fiind – bolile monogenice, boli multifactoriale; anomaliile cromozomiale. Conexiunea între oncogeneză și teratogeneză (oncogene și teratogene) deja a fost făcută pe exemplul tumorii Wilms și sindromul cefalosindactiliei Greig. Terapia genică va deveni populară nu doar pentru maladiile ereditare, dar și pentru cele ale celulelor somatice.

\*\*\*

Trăim în veacul celor două revoluții științifice:

în biologie !!!  
în informatică !!!

Geneticienii sunt privilegiați să lucreze într-un important câmp științific – un câmp al provocărilor intelectuale. Genetica umană este un câmp care deține fascinații particulare, pentru că implică aspectele fundamentale ale speciei noastre, sunt fascinații pe care matematica, de exemplu, nu le poate împărtăși.

Genetica Umană, combină fascinațiile intelectuale și antropocentice, oportunitatea de a contribui la bunăstarea umanității, de a fi în serviciul familiei și individului aparte prin Genetica Medicală. Dar acest privilegiu aduce cu sine și responsabilități !!!

Proiectul Genomul Uman are semnificații etice, legale și sociale. Abilitatea de analiză a genomului individului este acompaniată de riscul de a folosi greșit informația și de aceea trebuie de limitat la maxim acest risc. Există necesitatea păstrării confidențiale a anumitor studii pe indivizi, trebuie protejată informația pentru a nu se ajunge la un complex hazardat genetic – comercial.

## CURS 2

### APARATUL GENETIC AL CELULEI UMANE

**Aparatul genetic al celulelor umane** este format din structuri celulare ce conțin ADN (nucleul și mitocondriile) și care intervin în realizarea funcțiilor ADN-ului (ribozomii și centrul celular).

**Nucleul** conține ~ 98% din ADN celular, iar numărul de molecule de ADN nuclear este corelat cu numărul de cromozomi, care constituie o caracteristică de specie:

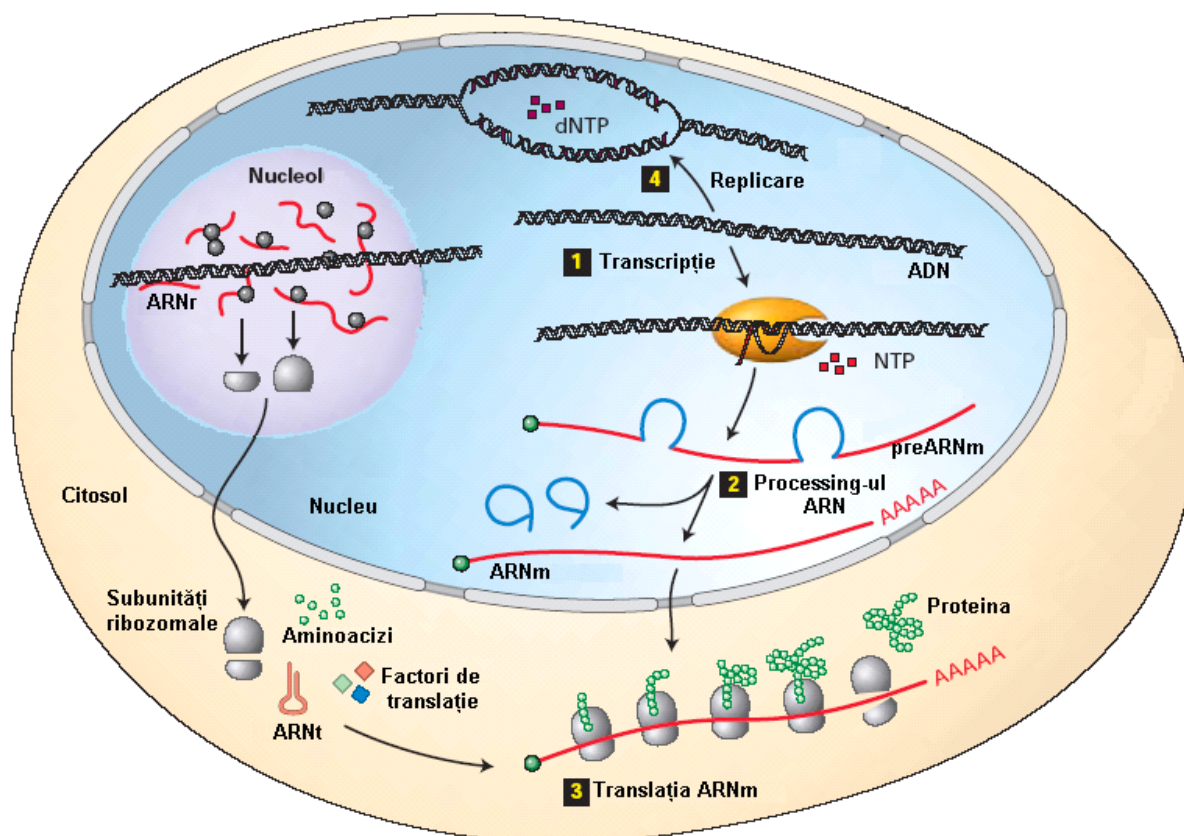
- în celulele somatice ale omului se conțin **46 molecule lungi de ADN în cei 46 de cromozomi** (set diploid =  $2n$  cromozomi);
- în celulele sexuale **23 molecule de ADN în 23 cromozomi** (set haploid =  $n$  cromozomi).

ADN-ul cromozomial este extrem de heterogen, 25 % din secvențele polinucleotidice corespund genelor structurale codificatoare de proteine. Totalitatea informației genetice (genele) din cei 46 cromozomi ai celulelor somatice formează **genotipul**, fiind în proporție de 50 % / 50% de origine maternă și paternă.

**Mitocondriile** conțin ~ 2% din ADN celular. Spre deosebire de nucleu, mitocondriile conțin câteva copii mici de ADN circular. Informația genetică din mitocondrii constituie **plasmotipul**. Transmiterea informației ereditare a mitocondriilor se face pe linie maternă.

**Ribozomii** reprezintă o componentă a aparatului de translație a informației genetice, controlând biosinteza proteinelor – expresia informației genetice codificate în ADN.

**Centrul celular** asigură formarea aparatului de diviziune responsabil de repartizarea materialului genetic în procesul de transmitere a informației genetice de la o generație de celule la alte celule în timpul mitozei, de la părinți la copii în timpul meiozei.



## ORGANIZAREA ȘI FUNCȚIONAREA MATERIAULUI GENETIC (date generale)

### (A) ADN-ul deține informația genetică despre:

- structura organismului
- particularitățile lui funcționale
- particularitățile de dezvoltare, reproducere, răspunsului la acțiunea factorilor de mediu,
- interacțiunea dintre diferite elemente ale aceluiași organism sau cu alte organisme.

ADN reprezintă macromolecule formate din două catene polidezoxinucleotidice complementare, antiparalele sub formă de dublu helix. Informația genetică în ADN este înscrisă sub forma unei secvențe prin succesiunea a patru tipuri de baze azotate:

**A, G, C, T**

Bazele azotate se combină câte trei formând codoni - "cuvintele" codului genetic, fiecare triplet codifică un anumit aminoacid, de exemplu:

AAA → Lys  
CAG → Gln  
TGC → Cys  
GGA → Gly  
etc.

Astfel, succesiunea tripletelor dintr-un segment codant de ADN determină succesiunea aminoacizilor dintr-un polipeptid.

**Secvența codantă - ...AAACAGTGCGGA...**

↓

**Fragment polipeptidic - ...Lys – Gln – Cys – Gly...**

Sucesiunea aminoacizilor din polipeptid determină particularitățile spațiale și funcționale ale proteinei.

Proteinele determină (direct sau participând în diferite lanțuri metabolice) toate structurile celulare, activitățile celulare, asigură interacțiunea cu alte celule, participă în apărarea celulei sau răspunsul la acțiunea diferitor factori ecologici, etc.

**(B) ADN-ul transmite informația genetică** din generație în generație (de la celulă la alte celule sau de la o generație de organisme la alte generații ⇒ de la părinți la copii).

La baza moștenirii și transmiterii I.G. stă proprietatea unică a moleculei de ADN de **replicare**:

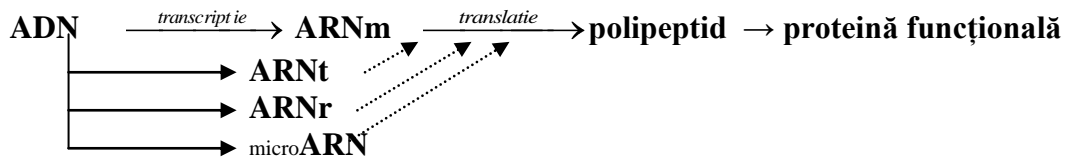
**1 moleculă de ADN**  $\xrightarrow{\text{replicare}}$  **2 molecule de ADN**

În timpul replicării sau sub acțiunea diferitor factori ai mediului în molecula de ADN pot apărea modificări în secvența nucleotidică – **mutații**. Mutațiile pot avea caracter adaptiv sau pot fi patologice. Pentru a se evita acumularea de mutații patologice moleculele de ADN au altă proprietate unică – **reparația** – cu refacerea structurii inițiale a ADN-ului prin înlăturarea nucleotidelor eronate sau modificate și înlocuirea lor cu nucleotide normale.

**(C) ADN-ul realizează informația genetică** în timpul sintezei moleculelor de ARN și proteinelor.

ADN-ul poate fi **transcris** sub formă de secvențe nucleotidice de ARN: ARNm, ARNr, ARNt și microARN care participă la **translația** I.G. și sinteza lanțurilor polipeptidice - viitoare proteine structurale, enzime, receptori, reglatori, etc..





**(D) Procesele moleculare de bază** din celule umane sunt:

- replicarea ADN – suportul transmiterii I.G.;
- reparația ADN – suportul stabilității I.G.;
- transcripția ADN și translația ARNm – suportul realizării I.G..

Toate aceste procese:

- sunt programate** – se realizează numai într-o anumită perioadă ontogenetică a celulei, dependent de tipul celulei, depind de semnale exogene și endogene;
- se realizează matricial** – moleculele inițiale reprezintă modele pentru sinteza produșilor specifici:
  - ambele catene ale moleculei de ADN sunt matrice pentru sinteza noilor catene de ADN în timpul replicării;
  - una din catenele moleculei de ADN este matrice în timpul reparației celeilalte catene de ADN;
  - una din catenele ADN-ului genic este matrice pentru sinteza moleculelor de ARN (ARNm, ARNt, ARNr) în timpul transcripției ADN-ului;
  - molecula de ARNm este matrice pentru sinteza polipeptidului în procesul translației codului genetic;
- se desfășoară după principiul complementarității bazelor azotate;**
  - în timpul replicării catenele noi de ADN sunt complementare celor vechi, matricelor;
  - în timpul reparației fragmentele reparate de ADN sunt complementare catenei întregi;
  - în timpul transcripției moleculele de ARN sintetizate sunt complementare catenei anticodogene a secvenței moleculei de ADN;
  - în timpul translației anticodonii moleculelor de ARNt – adaptorii aminoacizilor – sunt complementare codonilor din ARNm.
- necesită factori proteici**, unități de polimerizare și energie pentru a se desfășura:
  - pentru a se desfășura replicarea:
    - ADN-polimerazele - enzime ce sintetizează catene noi de ADN pe baza catenelor vechi;
    - dNTP – nucleotide, monomeri pentru formarea noilor catene de ADN + donatori de energie în realizarea legăturilor covalente dintre nucleotide;
  - pentru a se desfășura reparația:
    - Endonucleaze – enzime specifice ce înlătură fragmentul nucleotidic defect;
    - ADN-polimerazele - enzime ce sintetizează fragmente noi de ADN pentru înlocuirea golului;
    - dNTP – nucleotide, monomeri pentru formarea noilor catene de ADN + donatori de energie în realizarea legăturilor covalente dintre nucleotide;
  - pentru a se desfășura transcripția:
    - ARN-polimerazele – enzime care sintetizează catene de ARN pe baza unei catene a moleculei de ADN;
    - NTP - nucleotide, monomeri pentru formarea moleculelor de ARN + donatori de energie în realizarea legăturilor covalente dintre nucleotide;
  - pentru a se desfășura translația:
    - ribozomii – sediul translației și sintezei polipeptidului;
    - ARNt - translatorii codului genetic și transportori de aminoacizi spre ribozomi;

- aminoacizi – monomeri pentru formarea polipeptidului;
  - ATP, GTP – surse de energie.
- (5) **necesită secvențe nucleotidice reglatoare** pentru interacțiunea cu reglatorii procesului dat;
- Pentru inițierea replicării – secvența **ORI**;
  - Pentru transcripție:
    - Promotor – secvență reglatoare a inițierii transcripției;
    - Terminator – secvență reglatoare a terminării transcripției;
    - ± Enhancer – secvență intensificatoare a transcripției;
    - ± Silencer – secvență atenuatoare a transcripției.
  - Pentru translație
    - Codon de inițiere - AUG;
    - Codon STOP - UAA, UAG sau UGA;
- (6) **necesită factori proteici și energie** pentru despiralizarea ADN-ului sau ARN-ului ca să fie accesate matricele și citite secvențele nucleotidice:
- Helicazele – enzime ce denaturează acizii nucleici, scindează legăturile de H dintre bazele complementare ale ADN sau ARNm – participă la toate procesele de bază analizate;
  - Topoizomerazele – relaxează și despiralizează dublul helix de ADN, ajutând Helicazele în timpul replicării.
- (7) **se desfășoară în mai multe etape cu cooperarea numeroșilor factori proteici** și în consecință defectul sau absența unei proteine din setul necesar pot compromite calitativ sau cantitativ replicarea, reparația, transcripția sau translația:
- i **Blocarea replicării ADN-ului** va conduce la blocarea proliferării celulei (diviziunii celulei) care în consecință pot duce la:
    - deficiențe în dezvoltarea și creșterea organismului;
    - deficiențe în regenerarea și reinnoirea țesuturilor;
    - îmbătrânire precoce și moarte.
  - ii **Blocarea reparației ADN-ului** va avea ca consecință:
    - acumularea mutațiilor patologice;
    - sensibilitatea sporită a organismului la acțiunea radiației ultraviolete, radiației ionizante, substanțelor chimice din mediu;
    - apariția și dezvoltarea rapidă a tumorilor (cancerului);
    - îmbătrânirea precoce și moartea.
  - iii **Blocarea transcripției sau translației**, fiind etape ale realizării I.G. vor avea ca consecință blocarea sintezei proteinei și diferite defecte la nivel celular sau organismic dependent de:
    - tipul proteinei,
    - funcțiile ei în celulă;
    - tipul de celulă, țesut în care se sintetizează și / sau activează;
    - perioada ontogenetică în care este activă,
    - etc.
- (8) **prezintă principii generale comune** la diferite organisme și anumite particularități, unele aspecte sunt aceleași și la procariote și la eucariote, inclusiv și la om.

## NIVELE DE ORGANIZARE A MATERIALULUI GENETIC

Din punct de vedere funcțional se disting trei nivele de organizare a materialului genetic: **genic**, **cromozomial**, **genomic**, care au următoarele caracteristici comune:

1. *autoreproducerea*, care asigură transmiterea informației genetice la urmași prin replicarea ADN-ului și diviziunea celulară – *suportul eredității*;

2. *autoconservarea*, ce asigură stabilitatea organizării, păstrării și repartizării uniforme a materialului genetic în succesiunea generațiilor prin replicare și reparația ADN-ului – *importantă în păstrarea caracterelor de specie*;
3. *mutabilitatea*, care asigură proprietatea materialului genetic de a se schimba și de a transmite modificările descendenților - *sursa principală a variabilității*.

**Gena** - unitatea elementară structural-funcțională a eredității și variabilității:

- reprezintă o secvență specifică polinucleotidică din molecula de ADN;
- conține informația despre formarea caracterului elementar – proteina: succesiunea de nucleotide din ADN determină succesiunea de aminoacizi în proteină;
- asigură continuitatea materială a informației genetice de-a lungul generațiilor, adică moștenirea de către descendenți a caracterelor parentale;
- modificările ce se produc în structura genei pot determina modificări în sinteza proteinei și ale caracterului. Existența genelor a permis descoperirea de către G. Mendel a legii de moștenire a caracterelor.

**Cromozomul** – reprezintă substratul morfologic al eredității și variabilității:

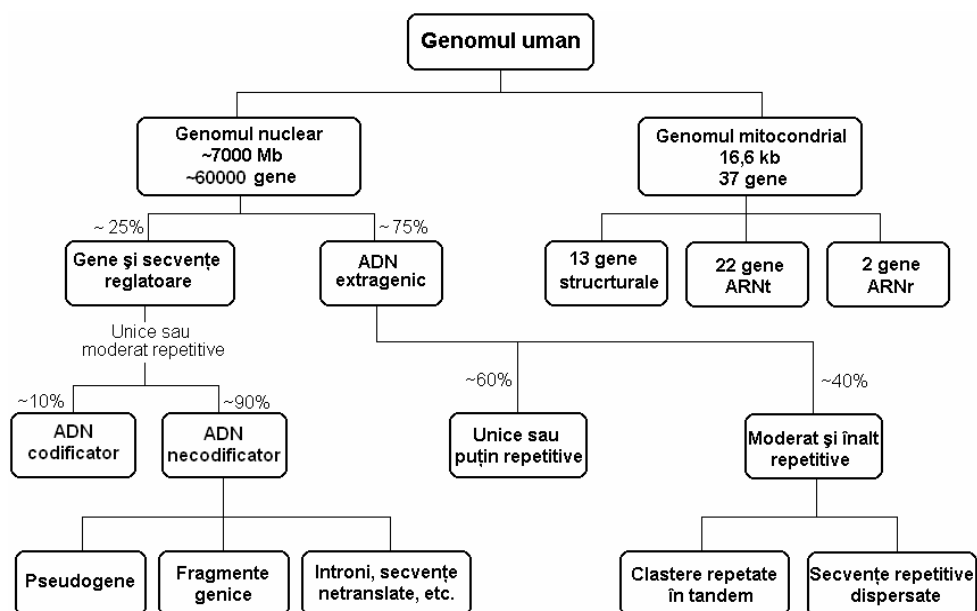
- este reprezentat de o moleculă de ADN linear compactizată cu ajutorul proteinelor histone și nonhistone, vizibil în timpul diviziunii celulare;
- conține multe gene, de la câteva sute (crs. Y) până la câteva mii (crs. 1);
- asigură aranjarea ordonată a informației genetice în spațiu, în grupuri de înlănțuire, fiecare genă are un *locus fix* pe molecula de ADN;
- determină transmiterea genelor în bloc, datorită proprietăților de replicare a cromozomilor și compactizării lor rapide;
- controlează recombinarea materialului genetic – *crossing-overul*.

**Genomul** este nivelul superior de organizare a materialului genetic care asigură unitatea genetică a sistemelor unui organism prin realizarea informației genetice în caractere fenotipice și integrarea diferitor procese moleculare, biochimice, morfologice și fiziologice. **Genomul** reprezintă:

- totalitatea moleculelor de ADN ce se conțin în celulă;
- genomul celulelor sexuale umane - 23 molecule ADN nuclear (set haploid) și câteva moleculele de ADN mitocondrial;
- genomul celulelor somatice - 46 molecule ADN nuclear (set diploid) și câteva copii de ADN mitocondrial;
- genomul conține setul de secvențe codante, reglatoare și modulatorie care asigură dezvoltarea tuturor caracterelor specifice individului;
- sistemul de gene care se conține în 46 molecule de ADN ale celulelor somatice se numește **genotip** și include circa **25-35 mii perechi de gene**;
- genele din ADN mitocondrial formează **plasmotipul**;
- setul diploid al moleculelor de ADN nuclear, organizate sub formă de cromozomi (complexe ADN-proteine) formează **cariotipul**.

## CARACTERISTICA GENOMULUI UMAN

**Genomul** este sistemul genetic complet al celulei organismului uman, care determină dezvoltarea individuală, activitatea vitală și transmiterea caracterelor structurale și funcționale descendenților. Sistemul genetic uman complet include genomul nuclear și mitocondrial, adică 46 molecule ADN nuclear și câteva molecule circulare mitocondriale.



**Genomul nuclear** al celulei somatice umane reprezintă 95-98% din cantitatea de ADN celular și este fragmentat în 24 molecule de ADN distincte:

- 22 molecule de ADN ce formează cromozomii autozomi;
- o moleculă de ADN ce formează cromozomul X;
- o moleculă de ADN ce formează cromozomul Y.

În nucleu sunt aproximativ:

- 7 picograme de ADN cu o lungime de până la 7 mld. p.n. ( $7 \times 10^9$ ),
- circa 30.000 perechi de gene codificatoare de proteine care:
  - constituie doar 25% din ADN-ul celular;
  - sunt dispersate neomogen pe toți cromozomii;
- 90% regiuni eucromatice ce asigură transcripția și se caracterizează prin alternarea:
  - secvențelor unice și repetitive,
  - codificatoare și necodificatoare;
- 10% - regiuni heterocromatice ce constau din secvențe înalt repetitive necodificatoare; Partea necodificatoare a genomului se caracterizează printr-un polimorfism înalt, care
  - nu se manifestă în fenotip,
  - constituie baza moleculară a individualității ADN-lui uman – „amprentă genetică”.

Genomul nuclear reprezintă o comunitate simbiotică de secvențe nucleotidice, care constă din *elemente obligatorii* și *facultative*.

**Elementele obligatorii** determină formarea și transmiterea caracterelor specio-specifice și individuale, structurale și funcționale într-un șir de generații; controlează particularitățile dezvoltării ontogenetice ale fiecărui individ.

Elementele obligatorii ale genomului uman sunt:

- genele structurale caracteristice speciei, numărul și localizarea cărora sunt constante în genom;

- genele ARNr și ARNt – produșii cărora asigură expresia genelor structurale, sinteza proteinelor celulare – baza tuturor structurilor și funcțiilor celulelor organismului uman;
- secvențele inversate și palindromii care reprezintă situsuri de recunoaștere - reglatoare ale expresiei, replicării și recombinării materialului genetic;
- secvențele centromerice și telomerice care asigură integritatea materialului genetic cromozomial, transmiterea exactă a IG în timpul mitozei, meiozei.

**Elementele facultative** ale genomului sunt reprezentate de pseudogene, elemente mobile (transpozoni), secvențe de ADN viral, retrotranscripți (ADNc), care reprezintă un substrat în evoluția genomului.

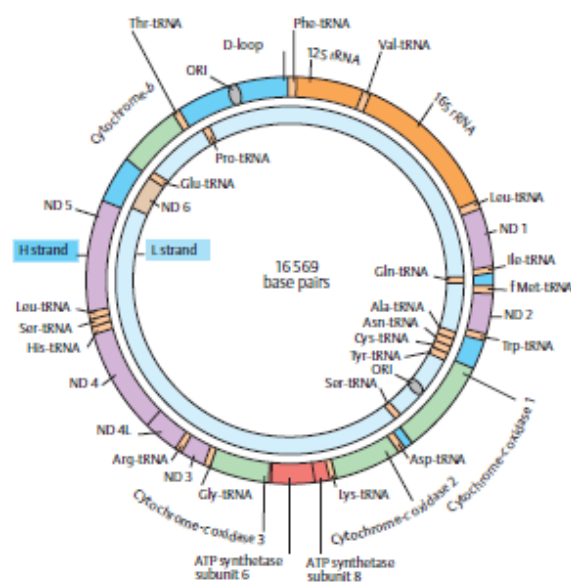
#### CLASIFICAREA SECVENȚELOR GENOMULUI UMAN NUCLEAR

	ADN nerepetitiv 60%	ADN moderat repetitiv 30%	ADN înalt repetitiv 10%
Tipuri de secvențe	- <b>gene structurale</b> - pseudogene - spațiatori ai genelor	- gene de clasa I și III; - SINEs - LINEs	ADN satelit (100-200pb) <sup>n</sup> ; ADN minisatelit (14-65pb) <sup>n</sup> ; ADN microsatelit (1-4pb) <sup>n</sup> .
Numărul de copii per genom	- <b>secvențe unice</b> - familii multigenice cu un număr mic de copii	sute și mii de copii de secvențe scurte de 300-1000pb	Milioane de copii de secvențe de 2-200pb
Localizare	dispersate neomogen pe toți cromozomii	- sunt dispersate în genom - formează secvențe repetate în tandem	- α-sateliții în regiunile de heterocromatină constitutivă; - minisateliții au localizare specifică pentru fiecare cromozom
Funcții	- codifică proteine - separă secvențele codificatoare - reglează expresia genelor	- codifică ARNr, ARNt, ARNsn - reprezintă transpozoni - secvențe ORI - controlează împerecherea corectă a cromozomilor în timpul meiozei	- α-sateliții au rol structural; - minisateliții reprezintă markeri specifici ai cromozomilor; - microsateliții sunt hipervariabili - markeri genetici individuali – permit „dactiloscopia genomică”

**Genomul mitocondrial** este reprezentat de 2-10 copii circulare de ADN, localizate în matricea mitocondrială. Fiecare moleculă de ADN constă din 16.569 perechi nucleotide. Ambele catene ale moleculei de ADN conțin gene structurale care sunt lipsite de introni și se separă unele de altele prin gene ARNt. În fiecare moleculă de ADN sunt localizate 13 gene ce codifică proteine – enzime ale aparatului de respirație mitocondrial, 2 gene pentru ARNr și 22 gene pentru ARNt.

Genomul mitocondrial se caracterizează prin:

- număr variabil a copiilor per celulă, care depinde de numărul mitocondriilor și / sau intensitatea metabolismului celular;
- localizarea compactă a genelor;
- lipsa secvențelor necodante;
- transcrierea informației de pe ambele catene ale moleculei de ADN;
- mutabilitatea înaltă a secvențelor nucleotidice;
- mutațiile genelor mitocondriale sunt cauzele unor boli genetice legate de metabolismul energetic (de ex., miopatii, encefalopatii, etc.);
- transmitere pe linie maternă.



A. Mitochondrial genes in man

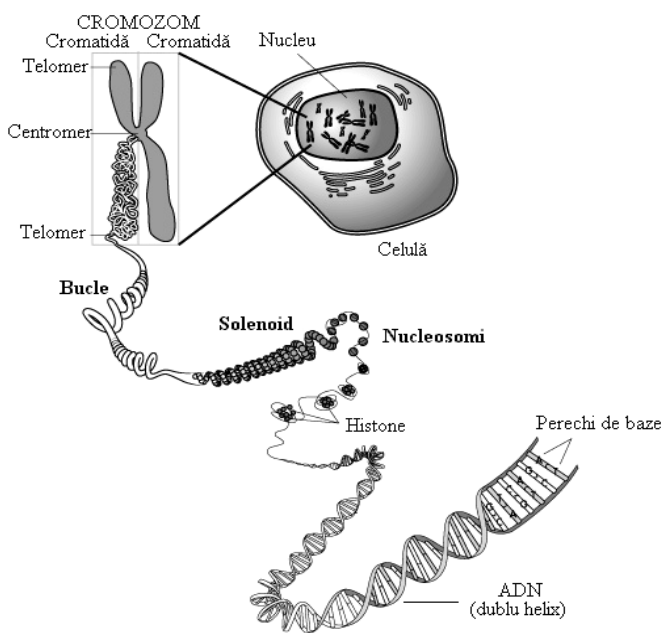
## DINAMICA MATERIALULUI GENETIC NUCLEAR

Materialul genetic nuclear este reprezentat de cromatină sau cromozomi, care din punct de vedere al organizării moleculare reprezintă complexe nucleoproteice (ADN, proteine histone, proteine nehistone, ARN). Cantitatea, forma și activitatea materialului genetic se modifică în funcție de:

- perioada ciclului celular;
- perioada ontogenetică;
- tipul celulei;
- acțiunea factorilor de mediu.

În diferite perioade ale ciclului celular materialul genetic se poate prezenta sub formă de:

- cromatină sau cromozomi, grație diferitor nivele de compactizare;
- cromozomi mono- sau bicromatidieni, înainte sau după replicare;
- secvențe genetice active sau inactive transcripțional.



Compactizarea ADN-ului nuclear

Dinamica materialului genetic pe parcursul ciclului celular				
Perioadele ciclului celular	Grad de condensare	Procese genetice	Nr de cromozomi	Nr de mol de ADN
<b>G1</b>	Eu- și heterocromatină	Transcripție, translație, reparație	46	46
<b>S</b>	Eu- și heterocromatină	Replicație, transcripție, translație, reparație	46	46→92
<b>G2</b>	Eu- și heterocromatină	Transcripție, translație, reparație	46	92
<b>Profază</b>	Heterocromatină	-	46	92
<b>Metafază</b>	Cromozomi metafazici	-	46	92
<b>Anafază</b>	Heterocromatină	-	92	92
<b>Telofază</b>	Heterocromatină	Transcripție	46+46	46+46

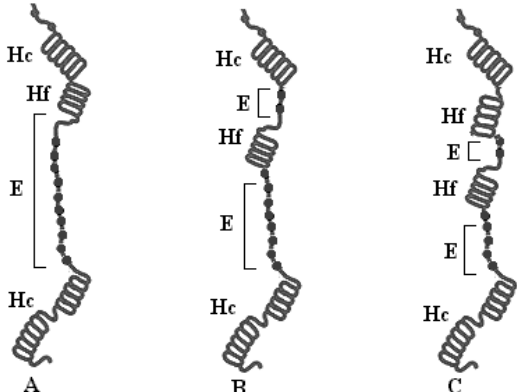
### (A) COMPACTIZAREA MATERIALULUI GENETIC

Materialul genetic poate fi reprezentat de cromatină în nucleul interfazic și de cromozomi în timpul diviziunii. Cromatina constituie forma extinsă și despiralizată a cromozomilor. Din punct de vedere al interacțiunii cu coloranții bazici, cromatina se clasifică în două categorii: eucromatină și heterocromatină.

**Euromatina** reprezintă regiunea slab condensată a cromatinei care conține gene structurale și este porțiunea funcțional activă a ADN-ului de pe care are loc transcripția. Astfel regiunile de euromatină sunt responsabile de expresia specifică a informației genetice, reglarea proceselor vitale esențiale prin expresia genelor „house keeping”. Ponderea euromatinei poate varia de la celulă la celulă datorită expresiei diferențiate a genelor specifice de țesut, specifice unei anumite perioade ontogenetice sau acțiunii factorilor de mediu .

**Heterocromatina** reprezintă segmente de cromatină condensate, inactice genetic, care nu se supun transcripției. Se disting două tipuri de heterocromatină: constitutivă și facultativă.

**Heterocromatina constitutivă** conține ADN repetitiv (ADN satelit), deci nu conține secvențe codificatoare și nu poate fi transcrisă. Astfel de secvențe sunt implicate în individualizarea



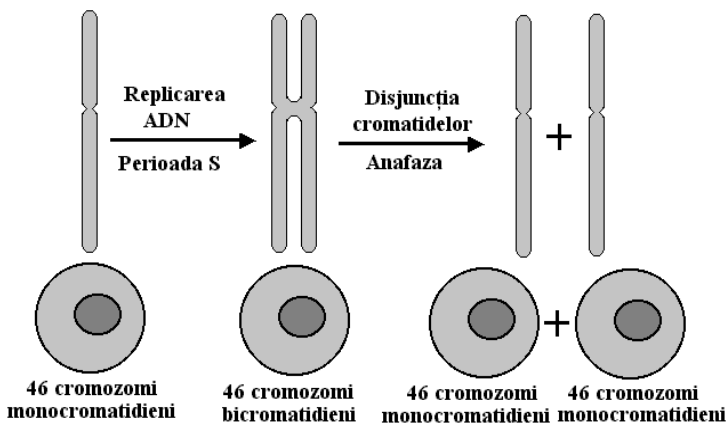
Reprezentarea aceluiași fragment de cromozom în diferitele celule (A, B, C). E – euromatina, Hc – heterocromatina constitutivă, Hf – heterocromatina facultativă

cromozomilor (secvențele telomerice), reglarea mitozei sau meiozei (centromerii), separarea secvențelor codificatoare și aranjarea lor funcțională în nucleu. Localizarea segmentelor de heterocromatină constitutivă în cromozomii omologi este identică și, de regulă, nu variază de la celulă la celulă.

- **Heterocromatina facultativă** conține secvențe codificatoare neactive, funcția lor fiind dependentă de momentul ontogenetic, tipul de țesut sau

de sex. Heterocromatina facultativă în anumite condiții se poate decondensa și transforma în euromatină. Heterocromatina facultativă autozomală reglează indirect expresia genelor dependente de țesut sau a genelor ce activează în diferite perioade de vârstă. Heterocromatina facultativă sexuală – *cromatina sexuală X* - reprezintă un cromozom X heterocromatinizat în nucleele celulelor somatice cu doi cromozomi X; inactivarea cromozomului X se realizează arbitrar, indiferent de originea lui maternă sau paternă; astfel, în unele celule (46,XX) un cromozom X este activ (euromatinizat) iar celălalt - inactiv (heterocromatinizat).

## (B) CANTITATEA MATERIALULUI GENETIC



Dinamica cromozomilor pe parcursul ciclului celular

Cantitatea materialului genetic în celulele somatice depinde de perioada ciclului celular. O celulă tânără în perioada G1 a interfazei, până la replicarea ADN-ului, conține 46 de cromozomi monocromatidieni (46 molecule ADN). Pe parcursul perioadei S are loc replicarea semiconservativă și asincronă a ADN-ului, cromozomii devenind bicromatidieni (92 molecule de ADN). Cele două cromatide ale unui cromozom rămân unite prin centromer până în anafaza mitozei, când are loc distribuția materialului genetic la celulele fiice. În așa mod celulele nou-formate conțin aceeași cantitate de material genetic ca și celula inițială (transmiterea ereditară a materialului genetic de la celulă la celulă).

## (C) ACTIVITATEA MATERIALULUI GENETIC

Activitatea materialului genetic se exprimă prin capacitatea ADN-ului de a fi transcris. Transcripția și rata transcripției este dependentă atât de perioada ciclului celular, cât și de tipul celulei, acțiunea diferitor factori genetici sau negenetici.

Pentru ca o secvență de ADN să fie transcrisă sunt necesare următoarele evenimente:

- solicitarea produsului proteic respectiv în celulă;
- activarea unor factori de transcripție specifici;
- eucromatizarea secvenței respective de cromozom.

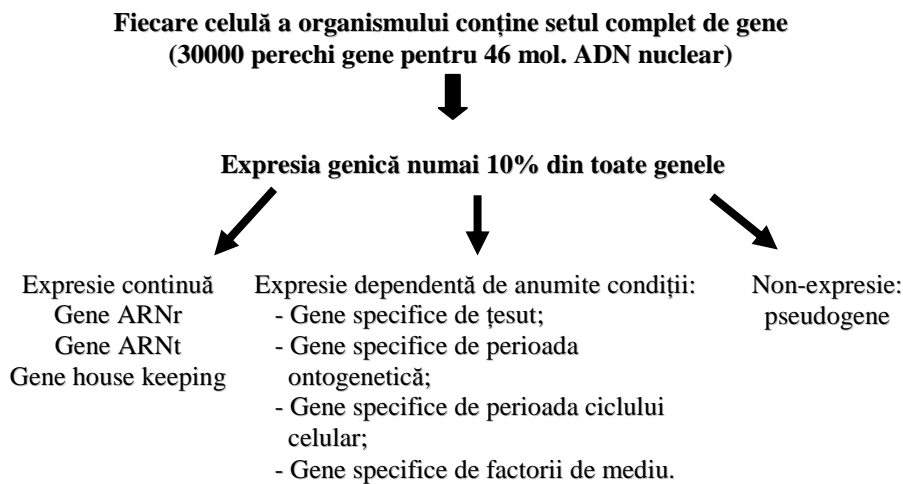
Deoarece pe parcursul diviziunii celulare ADN-ul este puternic condensat, eucromatizarea și respectiv transcripția este posibilă doar în interfază.

Sub acțiunea unor inductori ai transcripției are loc despiralizarea selectivă a unui segment cromozomic, inițierea transcripției și sinteza unei molecule de ARN. Tipul și cantitatea proteinei sintetizate este dictată de necesitatea celulei sau organismului.

Producții proteice ai genelor pot fi clasificați în câteva grupe:

- proteine *house keeping* indispensabile activității tuturor celulelor,
- proteine specifice pentru un anumit țesut,
- proteine necesare unei anumite perioade a ontogenezei celulei sau organismului;
- proteine necesare organismelor de sex feminin sau masculin;
- proteine necesare în anumite condiții de mediu.

Astfel, concomitent într-o celulă se expresează circa 10% din setul de gene moștenite.





## CURS 3

### VARIABILITATEA ȘI FORMELE EI

**Variabilitatea** este proprietatea organismelor de a obține caractere sau însușiri noi, diferite de cele ale părinților. Variabilitatea este un fenomen biologic complex și universal în lumea vie:

- este determinată de factori ecologici și ereditari;
- se manifestă prin modificări genetice, biochimice, fiziologice și morfologice.

Variabilitatea are o importanță deosebită în viața organismului, populației și speciei, asigurând:

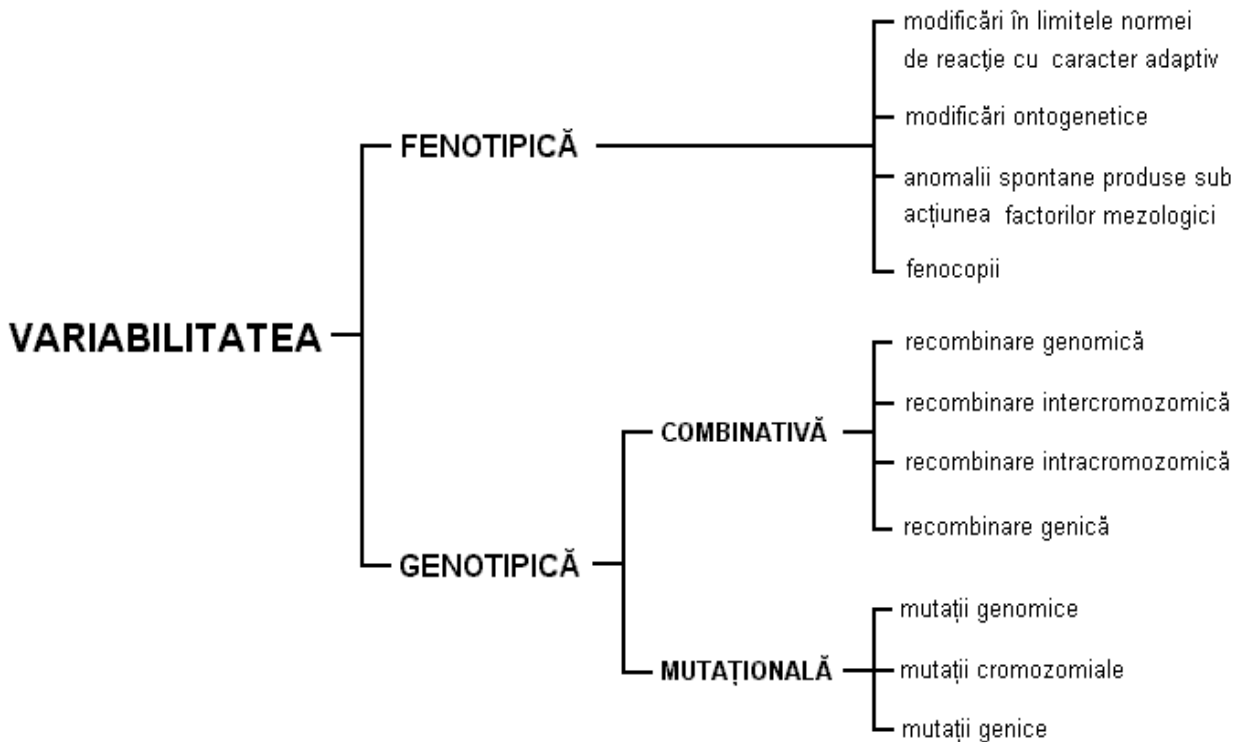
- polimorfismul genetic și fenotipic individual;
- supraviețuirea organismelor în diversele condiții ale mediului;
- susceptibilitatea diferită a indivizilor la anumiți factori ai mediului;
- manifestarea unor stări patologice;
- selecția naturală;
- baza materială a evoluției speciei umane.

Factorii ecologici care determină apariția variațiilor pot fi clasificați în **factori externi** (fizici, chimici și biologici) și **factori interni** (produși intermediari ai metabolismului, diferite stări fiziologice).

### CLASIFICAREA VARIABILITĂȚII

Transmiterea sau netransmiterea ereditară este criteriul fundamental în clasificarea variabilității. Valoarea biologică a variațiilor este judecată în raport cu faptul dacă acestea sunt corelate cu modificări la nivelul materialului genetic. Din acest punct de vedere, variabilitatea este de două tipuri:

- variabilitate neereditară, numită și variabilitate fenotipică sau modifiacățiune;
- variabilitatea ereditară sau variabilitatea genotipică.



## (A) VARIABILITATEA NEEREDITARĂ

*Variațiile neereditare* sau *modificațiunile* reprezintă reacțiile organismului, determinate genetic, de a răspunde la acțiunea factorilor mediului ambiant prin schimbări morfologice, fiziologice și biochimice, pe termeni mai scurți sau mai îndelungați.

Modificațiunile se caracterizează prin:

- i. variații fenotipice neereditare;
- ii. poartă un caracter adaptiv și favorizează individul în lupta pentru existență;
- iii. reprezintă stări reversibile de durată diferită, determinată de tipul factorului ecologic, intensitatea și durata de acțiune a acestuia și particularitățile caracterului modificat;
- iv. determină capacitatea organismelor de a reacționa diferit când sunt puse în condiții similare de viață, fiind o caracteristică ereditară (norma de reacție).

Exemple de modificațiuni la om pot fi: răspunsul la acțiunea razelor ultraviolete (creșterea cantității de melanină în epidermă – bronzarea); răspunsul la eforturi fizice repetate (creșterea masei musculare); răspunsul la hipoxie (mărirea concentrației hemoglobinei în sânge); răspuns la acțiunea îndelungată a temperaturilor scăzute (creșterea stratului celulo-adipos subcutanat – tipul arctic).

Modificațiunile se produc în anumite limite, ce sunt controlate genetic și sunt dependente de doza și durata de acțiune a factorului modificador. Pentru fiecare organism aceste limite sunt individuale și se încadrează în noțiunea de **normă de reacție**. Norma de reacție pune în evidență raportul dintre potențialul genetic cu care individul se naște și posibilitățile de manifestare fenotipică a acestuia în diferite condiții mezologice (mediul ecologic, mediul familial, mediul social).

\* \* \* \* \*

*Caracterele indivizilor și ale populației umane se manifestă fenotipic în limitele normei de reacție, a potențialului genetic înscris în structuri ereditare (genomul nuclear și mitocondrial), iar prin educație – prin dirijarea factorilor sociali și ecologici, se pot dezvolta caracterele și trăsăturile ce se înscriu în norma de reacție.*

- (1) *Sunt indivizi cu potențial genetic favorabil, cu normă largă de reacție (talent muzical, inteligență, capacități fizice):*
  - a. *în mediu social-educational nefavorabil nu se manifestă posibilitățile în toată plenitudinea lor;*
  - b. *prin educație se dezvoltă posibilitățile pe măsura metodelor de educație și a efortului de perfecționare.*
- (2) *Sunt indivizi cu normă de reacție manifestată în limite relative:*
  - a. *Fără educație se manifestă mediocru;*
  - b. *Prin educație se manifestă la valoarea lor.*
- (3) *Sunt indivizi cu deficiențe psiho-somatice determinate genetic, cu normă de reacție manifestată în limite restrânse (oligofreni etc.) educați în instituții speciale.*

\* \* \* \* \*

Unii factori ai mediului pot avea acțiune distructivă asupra organismului, producând modificațiuni ce depășesc limita normei de reacție. Drept exemple sunt anomaliile de dezvoltare teratogene.

**Factorii teratogeni** de diferită natură (fizici, chimici, biologici) perturbază dezvoltarea normală a embrionilor la diferite perioade ale ontogenezei, producând anomalii morfologice, fiziologice sau biochimice, prezente la naștere. Acestea ar putea fi confundate cu defecte ereditare și în acest caz poartă denumirea de **fenocopii** (de ex., surditatea rubeolică, microcefalie alcoolică etc.).

## (B) VARIABILITATEA EREDITARĂ SAU GENOTIPICĂ

*Variațiile ereditare* sunt produse prin modificări ale materialului genetic – modificări în structura și /sau cantitatea materialului genetic.

Variațiile ereditare se caracterizează prin următoarele particularități:

- i. sunt determinate de modificări specifice ale materialului genetic;
- ii. apar spontan sau prin acțiunea factorilor fizici, chimici și biologici asupra materialului genetic;
- iii. se transmit de-a lungul generațiilor, sunt ereditare;
- iv. reprezintă sursa principală a evoluției lumii vii;
- v. stau la baza polimorfismului populației.

Sursele biologice ale variabilității ereditare sunt mutațiile și recombinația materialului ereditar – două căi prin care apar caractere și / sau combinații noi de caractere, ce au o anumită valoare și semnificație biologică.

### 1. VARIABILITATEA COMBINATIVĂ

Recombinația materialului genetic este asigurată în general de procesele legate de înmulțirea sexuată.

În dependență de cantitatea de material implicat în recombinație deosebim:

- **recombinație genomică** – recombinația materialului ereditar în procesul fecundației;
- **recombinația intercromozomică** – combinarea independentă a cromozomilor neomologi în anafaza I a meiozei;
- **recombinația intracromozomică** – recombinația genelor între cromozomii omologi în procesul *crossing-over*ului.

Importanța biologică a recombinațiilor materialului genetic:

- a. combinarea întâmplătoare a genelor de origine parentală diferită și nașterea unor indivizi cu caractere comune ale ambilor părinți – unici din punct de vedere genetic și biologic;
- b. selecția naturală prin eliminarea indivizilor cu combinații defavorabile de gene, mutații letale și semiletale și supraviețuirea indivizilor cu caractere normale, adaptive;
- c. evoluția speciei datorită selecției genelor evaluante.

### 2. VARIABILITATEA MUTAȚIONALĂ

**Mutația** este fenomenul biologic de apariție a modificărilor materialului genetic, prin care apar caractere și însușiri noi, căi metabolice sau structuri noi și, ca rezultat, a unui fenotip nou.

Mutația apare relativ rar și rămâne destul de stabilă de-a lungul generațiilor. Procesul prin care apare mutația se numește **mutageneză**. Factorii fizici, chimici și biologici care produc mutații se numesc **agenți mutageni**. Prin mutație pot să apară gene noi (**gene mutante**), cu informație ereditară diferită de cea inițială (**genă de tip sălbatic**).

Mutația include modificări în structura acizilor nucleici și a genelor, schimbarea cantității materialului genetic (anomalii de număr ale cromozomilor); poate interesa materialul genetic nuclear (genotipul) cât și materialul genetic citoplasmatic (plasmotipul).

În funcție de cantitatea materialului genetic modificat, sediului proceselor de mutageneză, – genă, cromozom, genom – se pot descrie trei tipuri de mutații:

- i. **mutații genice** ce se produc la nivelul moleculei de ADN, pot implica întreaga genă, mai multe nucleotide sau unul singur;

- ii. **mutații cromozomice (aberații cromozomiale)** sunt modificări structurale ale cromozomilor ce constau în pierderea, câștigul sau rearangarea unor segmente din cromozom;
- iii. **mutații genomice** sunt modificări ale setului diploid (46) de cromozomi, afectând fie 1-2 perechi cromozomi (*aneuploidie*), fie toți cromozomii, prin adăugarea a 1-2-3 seturi haploide (*poliploidie*).

O altă clasificare a mutațiilor se bazează pe tipul de celulă afectată: germinală sau somatică:

- **mutațiile germinale** produc gameți anormali, care după fecundare transmit mutația la generația următoare, rezultând un individ în care toate celulele vor fi mutante;
- **mutațiile somatice** vor forma o clonă celulară anormală și, secundar, prin modificările morfo-funcționale ale organelor, sunt implicate în geneza cancerului și accelerarea senescentei organismului.

Mutațiile genice pot fi *spontane* sau *induse*. Primul tip este determinat de factori necunoscuți, imposibil de definit sau obiectivat de un observator; al doilea tip de mutații sunt produse prin acțiunea unor factori cunoscuți: fizici (radiații ionizante), chimici (analogi ai bazelor azotate, agenți alchilanți) sau biologici (virusuri). Mutațiile spontane – ar putea fi determinate de radioactivitatea naturală (reprezentată de razele cosmice, radioactivitatea terestră permanentă și iradierea internă) și reprezintă circa 1,5% din totalul mutațiilor înregistrate la om.

Modificările materialului genetic se pot răsfrânge asupra proprietăților vitale ale organismului mutant și pot fi:

- **mutații evaluante**, pozitive, care asigură apariția unor caractere noi care-l fac pe individ mai rezistent la factorii de mediu;
- **mutații defavorabile**, negative, letale sau subletale ce determină apariția unor anomalii incompatibile cu viața sau stări patologice;
- **mutații neutre** care nu afectează vitalitatea producând polimorfisme genice și fenotipice.

## **POLIMORFISMUL ADN**

Analiza genomurilor umane, alese la întâmplare, indică identitatea lor în proporție 99,9%, iar 0,1% prezintă variante diferite ale unei secvențe de ADN. Aceste variații pot fi atât în interiorul genelor, cât și în regiunile intergenice, ultimele fiind mai frecvente deoarece nu sunt eliminate de selecția naturală.

**Polimorfismul ADN** se referă la variațiile nucleotidice din diferite regiuni ale ADN-ului. Există mai multe tipuri de polimorfisme ADN:

- variații a unui singur nucleotid – **SNP** (*single nucleotid polymorphism*);
- variații microsatelitice di-, tri-, tetra- și pentanucleotidice – **STR** (*short tandem repeats*);
- variații minisatelitice cu secvențe de 10-15 p.n. repetate în tandem - **VNTR** (*variable number tandem repeats*).

Secvențele polimorfe în genomul uman sunt întâlnite cu o frecvență de un situs polimorf la 300-500 nucleotide.

Polimorfisme ADN nu se manifestă în fenotip și constituie baza moleculară a individualității ADN-lui uman – „amprentă genetică”, iar situsurile polimorfe – markeri în studiile populaționale sau în identificarea persoanelor – „dactiloscopia genomică”.

# CURS 4

## CROMOZOMII UMANI

Termenul de cromozom a fost propus în 1888 de Waldeyer cu referință la corpusculi colorați ce pot fi vizualizați pe parcursul diviziunii celulare. În interfază cromozomii sunt decondensați și se prezintă sub formă de filamente, fibre sau bucle de cromatină bine organizate în nucleul celulei, aspectul cărora depinde de tipul celulei sau perioada ontogenetică. Segmentele de cromatină active transcripțional se prezintă sub formă de eucromatină, iar cele ce nu se transcriu – sub formă de heterocromatină. Cromozomii metafazici reprezintă nivelul maximal de condensare a materialului genetic nuclear, iar studiul cromozomilor în metafază permite identificarea precisă a fiecărui cromozom, evaluarea morfologiei cromozomilor.

### CARACTERISTICI GENERALE ALE CROMOZOMILOR

1. Cromozomii reprezintă **nivelul supramolecular** de organizare a materialului genetic și substratul morfologic al eredității. Molecula de ADN este principalul component al cromozomului, care-i specifică funcțiile de păstrare, transmitere și realizare a materialului genetic ce-l conține sub formă de secvențe polinucleotidice specifice – gene.
2. Un cromozom conține de la câteva sute la câteva mii de gene: reprezintă un **grup de înlănțuire a genelor**:
  - sigură ordonarea genelor în spațiu și în timp - fiecare genă are o poziție fixă pe cromozom – locus;
  - activarea sau inactivarea genei este realizată strict după necesitățile celulei sau organismului;
  - asigură transmiterea înlănțuită a genelor și caracterelor determinate de genele unui cromozom.
3. Cromozomii se autoreproduc în perioada S a interfazei prin replicare semiconservativă a moleculelor de ADN care îi constituie. Replicarea diferitor segmente cromozomiale și diferitor cromozomi se realizează asincron, dar la sfârșitul perioadei S toți cromozomii devin bicromatidieni.
4. Cromozomii reprezintă **structuri dinamice** ce își modifică aspectul, forma, activitatea în dependență de perioadele ciclului celular.
5. Cromozomii au structură neomogenă de-a lungul lor datorită alternării diferitor segmente de ADN:
  - secvențe codificatoare și necodificatoare,
  - secvențe unice și repetitive,
  - regiuni ce corespund eucromatinei și heterocromatinei;
  - regiuni ce se deosebesc după gradul de pliere a fibrei de cromatină (dimensiunile buclelor);
  - regiuni cu un conținut diferit de perechi A=T și G≡C;
  - regiuni cu o cantitate diferită de proteine asociate.

Toate aceste explică polimorfismul cromozomial, colorarea diferențiată a cromozomilor și originea benzilor (Vezi „Tehnici de analiză a cromozomilor”).

**Fiecare individ**, fiecare celulă conține un set diploid de cromozomi. Fiecare cromozom în setul diploid are omologul său. Cele 23 de perechi de cromozomi ale celulei umane somatice constituie **cariotipul**, care atât cantitativ, cât și calitativ se implică în formarea fenotipului celulei și organismului uman.

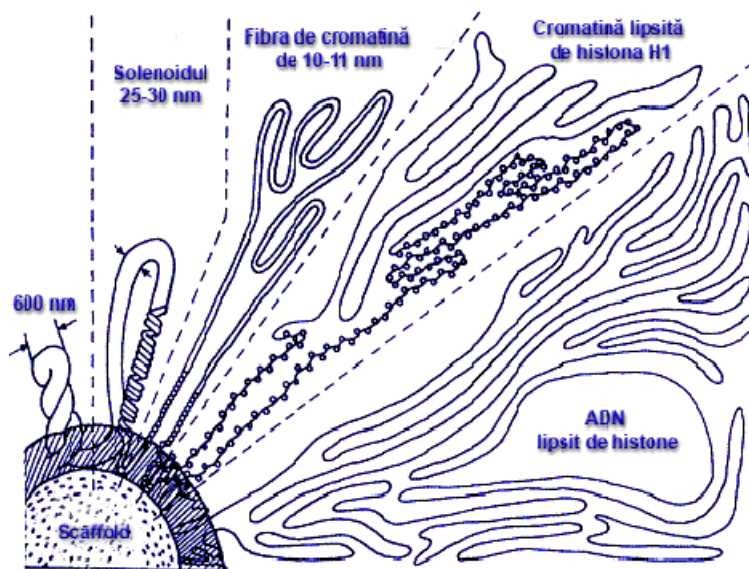
Modificările numărului sau structurii cromozomilor produc anomalii de dezvoltare multiple – sindroame cromozomice plurimalformative (ex. 47, XX(XY),+21 – sindrom Down; 46,XX(XY),5p- - sindrom „cri-du-chat”) sau determină transformarea clonelor celulare aneuploide.

Genetica dispune de variate *tehnici de cariotipare* pentru depistarea anomaliilor de număr sau de structură a cromozomilor cu scop: de diagnostic al sindroamelor cromozomice, de prevenire a nașterii copiilor cu anomalii cromozomiale prin diagnostic prenatal și studiul anomaliilor cromozomiale în tumori.

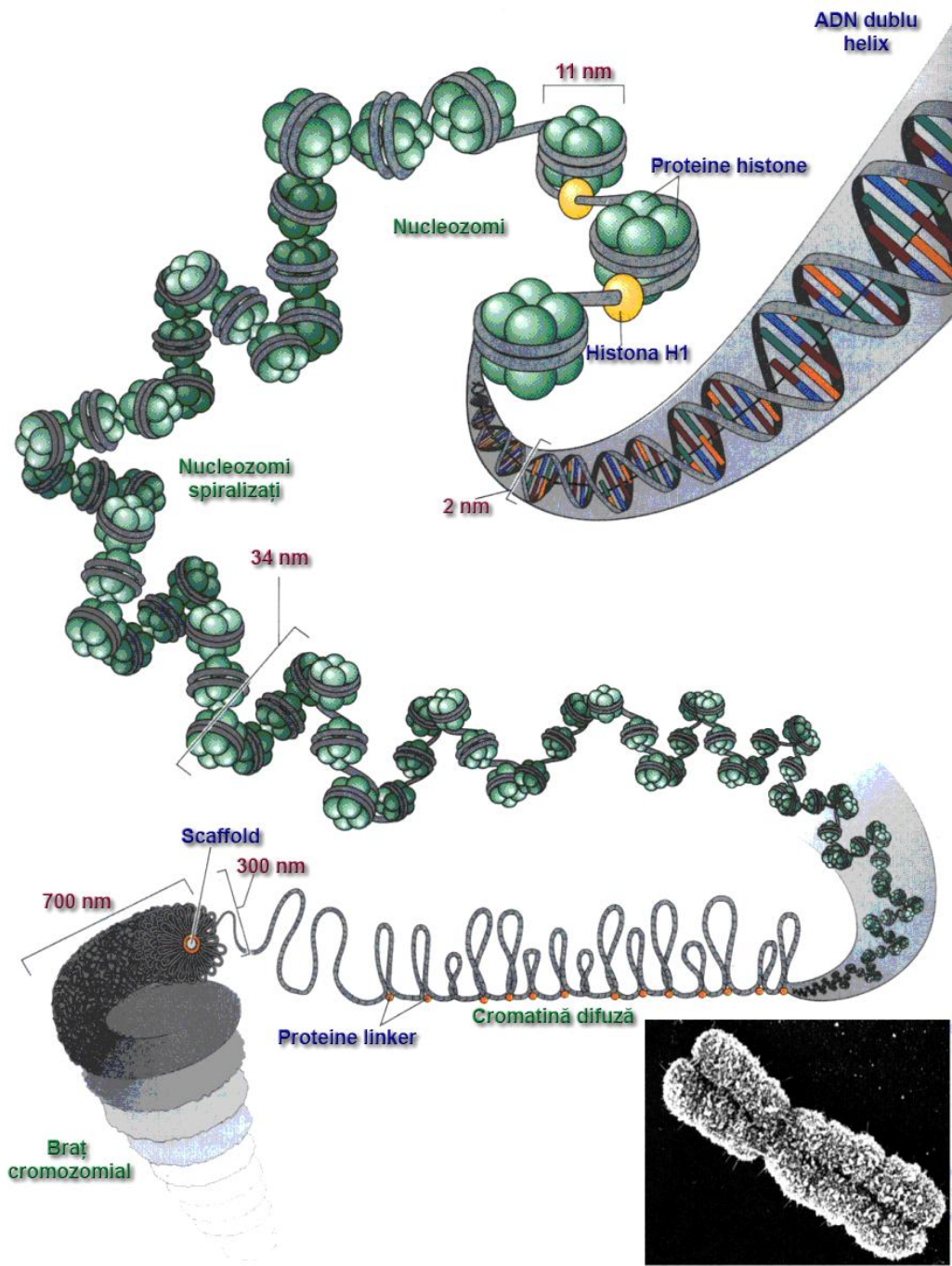
## ORGANIZAREA MOLECULARĂ A CROMOZOMILOR

Cromozomul este constituit din 1 sau 2 molecule de ADN (în dependență de perioada ciclului celular), asociat cu proteine histone, nehistone și ARN, formând o nucleoproteidă cu diferite nivele de compactizare:

1. molecula de ADN cu diametru de 2 nm interacționează cu proteinele histone determinând formarea **primului nivel de compactizare nucleosomic**; octamere histonice (2H2A, 2H2B, 2H3 și 2H4) sunt înfășurate de segmente de ADN cu o lungime de  $\approx 160$ p.n., transformând molecula de ADN în filament nucleoproteic polinucleosomic cu diametru de 11 nm și asigurând un grad de compactizare de circa 6 ori;
2. în prezența H1 filamentul de cromatină de 11 nm se supraspiralizează și se formează **al doilea nivel de compactizare - solenoidul**, ce se prezintă sub formă de fibră nucleoproteică de 30 nm, asigurând un grad de compactizare de circa 40 ori;
3. solenoidul se fixează de axul proteic longitudinal al cromozomului (*scaffold*), format din proteine ale matricei nucleare; solenoidul interacționează specific cu scaffoldul prin intermediul SAR – regiuni situs specifice de ancorare la SAP – proteine situs specifice ale axului cromozomial și astfel apare **al treilea nivel de compactizare – bucele**, care permit un grad de compactizare a materialului genetic interfazic de 600 – 1000 de ori;
4. **al patrulea nivel – cromozomul metafazic** – se formează prin răsucirea buclelor în jurul axului cromozomial după pierderea contactului scaffold / anvelopă nucleară; fiecare spiră se formează din aproximativ 30 de rozete (bucle), bucelele sunt orientate spre exteriorul cromozomului; stabilirea nivelului maximal de condensare de 10 000 ori are loc în metafază.



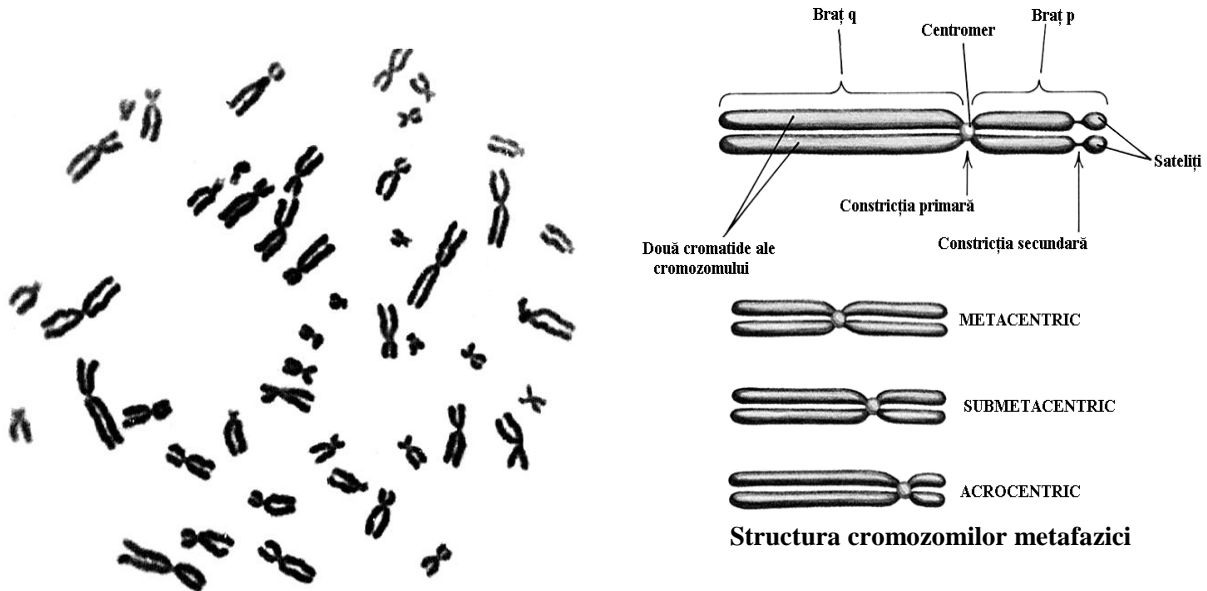
Compactizarea ADN nuclear



## MORFOLOGIA CROMOZOMILOR METAFAZICI

Cromozomii sunt cel mai ușor de analizat în metafază sau prometafază deoarece:

- se află în același plan – placa ecuatorială;
- sunt compactizați și pot fi ușor individualizați;
- sunt bicromatidieni, iar cromatidele surori sunt unite prin centromer, ce permite diferențierea cromozomilor după formă.



### (A) ELEMENTELE MORFOLOGICE ALE CROMOZOMILOR sunt:

- cromatidele;
- centromerii;
- telomerii;
- constricțiile secundare;
- sateliții;
- situsurile fragile.

**Cromatida este** reprezentată de o moleculă de ADN liniară asociată cu proteine histone și non-histone maximal compactizată. Cromozomul metafazic are două cromatide surori, identice genetic, rezultate prin replicarea ADN cromozomial în perioada S a ciclului celular. Cromatidele surori rămân unite prin centromer de la perioada S până în anafază.

**Centromerul (c)** reprezintă secvența de ADN specifică asociată cu proteine histone specifice ce unește cromatidele surori. ADN centromeric este reprezentat de secvențe înalt repetitive. Poziția centromerului este fixă și specifică fiecărui cromozom, fiecărei perechi de cromozomi omologi. Centromerul împarte cromatidele în două brațe: braț proximal p și braț distal q. Centromerii au următoarele funcții:

- controlează formarea kinetocorilor pentru fixarea cromozomilor la fusul de diviziune;
- asigură clivarea longitudinală și disjuncția cromatidelor surori cu formarea a doi cromozomi monocromatidieni din fiecare cromozom bicromatidian;
- asigură distribuția egală și identică a materialului genetic în timpul mitozei, transmiterea exactă a materialului genetic de la celula mamă la celulele fiice.



**Telomerii (t)** sunt secvențe specifice de ADN asociate cu proteine speciale de la capetele cromozomilor

- (a) secvențe scurte (TTAGGG) repetate în tandem de mii de ori și
- (b) secvențe de ADN specifice fiecărui cromozom.

Telomerii:

- protejează capetele cromozomilor de nucleaze;
- împiedică fuziunea cromozomilor;
- asigură replicarea completă a ADN-ului nuclear și previn scurtarea progresivă a telomerilor datorită activității telomerazei;
- controlează senescența celulelor și organismului pluricelular;
- contribuie la fixarea cromatinei de anvelopa nucleului interfazic, controlând arhitectura nucleului interfazic;
- participă la conjugarea cromozomilor omologi în meioză.

**Constricțiile secundare (h)** reprezintă regiuni de ADN repetitiv despiralizate, slab colorate, prezente pe brațele distale ale unor cromozomi (1, 9, 16, mai rar pe crs. 4,6,10 și Y) și pe brațele proximale ale cromozomilor acrocentrici 13, 14, 15, 21 și 22, ce conțin organizatori nucleolari. Lungimea constricțiilor secundare poate varia individual.

**Satețiții (s)** reprezintă mici segmente de heterocromatină constitutivă separate prin constricția secundară la capetele brațelor proximale ale cromozomilor acrocentrici 13, 14, 15, 21 și 22; numărul și dimensiunile satețiților pot varia de la o persoană la alta.

**Situsurile fragile** reprezintă niște regiuni cromozomiale decondensate, cu rezistență scăzută la acțiunea mutagenă ce se pot rupe ușor determinând rearanjamente cromozomiale. Situsurile fragile sunt considerate ca marcheri genetici normali dacă afectează regiunile de heterocromatină constitutivă; se pot asocia cu unele stări patologice dacă afectează regiuni crs codante (ex. FRAXA și retardul mental familial); pot avea un rol în progresia tumorală (inactivarea unor gene supresoare de tumori).

## (B) CLASIFICAREA CROMOZOMILOR UMANI

În celulele somatice umane există câte un set diploid de cromozomi ( $2n=46$ ), adică 23 de perechi:

- 22 perechi sunt identice la femeie și bărbat – *autosomi*;
- 1 pereche este diferită la cele două sexe (XX la femeie, XY la bărbat) – *gonosomi*.

Cromozomii identici ca morfologie (formă și mărime) și conținut genic, dar diferiți ca origine (unul de origine maternă, celălalt de origine paternă) se numesc *cromozomi omologi*.

În celulele sexuale mature (gameți) există câte un set haploid de cromozomi ( $n=23$ ): în ovule 23,X (22 autosomi+ crs. X), iar în spermatozoizi 23,X (22 autosomi+ crs. X) sau 23,Y (22 autosomi+ crs.Y).

Pentru identificarea cromozomilor se folosesc criteriile morfologice, indicii autoradiografiei și marcajul în benzi.

Criteriile morfologice se referă la dimensiunile și configurația cromozomului. Se deosebesc criteriile cantitative (lungimea cromozomului, indicele centromeric) și calitative (prezența constricțiilor secundare și a sateliților) de clasificare a cromozomilor.

*Lungimea cromozomului* – lungimea absolută a cromozomului (în microni) sau lungimea relativă este calculată după formula:

$$\frac{\text{Lungimea cromozomului studiat}}{\text{Suma lungimilor cromozomilor setului haploid}} \times 100.$$

După lungime cromozomii se clasifică în: mari, mijlocii, mici.




*Poziția centromerului*. Pentru a caracteriza poziția centromerului în cromozom se utilizează *indicele centromeric*, care se calculează după formula:

$$I_c = \frac{p}{p+q} \times 100,$$

unde  $p$  – lungimea brațului proximal,

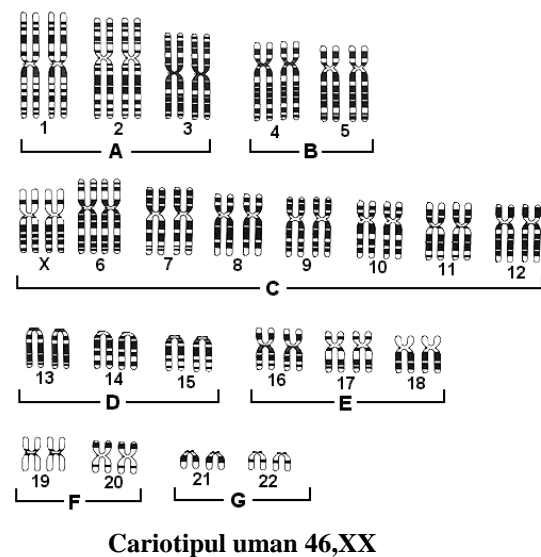
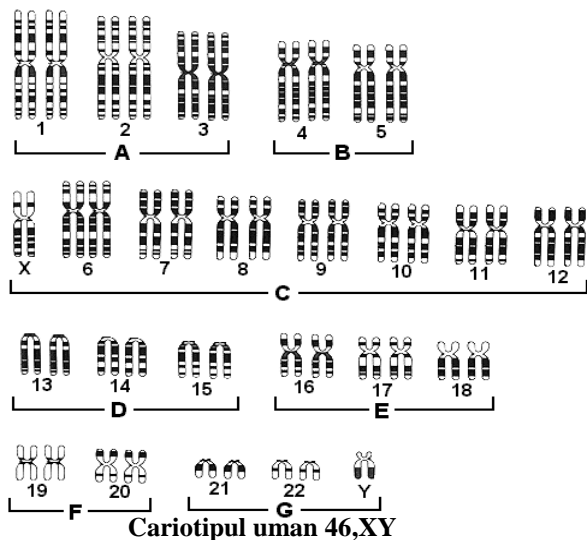
$q$  – lungimea brațului distal.

În baza acestui criteriu cromozomii se clasifică în:

	<b>metacentrici:</b>	$p \cong q$	<b><math>I_c = 46</math> – 49%</b>
	<b>submetacentrici:</b>	$p < q$	<b><math>I_c = 31</math> – 45%</b>
	<b>acrocentrici:</b>	$p \ll q$	<b><math>I_c = 17</math> – 30%</b>

Pe baza criteriilor morfologice *cantitative* (lungimea și poziția centromerului) și *calitative* (sateliți și constricții secundare) cromozomii se grupează în perechi de omologi și se clasifică în 7 grupe, notate de la A la G:

- \* **grupa A** - perechile 1-3, sunt cei mai mari cromozomi metacentrici, cromozomul 1 poate prezenta constricție secundară pe brațul distal (1qh), cromozomul 2 este ușor submetacentric;
- \* **grupa B** - perechile 4-5 de cromozomi sunt mari, submetacentrici;
- \* **grupa C** - perechile 6-12 de cromozomi și cromozomul X sunt mijlocii, submetacentrici; sunt 16 cromozomi la femeie și 15 la bărbat; cromozomul 9 prezintă constricție secundară pe brațul distal (9qh);
- \* **grupa D** - perechile 13-15 de cromozomi sunt mijlocii, acrocentrici; prezintă constricții secundare pe brațele proximale și sateliți;
- \* **grupa E** - perechile 16-18 de cromozomi; cromozomul 16 este metacentric mijlociu și poate prezenta constricție secundară pe brațul distal (16qh); cromozomii 17-18 sunt submetacentrici mici;
- \* **grupa F** - perechile 19-20 de cromozomi sunt mici, metacentrici;
- \* **grupa G** - perechile 21-22 și Y de cromozomi sunt mici, acrocentrici; cromozomii 21 și 22 prezintă constricții secundare pe brațele proximale și sateliți; cromozomul Y nu prezintă sateliți; cromozomii grupei G ajută la **determinarea sexului**: la femei sunt 4 acrocentrici mici (2 crs 21 + 2 crs 22) / la bărbați sunt 5 acrocentrici mici (2 crs 21 + 2 crs 22 + Y).

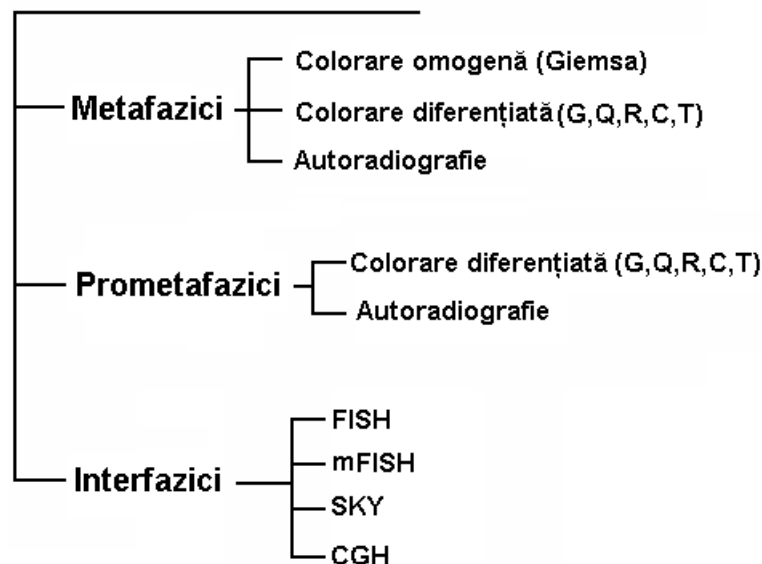


## STUDIUL CROMOZOMILOR UMANI

Analiza cariotipului urmărește evaluarea numărului, formei, structurii, prezența unor repere morfologice și evidențiază polimorfisme individuale.

Actualmente există diverse metode ce sunt utilizate în evaluarea cariotipului, depistarea anomaliilor cromozomice de număr sau de structură, evidențierea unor markeri cromozomiali în normă sau patologie. Mai mult ca atât, unele tehnici bazate pe tehnologiile ADN recombinat, permit identificarea unor modificări la nivel de secvență de ADN cromozomial.

### STUDIUL CROMOZOMILOR



În dependență de scopul propus, cromozomii pot fi analizați atât în interfază, cât și în timpul diviziunii. Aceasta permite identificarea atât a unor schimbări minore în structura moleculară a ADN (microdeleții, microduplicații), cât și modificări majore în structura și numărul cromozomilor (aberații cromozomiale, aneuploidii).

### STUDIUL CROMOZOMILOR METAFAZICI

Etapă optimă de studiu a cariotipului este metafaza, deoarece cromozomii sunt **maximal condensați** și sunt dispuși **într-un singur plan**, ceea ce permite identificarea lor precisă. Pentru studiul cariotipului trebuie îndeplinite următoarele condiții:

- să se obțină *celule în diviziune*,
- să se *blocheze diviziunea în metafază* și
- să se realizeze un preparat cromozomic care să fie examinat la microscop.

**(1) Celule în diviziune pot fi analizate direct** în cazul țesuturilor cu proliferare activă (măduvă osoasă, gonada masculină, tumori) sau **după realizarea unei culturi celulare** din sânge periferic\*, limfocite T, măduvă osoasă roșie, fibroblaști (piele, fascii, embrioni), celule amniotice, celule din vilozitățile coriale, tumori solide.

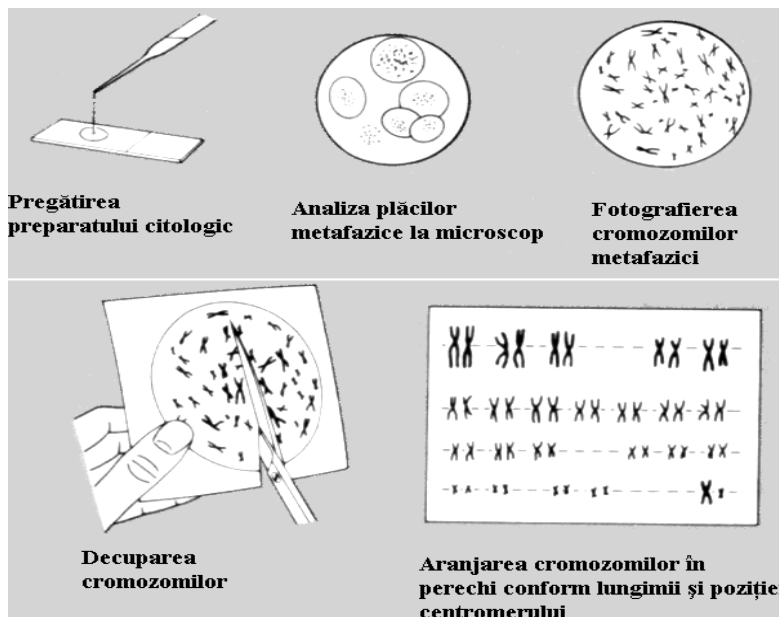
\* Tehnica recoltării sângelui periferic și punerea acestuia în cultură (constituie cea mai simplă tehnică de obținere a cromozomilor umani):

- se prelevă sânge periferic prin puncție venoasă (în condiții de asepsie);
- se recoltează pe heparină, pentru a se împiedica coagularea sângelui;
- în condiții de asepsie, sângele este introdus într-un flacon ce conține un mediu de cultură specific, îmbogățit cu ser fetal bovin sau ser uman AB;
- pentru stimularea diviziunilor se utilizează *fitohemaglutinina*;
- se incubează la 37°C, timp de 72 ore.

(2) **Blocarea diviziunilor în metafază** se face cu substanțe care inhibă formarea fusului de diviziune (citostatice) – *colchicină sau colcemida*.

(3) **Realizarea preparatelor (lamelor) pentru studiul la microscop** impune următoarele etape:

- *hipotonizarea celulelor* pentru *dilatarea celulelor și dispersarea cromozomilor* (centrifugare, eliminarea supernatantului și resuspendare în soluție hipotonică de KCl);
- *fixarea celulelor* pentru a întrerupe activitatea vitală a celulei, păstrând morfologia cromozomilor (alcool + acid acetic);
- *colorarea* cu soluție Giemsa sau un alt colorant specific pentru cromozomi;
- *examinarea la microscopul optic*, ce permite analiza cromozomilor pentru evidențierea eventualelor *anomalii de număr (omogene sau în mozaic)* sau *anomalii de structură*;
- *fotografierea plăcilor metafazice din frotiu și decuparea cromozomilor*;
- *identificarea cromozomilor și efectuarea cariogramei (idiogramei)*.



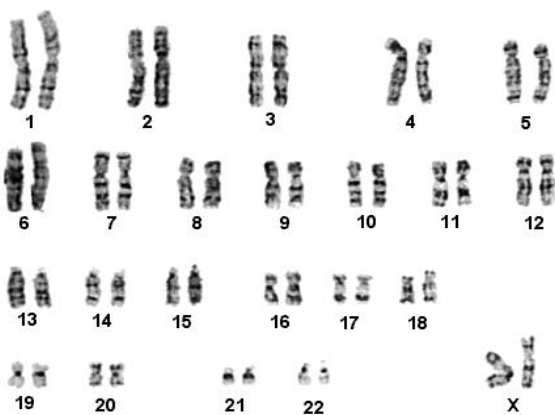
Realizarea cariogramei din preparate citologice



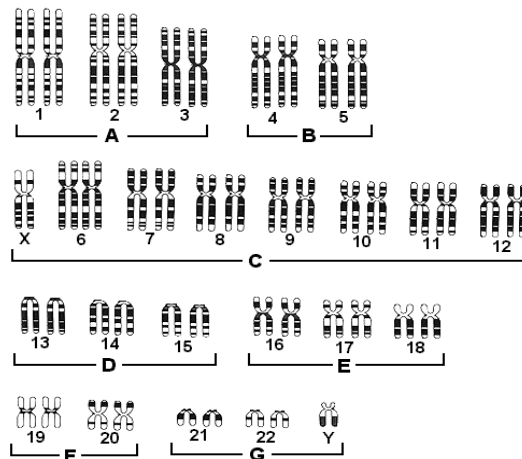
Cromozomi metafazici umani colorați cu colorantul Giemsa (colorare uniformă)

## MARCAJUL ÎN BENZI AL CROMOZOMILOR

Există un grup de tehnici speciale, prin care se evidențiază în lungul cromatidelor alternanța de zone colorate și necolorate, numite **benzi**. Acestea au o **distribuție precisă, determinată de structura internă a cromozomului**.



Cariotipul uman normal obținut prin colorare diferențiată G a cromozomilor unei celule somatice (46,XX)



Schema cariotipului uman (46,XY) pe baza colorării în benzi G a cromozomilor metafazici

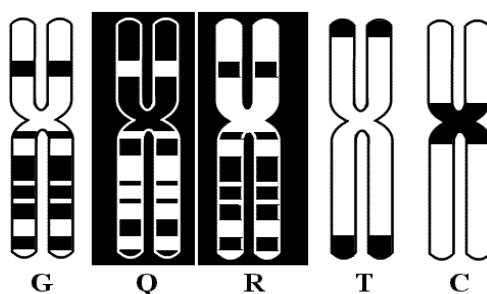
Metodele de marcaj în benzi au apărut relativ recent, în anii '70, și au determinat o revoluție în citogenetică, deoarece **au o mare valoare practică**:

- marcajul în benzi reflectă *structura discontinuă a cromozomilor*, respectiv alternanța de eucromatină și heterocromatină, de secvențe de ADN bogate în AT sau GC, de segmente de cromatină cu concentrație diferită de proteine histone și proteine nehistone;
- modelul benzilor este *identic* în toate celulele unui organism și la toți indivizii aceleiași specii, de aceea efectuarea marcajului în benzi permite identificarea precisă a unei specii;
- marcajul în benzi permite *identificarea precisă a perechilor de cromozomi omologi*, deoarece acestea sunt la fel din punct de vedere genetic și au același model de benzi;
- marcajul în benzi permite *identificarea precisă a fiecărui cromozom*, deoarece cromozomii, aparținând unor perechi diferite, au alte gene și deci alt model al benzilor;
- metodele de marcaj în benzi permit un *diagnostic citogenetic foarte precis* în multe anomalii de structură (deleții, inversii) care nu se evidențiază sau se evidențiază foarte greu în colorația obișnuită.

În consecință, utilizând diverse tehnici de colorare a cromozomilor se obțin benzi colorate (pozitive) și necolorate (negative) stabile și caracteristice fiecărui cromozom. Diferite tehnici (G,Q,R,T,C) determină o dispoziție specifică a benzilor.

### Caracteristica diferitor tehnici de bandare a cromozomilor

Tehnica de analiză a cromozomilor	Colorantul utilizat	Originea benzilor	Rolul practic
<b>Metoda G</b>	Giemsa	Benzi pozitive – heterocromatină; Benzi negative – eucromatină.	Identificarea anomaliilor de număr și de structură a cromozomilor
<b>Metoda Q</b>	Quinacrina (fluorescent)	Benzi pozitive – heterocromatină; Benzi negative – eucromatină.	Identificarea anomaliilor de număr și de structură a cromozomilor
<b>Metoda R (revers)</b>	Giemsa sau coloranți fluorescenți	Benzi pozitive – eucromatină; Benzi negative – heterocromatină.	Identificarea anomaliilor de număr și de structură a cromozomilor
<b>Metoda C (centromerică)</b>	Giemsa sau coloranți fluorescenți	Benzi pozitive – heterocromatina pericentromerică	Analiza polimorfismului cromozomial
<b>Metoda T (telomerică)</b>	Giemsa sau coloranți fluorescenți	Benzi pozitive – heterocromatina telomerică	Analiza polimorfismului cromozomial



Dispunerea benzilor cromozomiale obținute prin diferite tehnici de colorare (cromozomul X)

## TEHNICI DE CITOGENETICĂ MOLECULARĂ

Pe baza metodelor de analiză moleculară a acizilor nucleici au fost elaborate o serie de tehnici noi de analiză a cromozomilor interfazici, ce se caracterizează printr-o specificitate și precizie înaltă – *metode de hibridizare in situ (FISH, CGH, SKY)*.

**Metoda FISH (fluorescent in situ hybridization)** este bazată pe următoarele principii:

- i. se utilizează sonde moleculare marcate fluorescent, care sunt complementare unor secvențe nucleotidice specifice ale unui cromozom sau fragment de cromozom;
- ii. în preparatul microscopic *in situ*, supus unui tratament alcalin, ADN-ul cromozomial denaturează prin ruperea legăturilor de hidrogen dintre cele două catene ale moleculei de ADN;
- iii. la adăugarea sondei în preparat are loc legarea ei complementară la secvența specifică a cromozomului - *hibridizarea*;
- iv. ulterior, preparatul este prelucrat cu o substanță ce se leagă selectiv de biotină sau de digoxigenină: pentru biotină este specifică streptavidina, iar pentru digoxigenină sunt

anticorpii antidigoxigeninici; la aceste substanțe se pot adăuga unul sau mai mulți coloranți fluorescenți;

v. cromozomii colorați se vizualizează la microscop pe fondul cromozomilor necolorați.

**Tehnica FISH se utilizează** pentru evidențierea:

- cromozomilor supranumerari;
- anomaliilor cromozomice de structură;
- rearanjamentelor intercromozomiale complicate;
- microdelețiilor și microduplicațiilor cromozomice;
- localizării genelor.

Această tehnică este precisă, rapidă și economă de aceea este tot mai larg utilizată în diagnosticul anomaliilor congenitale, sindroamelor monogenice, diagnosticul prenatal.

**CGH (comparative genome hybridization).** Această tehnică este utilizată în citogenetica oncologică pentru determinarea regiunilor cromozomiale deletate sau amplificate într-un anumit tip de cancer. Regiunile deletate, de regulă, conțin gene supresoare de tumori, iar cele amplificate – oncogene. Astfel, metoda este utilizată pentru cartarea și clonarea genelor implicate în cancerogeneză.

Metoda **CGH** constă în următoarele: se extrage ADN-ul dintr-o tumoră și dintr-un țesut normal; ADN-ul din tumoră și din țesutul normal se marchează cu diferiți fluorocromi; ADN-ul marcat (și din tumoră, și din țesutul normal) este hibridizat cu preparatul cromozomic obținut din tumoră; se determină regiunile cu deleții sau cu amplificări după intensitatea markerilor. Analiza rezultatelor este efectuată utilizând programe speciale computerizate.

**SKY (spectral karyotyping) – analiza spectroscopică a cromozomilor.** Această tehnică se bazează pe utilizarea unui set de sonde fluorescente cu coloranți diferiți. Fiecare sondă specifică un anumit segment cromozomic. Fiecare pereche cromozomială are parametri spectrali unici. Utilizându-se interferometrul, analogic aparatelor utilizate în măsurarea spectrului obiectelor astronomice, este posibilă depistarea unor variații minore în componența spectrală a cromozomului, invizibile ochiului. Computerul analizează datele interferometrului și grație unei programe speciale indică pentru fiecare pereche de cromozomi culori anumite. Avantajul acestei metode constă într-o individualizare mult mai precisă a cromozomilor, datorită culorii lor specifice; depistarea unor translocării ce sunt greu de depistat prin alte metode citogenetice. Se utilizează în oncocitogenetică pentru depistarea aberațiilor cromozomice ce se produc la nivel de tumoare, chiar și a unor rearanjamente ce implică fragmente cromozomice foarte scurte.

## NOMENCLATURA CROMOZOMILOR UMANI

Există un sistem internațional de standardizare, care permite formularea cariotipului normal sau anormal cu ajutorul unor simboluri și semne, ce redau numărul de cromozomi și eventualele anomalii de structură - deficit, surplus sau rearanjamente ale materialului cromozomic.

În cazul **cariotipului normal** se scrie numărul total de cromozomi urmat de o virgulă, după care se scrie structura gonosomilor:

- **cariotip feminin normal - 46,XX**
- **cariotip masculin normal - 46,XY.**

**Cariotipurile anormale** pot caracteriza anomaliile cromozomiale numerice sau anomaliile structurale:

- anomalii ale *autosomilor* – numărul total de cromozomi, virgula, gonosomii, iar după o altă virgulă, precedat de + (cromozom suplimentar) sau - (lipsa unui cromozom) se scrie



numărul cromozomului implicat (de ex.: 47, XX, +21 (trisomia 21); 47,XY,+13 (trisomia 13); 45,XX,-8 (monosomia 8); etc.;

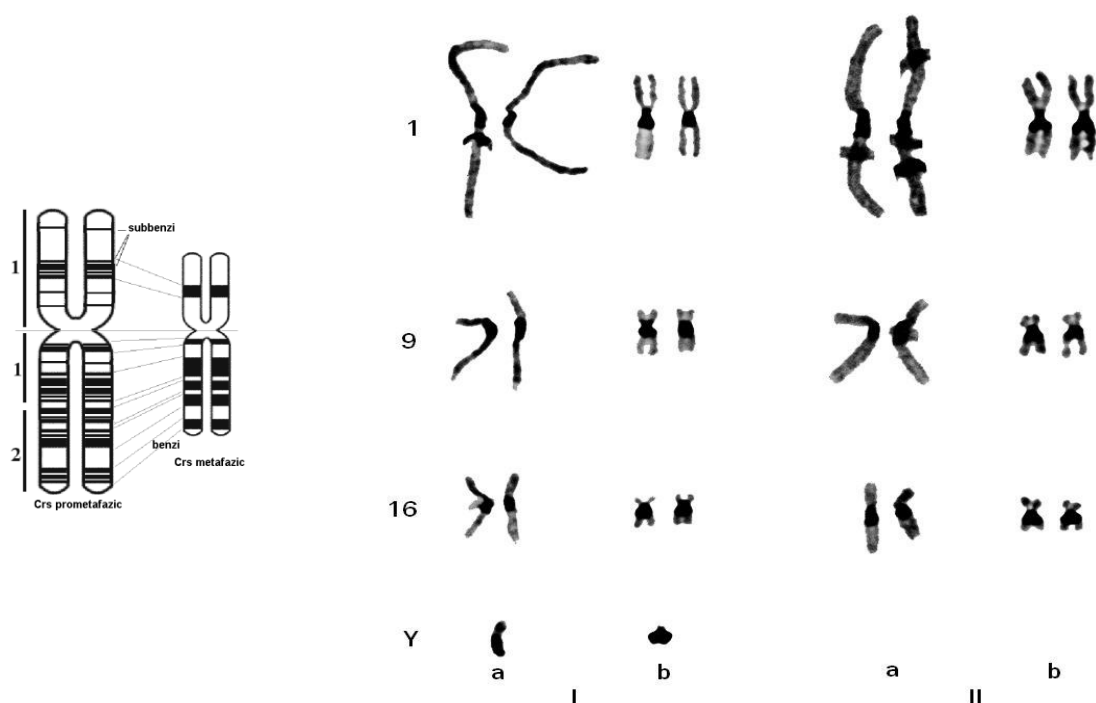
- anomalii ale *gonosomilor* – se scrie numărul total de cromozomi, urmat după virgulă de gonosomii respectivi (de ex.: 45,X (monosomia X); 47,XXY (disomia X); 47,XXX (trisomia X)).

În rezultatul colorării diferențiate pe fiecare cromozom se pot observa o serie de repere, elemente importante pentru identificarea unui cromozom:

- benzi net conturate,
- centromerul,
- telomerele.

Dea lungul brațelor cromozomilor sunt delimitate regiuni. Fiecare regiune are mai multe benzi, iar benzile pot avea subbenzi.

Cromozomii metafazici prezintă 400 - 500 benzi, în timp ce cromozomii aflați în profaza timpurie prezintă 1800-2000 benzi (metode de înaltă rezoluție).



Aspectul crs prometafazici vs crs metafazici

**Nomenclatura benzilor:** regiunile și benzile se numerează de la centromer spre telomere pentru fiecare din brațe; ex: 7q12 - cromozomul (7), brațul distal (q), regiunea (1), banda (2).

Pentru desemnarea anomaliilor cromozomiale structurale se indică natura rearanjamentului și punctele de ruptură, identificate prin banda și regiunea în care se produc. Exemple:

- 46,XX,del(1)(q21q31) - cariotip feminin cu deleția unui fragment a brațului distal al cromozomului 1 de la regiunea 2, banda 2 până la regiunea 3, banda 1.
- 46,XY,r(2)(p21q31) - cromozomul 2 inelar; punctele de ruptură sunt pe brațul proximal în regiunea 2 banda 1 și pe brațul distal în regiunea 3 banda 1.
- 46,XX,inv(2)(p21q31) - inversie pericentrică a segmentului cuprins între regiunea 2 banda 1, brațul proximal și regiunea 3 banda 1, brațul distal ale cromozomului 2.
- 46,X,i(Xq) - isocromozom de brațe distale al cromozomului X;
- 46,X,del(X)(q12.1-q24.3) – deleția unui segment din crs X, de pe brațul distal, de la regiunea 1 banda 2 subbanda 1 pînă la regiunea 2 banda 4 subbanda 3.

### Simboluri folosite în descrierea cariotipului (standarde internaționale)

Simboluri	Semnificația simbolului
A-G	Grupele de cromozomi
1-22	Numerele cromozomilor autosomi
X, Y	Gonosomii (cromozomii sexuali)
/	Mozaicism cromozomial
p	Braț proximal, scurt
q	Braț distal, lung
pter	Capătul brațului proximal
qter	Capătul brațului distal
cen	centromer
del	Deleție, pierderea unui fragment cromozomic
der	Cromozom derivat printr-un rearanjament cromozomial
dup	Duplicație, dublarea unui fragment cromozomic
dic	Cromozom dicentric, cu doi centromeri
fra	Situs fragil
i	Izocromozom, cu brațe identice p sau q
ins	Insertia unui fragment cromozomic
inv	Inversia unui fragment cromozomic
mat	Origine maternă
pat	Origine paternă
r	Cromozom inelar ( <i>ring</i> )
t	Translocația unui fragment cromozomic pe alt cromozom neomolog
upd	Disomie uniparentală
::	Rupere cu reunire
+	Înainte numărului unui cromozom – adăugarea cromozomului întreg, după numărul unui cromozom – adăugarea unei părți de cromozom
-	Înainte numărului unui cromozom – pierderea cromozomului întreg, după numărul unui cromozom – pierderea unei părți de cromozom

### VARIAȚII ALE CARIOTIPULUI LA PERSOANE CU FENOTIP NORMAL

Există uneori o serie de abateri de la regulile generale stabilite, care determină unele variante (variații) particulare rare, dar care nu reprezintă anomalii cromozomice.

#### Variații numerice:

- **la femeie** - după vârsta de 60 ani, până la 7% din celulele organismului pot pierde unul din cromozomii X, devenind 45,X;
- **la bărbat** - după vârsta de 70 ani, până la 2% din celule pot pierde cromozomul Y și devin 45,X.

#### Variații structurale în heterocromatină:

- **lungimea și forma** cromozomilor omologi poate varia; variațiile în lungime interesează în special brațele scurte ale cromozomilor D, G.
- **sateliții** se găsesc obișnuit în cromozomii acrocentrici, cu excepția cromozomului Y, dar pot fi observați și pe alți cromozomi; pot prezenta o mare variabilitate în formă și mărime.
- **constricțiile secundare** care reprezintă zone decondensate, situate în regiunile proximale ale brațelor lungi ale cromozomilor 1, 9, 16 și Y; uneori pot prezenta o mărire exagerată a constricțiilor secundare (46, XX, 1qh+; 46, XY, 1qh+...).

**Polimorfismele de bandare** (benzile Q, G și C) sunt reprezentate de diferențe în ceea ce privește mărimea și aspectul unor zone cromozomice; cel mai frecvent, polimorfismele implică regiunile centromerice, brațele scurte și sateliții cromozomilor D și G, zona de constricție secundară de pe brațul lung al cromozomului Y.

**Semnificația polimorfismului:** polimorfismul se transmite dominant după modelul mendelian, **nu modifică expresia fenotipică deoarece pare limitat numai la regiunile heterocromatiniene, inactive genetic** (produce modificări cantitative ale *ADN repetitiv*).

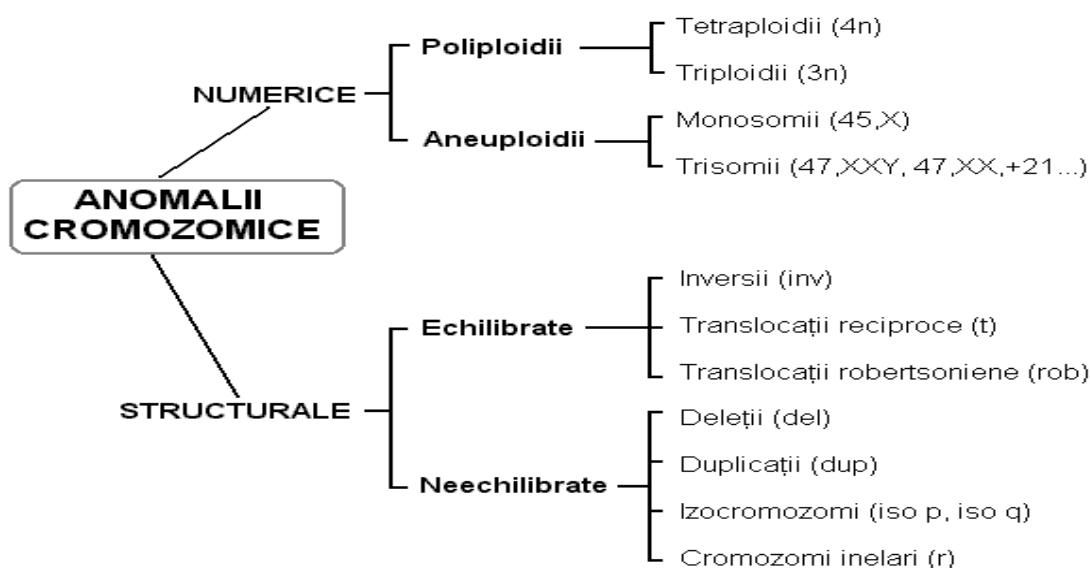
Polimorfismul cromozomic este utilizat:

- ca marker pentru evidențierea transmiterii unor caractere de la părinți la copii (de ex.: cercetarea paternității);
- pentru determinarea originii parentale a nedisjunției în aneuploidii (de ex.: originea cromozomilor suplimentari în trisomii);
- pentru identificarea cromozomilor care conțin gene marker pentru unele patologii monogenice;
- stabilirea unor grupe de înlănțuire (linkage) genică;
- evaluarea frecvenței unor polimorfisme în unele forme de leucemii și la copiii cu anomalii congenitale.

## CURS 5

### ANOMALII CROMOZOMICE

**Anomaliile cromozomice** reprezintă modificări ale numărului cromozomilor caracteristic speciei (46 în celulele somatice umane) sau modificări structurale ale acestora. În literatură sunt întâlnite noțiunile de mutații genomice (ce explică anomaliile cromozomice de număr) și mutații sau aberații cromozomice (ce se referă la anomaliile de structură). Anomaliile cromozomice numerice afectează întregul cromozom și cele **structurale** implică rearanjamente ale structurii cromozomilor.



Clasificarea anomaliilor cromozomice

Factori posibili ce produc anomaliile cromozomice ar putea fi:

- factori care dereglează mitoză sau pot produce rupturi ale ADN-ului sau alterează replicarea:
  - factori chimici: citostatice, antimetaboliți, radicali liberi, agenții alchilanți;
  - factori fizici: radiațiile ionizante;
  - factori biologici: virusuri;
- vârsta maternă avansată, care sporește riscul erorilor în segregarea cromozomilor în meioză și a aneuploidiiilor la descendenți;
- unul din părinți este purtător de anomalie congenitală echilibrată (translocație, inversie);
- rearanjările intercromozomice prin *crossing-over* inegal sau erori de recombinare.

### ANOMALIILE CROMOZOMICE DE STRUCTURĂ

Anomaliile cromozomice structurale pot fi clasificate în funcție de efectul fenotipic și de mecanismul de producere.

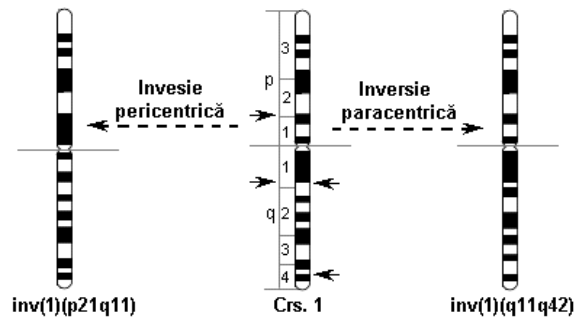
Pe baza efectului fenotipic, anomaliile cromozomice structurale se împart în: **echilibrate** (inversiile și translocațiile), care nu modifică fenotipul purtătorului și **neechilibrate** (delețiile, duplicațiile, etc.), care produc fenotipuri anormale.

În raport cu mecanismul de producere, anomaliile cromozomice structurale pot fi grupate în: anomaliile produse printr-o singură ruptură cromozomică (deleția terminală), anomaliile produse prin două rupturi cromozomice în același cromozom (delețiile interstițiale, inversiile, cromozomii inelari), anomaliile produse prin rupturi în cromozomi diferiți (cromozomii dicentrici, translocațiile reciproce și cele robertsoniene; inserțiile).

## ANOMALII CROMOZOMICE ECHILIBRATE

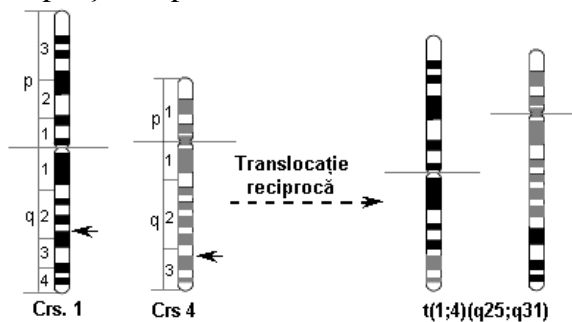
**Inversia** reprezintă o anomalie de structură, caracterizată prin modificarea ordinii genelor de pe un fragment cromozomic. Mecanismul de producere constă în ruperea unui cromozom în două puncte și rotirea cu  $180^\circ$  a fragmentului intermediar.

Inversiile pot fi de două tipuri: **pericentrice**: produse prin ruperea unui cromozom în două puncte situate pe brațe diferite, urmată de rotația cu  $180^\circ$  a fragmentului intermediar și reunirea fragmentelor; în urma acestei rotații se poate produce modificarea configurației cromozomului; **paracentrice**: produse prin ruperea unui cromozom în două puncte situate pe același braț, urmată de rotația cu  $180^\circ$  a fragmentului intermediar și reunirea fragmentelor; în urma acestei rotații nu se modifică configurația cromozomului, ci numai ordinea benzilor.

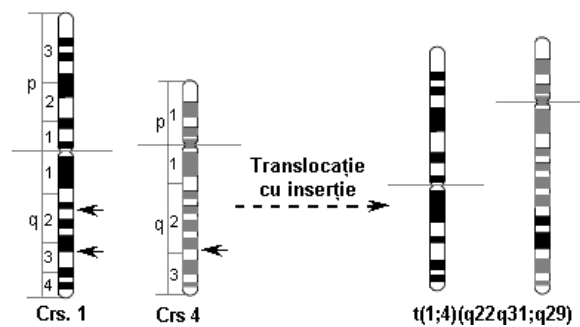


**Translocațiile** sunt anomalii de structură caracterizate prin trecerea unuia sau mai multor fragmente cromozomice de pe un cromozom pe altul, fără a determina modificări fenotipice. Translocațiile pot fi de trei tipuri:

- **reciproce** - produse prin ruperea a doi cromozomi în câte un punct, urmată de schimbul fragmentelor rupte și realipirea cromozomilor;

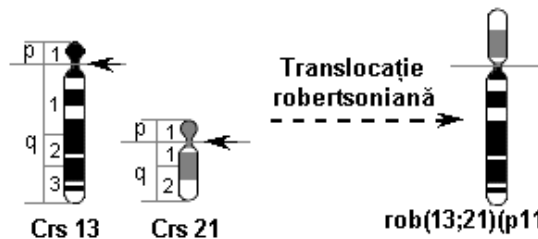


- **cu inserții** - produse prin ruperea a doi cromozomi neomologi, unul într-un punct și celălalt în două puncte de pe același braț, urmată de inserarea în punctul de ruptură al primului cromozom al fragmentului intermediar din al doilea cromozom;

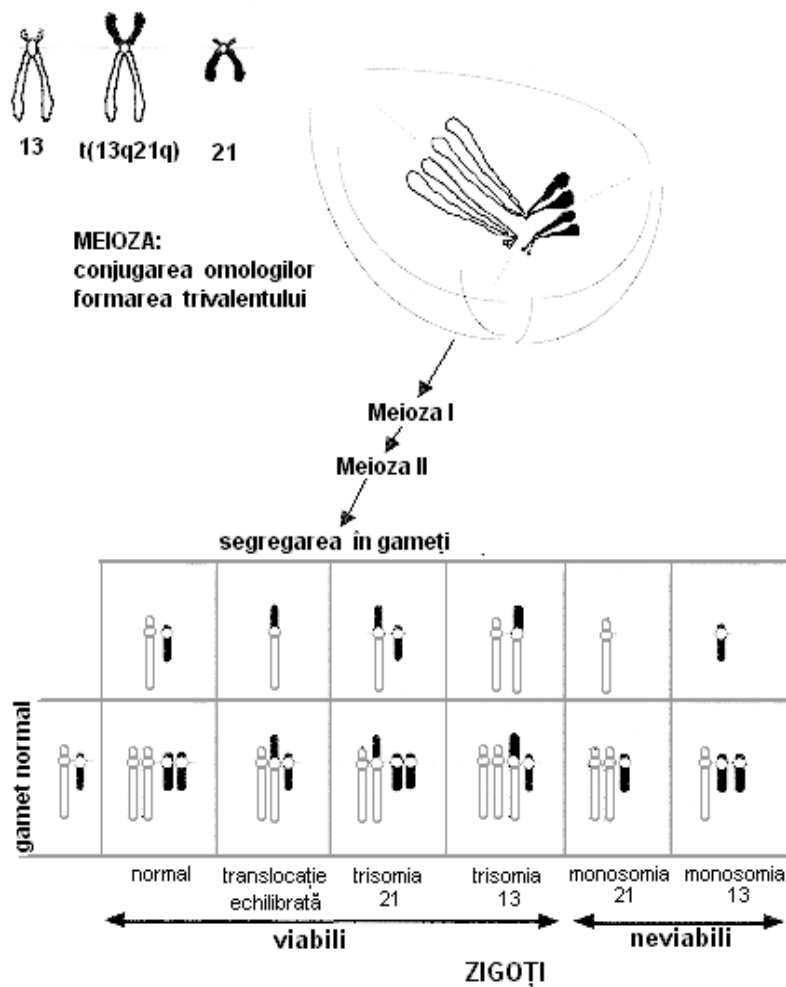


- **robertsoniene** - produse prin ruperea a doi cromozomi acrocentrici la nivelul centromerului urmată de fuziunea brațelor lungi (**fuziune centrică**) și pierderea brațelor scurte (conțin doar gene pentru

ARN ribosomal și, astfel, pierderea lor nu determină modificări fenotipice); acest tip de anomalii conduce la scăderea numărului de cromozomi de la 46 la 45.



Anomaliile cromozomice echilibrate nu modifică fenotipul individului, deoarece reprezintă rearanjări cromozomice, care nu determină modificări cantitative ale materialului genetic. Dar, purtătorul unei translocatii echilibrate, deși normal fenotipic, poate produce gameți anormali datorită erorilor de conjugare și erorilor de segregare (nedisjuncții) ale cromozomilor implicați în translocatie.



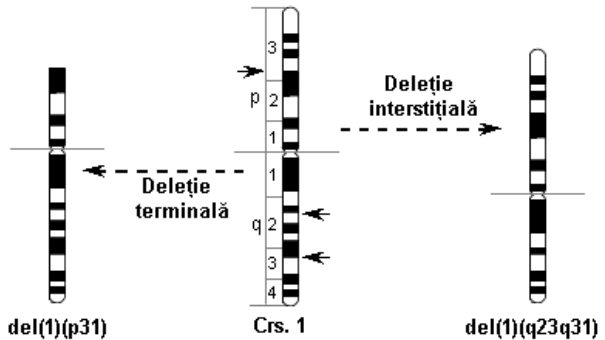
Consecințele translocăției robertsoniene t(13q21q) asupra gametogenezei

## ANOMALII CROMOZOMICE NEECHILIBRATE

**Delețiile** sunt anomalii structurale caracterizate prin pierderea unor fragmente cromozomice. Anomaliile pot fi de două tipuri:

- **terminale** - produse prin ruperea unui cromozom într-un punct, urmată de pierderea fragmentului terminal;
- **interstițiale** - produse prin ruperea unui cromozom în două puncte situate pe același braț, urmată de pierderea fragmentului intermediar.

Delețiile se pot produce și prin alte mecanisme: *crossing-over* inegal între cromozomi omologi aliniați eronat, segregarea cromozomilor anormali în cursul meiozei parentale în cazul în care unul din părinți prezintă o anomalie echilibrată. Deleția are ca efect apariția unei diferențe de lungime între cromozomii omologi.

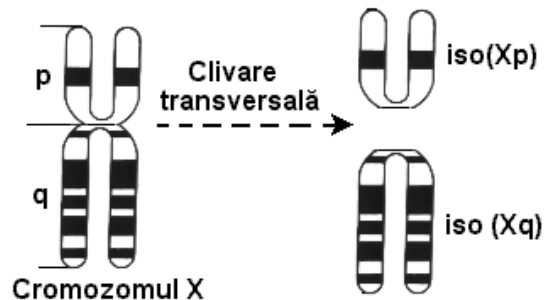


**Duplicațiile** sunt anomalii structurale caracterizate prin prezența în dublu exemplar a unui fragment cromozomic. Anomalia se poate produce prin *crossing-over* inegal și segregare anormală a cromozomilor cu translocăție.

**Cromozomii inelari** apar prin ruperea unui cromozom în două puncte situate pe brațe diferite, urmată de pierderea segmentelor terminale (acentrice) și reunirea capetelor segmentului centric într-o structură inelară.

**Izocromozomii** sunt cromozomi anormali formați fie numai din brațe scurte, fie numai din brațe lungi. Mecanismul de apariție a anomaliilor constă în clivarea transversală a centromerului.

Anomalia are ca efect apariția unui cromozom care prezintă concomitent deleția unuia din brațe și duplicația celuilalt braț.



**Cromozomii dicentrici** sunt cromozomi anormali caracterizați prin prezența în același cromozom a doi centromeri. Mecanismul de producere constă în ruperea a doi cromozomi în câte un punct, urmată de pierderea fragmentelor terminale și unirea celor două segmente cromozomice, care prezintă centromere, într-un singur cromozom.

Anomaliile cromozomice neechilibrate determină un dezechilibru cantitativ al materialului genetic (în plus sau în minus) ce se manifestă fenotipic asemănător anomaliilor numerice (trisomii parțiale sau monosomii parțiale). Trisomiile și monosomiile parțiale ale unui cromozom determină multiple caractere anormale în "*tip și contratip*" asemănătoare cu monosomiile și trisomiile totale ale aceluiași cromozom: trisomia 18 (sdr. Edwards) și monosomia parțială determinată de 18q-; trisomia 13 (sdr. Patau) și monosomia parțială determinată de r(13).

## ANOMALIILE CROMOZOMICE NUMERICE

Anomaliile numerice sunt clasificate în: **poliploidii** (prezența în plus a unor seturi haploide de cromozomi) și **aneuploidii** (prezența în plus sau absența unui cromozom întreg).

**Poliploidii**, în dependență de numărul de seturi haploide prezente în nucleul celulei somatice, pot fi: **triploidii** ( $3n$ ) -  $69,XXX$  sau  $69,XXY$  sau  $69,XYY$ ; **tetraploidii** ( $4n$ ) -  $92,XXXX$  sau  $92,XXYY$ ; etc.

**Triploidia ( $3n$ ) poate rezulta prin** fecundarea de către un gamet normal ( $n =$  haploid) a unui gamet anormal ( $2n =$  diploid); gametul diploid este rezultatul neseperării citelor de ordinul II în meioza parentală (de obicei, în cursul ovogenezei, neexpulzarea primului globul polar - **diginie**; uneori în cursul spermatogenezei - **diandrie**); prin erori în cursul fecundării: fecundarea unui ovul ( $n$ ) de către 2 spermatozoizi ( $2n$ ) - **dispermie**.

**Tetraploidia ( $4n$ )** poate fi rezultatul unei erori de clivaj în cursul primei diviziuni mitotice a zigotului și dublarea numărului de cromozomi imediat după fecundare (endomitoză) sau prin fecundarea a 2 gameți diploizi ( $2n+2n=4n$ ). Poliploidii interesează o mare cantitate de material genetic și la om sunt, de regulă, neviabile (manifestându-se prin avort în trimestrul I de sarcină sau nou-născuți morți).

**Aneuploidie** se caracterizează prin prezența în plus față de numărul diploid normal sau absența a 1-2-3 cromozomi. Majoritatea aneuploidiilor sunt consecința unor erori de segregare cromozomică sau cromatidiană în cursul diviziunii celulare, numite **nedisjunții**. În cazul nedisjunțiilor numărul de cromozomi din celulele fiice nu este egal. Aceste anomalii se pot produce în meioza I, meioza II sau în mitoză. Rareori, gameții nulisomici, iar apoi embrionii monosomici, pot rezulta datorită pierderii cromozomilor printr-o **întârziere anafazică** la nivelul plăcii ecuatoriale.

**Aneuploidiile omogene** sunt rezultatul fecundării unui gamet normal de către un gamet aneuploid produs prin erori de distribuție a materialului genetic în cursul meiozei parentale.

**Aneuploidiile în mozaic** sunt rezultatul erorilor de distribuție a materialului genetic în cursul mitozei (de obicei, diviziunile de segmentare ale primelor stadii embrionare).

### CLASIFICAREA ANEUPLOIDIILOR:

a) după surplus sau lipsă de cromozomi:

- **monosomie** ( $2n-1$ ) - absența unui cromozom;
- **trisomie** ( $2n+1$ ) - prezența unui cromozom supranumerar;

b) după tipul cromozomului implicat:

- **aneuploidii autozomale**
- **aneuploidii gonozomale**

c) după numărul de celule afectate:

- **anomalii omogene** (prezența anomaliei în toate celulele organismului);
- **anomalii în mozaic** (prezența unor linii celulare anormale și normale în același organism);

d) după asocierea sau lipsa acestora cu anomaliile de structură:

- **anomalii libere** - fără anomalii cromozomice structurale;
- **anomalii prin translocăție** - prezența în plus a unor cromozomi atașați la alții fără modificarea numărului diploid normal, sau falsa absență a unui cromozom ca urmare a



fuzionării cu un altul. Uneori termenul se folosește referitor la orice modificare cantitativă a materialului genetic, inclusiv la anomaliile congenitale structurale:

- **anomalii complete** – prezența în plus sau lipsa unui cromozom în întregime;
- **anomalii parțiale** – prezența în plus sau lipsa unui segment cromozomic.

Efectele și gravitatea anomaliilor cromozomice cantitative depind de:

- **tipul de anomalie și mărimea dezechilibrului genetic** - cu cât defectul cantitativ este mai mare, cu atât consecințele sunt mai grave; deficitul are consecințe mai grave decât excesul;
- **conținutul genic și activitatea cromozomului implicat** – de ex., trisomia 1 nu este viabilă, trisomia 21 - da.
- **tipul și numărul de celule afectate** - afectarea celulelor somatice duce la modificarea fenotipului individului; afectarea celulelor sexuale duce la apariția tulburărilor de reproducere.

Monosomiile sunt mai grave decât trisomiile. Singura monosomie viabilă la specia umană este **monosomia X**; monosomiile autozomale, Y și 98% din zigotii cu monosomie X se elimină ca produși de avort, în trimestrul I de sarcină.

Trisomiile cromozomilor mari, activi genetic, sunt neviabile, producând avort în trimestrul I de sarcină sau nou-născuți morți. Viabile pot fi trisomiile 8, 13, 18, 21, fiind responsabile de multiple anomalii de dezvoltare (sindroame):

- sindromul trisomiei 8 - 47, XX (XY), +8;
- sindromul Patau - 47, XX (XY), +13;
- sindromul Edwards - 47, XX (XY), +18;
- sindromul Down - 47, XX (XY), +21.

Anomaliile cromozomice viabile (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.

## INDICAȚIILE ANALIZEI CROMOZOMILOR UMANI

**Analiza cariotipului prin diverse tehnici de colorare a cromozomilor metafazici sau prometafazici, utilizând tehnici de citogenetică moleculară (FISH) este indicată în următoarele situații:**

- (1) Copiii cu **anomalii congenitale multiple** (minore/majore) ± asociate cu:
  - tulburări de creștere prenatală,
  - întârziere în dezvoltarea psiho-motorie postnatală,
  - anamneza familială – tulburări de reproducere.
- (2) **Debilități mintale** (indiferent de grad) de cauze nedeterminate și/sau **tulburări de comportament** ± asociate cu:
  - dismorfie facială,
  - anamneză familială pozitivă ( teste pentru X fragil).
- (3) Dacă în situațiile (1),(2) se identifică o **anomalie de structură neechilibrată** (monosomie sau trisomie parțială) se va studia **cariotipul**
  - **părinților** (anomalie cromozomială echilibrată);
  - **rudelor gr.I**
- (4) **Stări intersexuale**, pentru stabilirea sexului genetic (XX sau XY) sau anomaliilor cromozomilor sexuali.
- (5) **Tulburări de dezvoltare pubertară** ± semne de disgenezie gonadică:
  - **spermogramă anormală** (azo- sau oligospermie)

- **amenoree primară** sau amenoree secundară precoce.
- (6) **Cupluri cu tulburări de reproducere** ( $\geq 2$  avorturi spontane și/sau nou-născuți morți/vii plurimalformați; 5% din cazuri se identifică anomalii cromozomiale echilibrată la unul dintre partenerii).
- (7) **Hemopatiile maligne**, mai rar în tumorile solide, pentru diagnostic pozitiv și diferențial, prognostic sau urmărirea evoluției tratamentului.
- (8) **Sindroame cu instabilitate cromozomică** (sindromul Bloom, anemia Fanconi, sindromul Nijmegen, sindromul ICF ș.a).
- (9) **Depistarea efectului mutagen** al expunerii profesionale sau accidentale la radiații ionizante și unele substanțe chimice (clastogene).
- (10) În **DIAGNOSTICUL PRENATAL**, studiul cromozomilor în celulele fetale este indicat la femeile gravide:
  - peste **35 de ani**;
  - unul din părinți are o **anomalie cromozomică echilibrată**;
  - **copil cu o anomalie cromozomică de novo** (deși cariotipul părinților este normal este posibil un mozaicism gonadic prenatal);
  - semne ecografice de alarmă sau **testele de screening** biochimic (triplu test) pentru sindromul Down sunt **pozitive**;
  - pentru stabilirea **sexului genetic**, în cazul mamei purtătoare de mutații recesive gonosomale –  $X^N X^a$  (în care se îmbolnăvesc numai  $\frac{1}{2}$  din băieți) și nu există o metodă de diagnostic prenatal specific.

## CURS

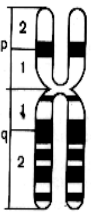
### PARTICULARITĂȚILE CROMOZOMILOR X și Y

Gonosomii provin dintr-o pereche de autosomi, care în procesul evoluției s-au diferențiat genetic și morfologic, formând cei doi cromozomi X și Y. Acest proces s-a realizat prin „specializarea” progresivă a cromozomului Y, care a păstrat genele determinismului sexual și a pierdut aproape toate genele somatice, devenind mult mai mic ca cromozomul X, care a conservat forma originală păstrând atât genele de sexualizare, cât și cele somatice. Diferențierea celor doi gonosomi a fost necesară pentru:

- a împiedica schimbul de gene între cromozomul X și Y în meioză și permite conservarea pură a determinanților sexuali specifici fiecărui cromozom;
- a asigura ulterior obținerea unor zigoți cu sexe genetic distincte – XX sau XY.

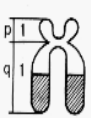
Cromozomii de sex (gonozomi, heterozomi) se deosebesc atât după structură (dimensiuni, poziția centromerului, cantitatea de heterocromatină), cât și după conținutul de gene.

**Cromozomul X** - este un cromozom submetacentric mediu (Grupa C). Este prezent în celulele somatice la indivizii de ambele sexe: în dublu exemplar la femeile cu cariotip 46,XX și într-un singur exemplar la bărbații cu cariotip 46,XY; este prezent într-un singur exemplar în ovule circa 1606 gene:



- gene structurale pentru caractere somatice (de ex., grupa sanguină Xg, factorii VIII și IX de coagulare, enzima glucozo-6-fosfat dehidrogenaza, vederea cromatică etc.);
- gene reglatoare feminizante;
- gene structurale feminizante;
- gene structurale masculinizante.

**Cromozomul Y** – este un cromozom acrocentric mic (Grupa G), 2/3 din brațul q este inactiv genetic, fiind heterocromatinizat. Este prezent într-un singur exemplar în celulele somatice ale indivizilor de sex masculin cu cariotip 46,XY și în 50% din spermatozoizi. Cromozomul Y conține circa 397 gene:



- gene reglatoare masculinizante (SRY = Tdf);
- gene care asigură fertilitatea (AZF1, AZF2);
- gene structurale somatice (factorul de control al creșterii dinților, receptor interleukină);
- pseudogene (actină, Xg).

Deoarece genomul feminin conține doi cromozomi X, iar cel masculin un singur cromozom X, produșii genelor localizate pe cromozomii X ar trebui să fie într-o cantitate dublă la femeie față de bărbat. Acest lucru însă nu se întâmplă datorită inactivării unui cromozom X la femeile normale și a cromozomilor X suplimentari la indivizii ce se abat de la normal, fapt ce determină să rămână în stare funcțională un singur cromozom X la ambele sexe, fenomen denumit **compensație de doză a genelor X-linkate**.

**Ipoteza** existenței unui asemenea mecanism a fost formulată în 1961 de **Mary Lyon** și cuprinde **trei postulate**:

- În celulele somatice este activ un singur cromozom X, restul fiind inactivați și nedisponibili pentru transcripție. Procesul de inactivare este un proces de heterocromatinizare: cromozomul X inactivat este puternic condensat și vizibil în interfază sub forma corpusculului Barr; replicarea lui se produce la sfârșitul perioadei S.
- Inactivarea se produce la începutul vieții intrauterine, înainte de implantarea blastocistului (la ziua a 16-18, la etapa de ~3000-4000 celule). Până la acest moment ambii cromozomi X sunt activi (se sintetizează ARNm, enzime); embrionii 46,XX și 46,XY sunt biochimic și funcțional

diferiți; inactivarea unui din cromozomii X, odată apărută, rămâne definitivă la toți descendenții celei.

- iii. Inactivarea cromozomului X-matern sau X-patern are un caracter întâmplător și independent în fiecare celulă. Deci fiecare femeie normală este un „mozaic” de celule somatice, unele având activ X-ul matern, altele X-ul patern.

### Consecințele genetice ale inactivării cromozomului X

#### 1. Compensarea dozajului genic X-linkat. Dacă un X este inactivat:

- cantitatea totală a produșilor genelor X va fi aceeași la ambele sexe;
- procesul de inactivare a crs X nu este întotdeauna complet și perfect;
- în aneuploidiile X
  - o femeile 45,X0 și bărbații XXY manifestă fenotipuri anormale;
  - o s-a observat că fenotipul unui individ este cu atât mai anormal, cu cât sunt prezenți mai mulți cromozomi X.

**2. Variabilitatea expresiei la femeile heterozigote.** Femeile heterozigote pentru gene X-linkate au o variabilitate considerabilă în expresia fenotipică, deoarece inactivarea cromozomului X este întâmplătoare și ca urmare proporția celulelor în care o alelă oarecare este inactivă va fi variabilă (de la 0%- 100%). Dacă alela mutantă este funcțională într-o majoritate a celulelor organismului, heterozigoții feminini pot manifesta tulburarea („heterozigotul care se manifestă” sau „Layonizare defavorabilă”). Exemple de boli: deficitul de G-6-PD, daltonismul, hemofilia, distrofia musculară Duchenne.

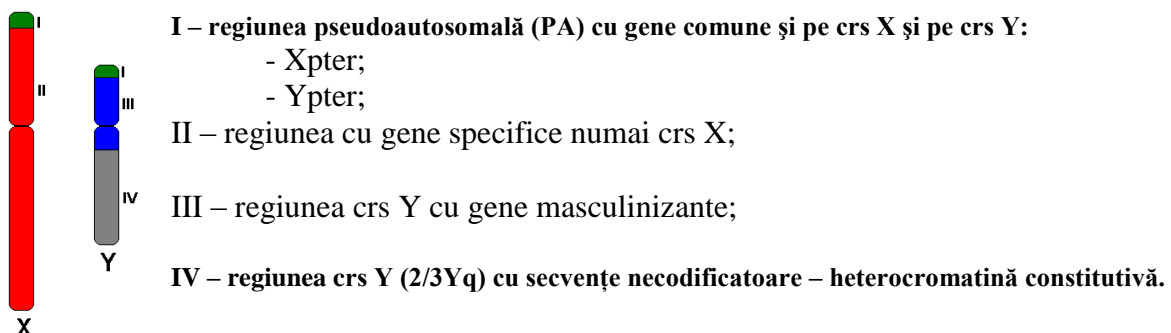
**3. Mozaicismul.** Femeile prezintă un mozaicism pentru genele X-linkate și au deci două populații de celule, una cu X- matern activ, alta cu X- patern activ. La om fenomenul de mozaicism a fost evidențiat în cazul femeilor heterozigote pentru:

- formă rară de albinism X-linkat, la care la fundul ochiului s-au depistat pete de celule pigmentate și nepigmentate.
- gena ce codifică G-6-PD, aceasta prezintă 2 alele care produc două forme distincte ale enzimei. La femeile heterozigote s-au izolat celule de piele în cultură și s-a demonstrat că descendenții unei celule produc un singur tip de enzimă.

### MECANISME MOLECULARE IMPLICATE ÎN LYONIZARE

Au fost semnalate gene care rămân funcțional-actieve pe cromozomul X inactivat. O explicație a acestui fenomen ar fi faptul că o parte din ele au gene omoloage pe cromozomul Y, de aceea nu necesită compensarea dozei. Genele din regiunea pseudoautosomală (PAR), cu o extindere de 2Mb, cuprinsă între Xp22- pter sunt:

- gena STS, care codifică steroid-sulfataza;
- gena MIC-2, din vecinătatea regiunii pseudoautosomale;
- genele DXS, U23E, UBEI din regiunea proximală a brațului scurt;
- gena RPS4X care codifică proteinele ribozomale S4 din regiunea proximală a brațului lung.



Cercetările de biologie moleculară au identificat pe cromozomul X un segment - (q13), implicat în inactivare, denumit centru de inactivare a cromozomului X (XIC). La acest nivel se găsește gena XIST, care este o genă atipică - a pierdut potențialul de codificare proteică. Ea codifică o moleculă de ARN de circa 17 Kb care rămâne asociată cu cromozomul inactivat genetic.

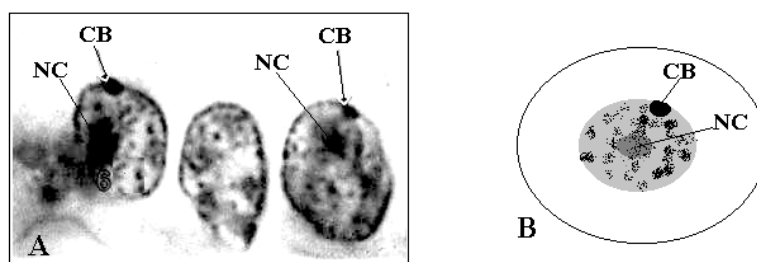
*Prin experiențe* de transgeneză s-a constatat că gena XIST integrată într-un autosom este capabilă să declanșeze procesul de inactivare cromozomială și formarea heterocromatinei. Prin metoda FISH s-a constatat că molecula de ARN- XIST se localizează pe autosomul în care s-a integrat gena și antrenează inactivarea „in cis” a genelor autozomale. De asemenea s-a constatat ca autosomul în care este integrată gena XIST este hipoacetilat la nivelul histonei H4 și are loc formarea unui tip nou de histone- macroH2A1. Alte cercetări relevă că mecanismul de inactivare depinde de stabilitatea moleculei de ARN-XIST pe cromozomul X inactivat. Forma stabilă și instabilă de ARN se transcrie de pe promotori diferiți ale aceleași gene. Reglarea expresiei genei XIST poate fi explicată pe baza fenomenului de amprentare genomică. **Amprentarea genomică** (sau *imprinting*-ul parental) reprezintă represarea permanentă, dependentă de originea parentală, a activității transcripționale a uneia din cele două copii ale unei gene din perechea de alele; sunt modificări suferite de gene în cursul gametogenezei și/sau embriogenezei precoce și reprezintă un mecanism de reglare a expresiei fenotipice a unor gene.

## TESTUL CROMATINEI X

Cromatina X reprezintă un cromocentru vizibil, în mod normal, în nucleii interfazici ai celulelor aparținând sexului feminin; ea rezultă prin heterocromatinizarea unuia dintre cei doi cromozomi X. Originea și semnificația cromatinei X a fost explicată de Mary Lyon (1961).

Studiul celulelor interfazice din orice țesut provenit de la organismul feminin normal permite identificarea cromatinei sexuale X. Tehnicile uzuale folosesc frotiul din celulele mucoasei bucale (**testul Barr**) și frotiul din sânge periferic. Evaluarea acestor teste presupune stabilirea numărului cromozomilor X în corelație cu numărul de corpusculi de heterocromatină X.

Corpusculul Barr reprezintă un cromozom X heterocromatinizat, puternic condensat și intens colorat bazofil. Este situat cel mai frecvent periferic, lipit de fața internă a membranei nucleare (intranuclear) și are o formă ovală, plan convexă, discoidală sau triunghiulară. **Mărimea medie** este de 1 micron ( $\pm 0,3$ ). Când corpusculul Barr este situat central trebuie diferențiat de cromocentri nespecifici sau de nucleol, care se prezintă ca o formațiune rotundă, cu dimensiuni mai mari, ce se colorează în brun-cărămiziu cu verde de metilpironină.



**Morfologia corpusculului Barr în celulele mucoasei bucale.**  
**A. Microfotografia nucleilor interfazici. B. Schema unei celule.**  
**CB – corpuscul Barr. NC – nucleol.**

În mod **normal** corpusculul Barr este prezent într-un singur exemplar la femeie și lipsește la bărbat, deoarece bărbatul are un singur cromozom X, iar acesta nu se inactivează, în timp ce femeia are doi cromozomi X, din care unul se inactivează.

În frotiurile mucoasei bucale **frecvența** teoretică a corpusculului Barr este de 100%, iar practic - aproximativ de 30-40%. Această frecvență reală se datorează:

- excluderii corpusculilor situați central;

- calităților improprii ale unor nucleoli din celulele superficiale sau profunde;
- defectelor de colorare;
- existenței reale a celulelor cromatin-negative: cromozomul X inactiv nu se condensează din cauza unor condiții metabolice generale sau celulare;
- alte cauze: vârsta, ciclul ovarian, boli, tratamente.

În cazuri **patologice** - anomalii de număr ale cromozomilor X (disgenezii gonadice) - poate fi prezent la bărbat (47,XXY), absent la femeie (45,X) sau prezent în mai multe exemplare la ambele sexe (polisomii X).

Mărimea corpusculului Barr depinde de mărimea cromozomului X inactivat (mai mare de 1 micron: isoXq, duplicație pe cromozomul X; mai mic de 1 micron: deleție pe cromozomul X, crs X inelar).

Când pe aceeași lamă se întâlnesc celule cu un număr diferit de corpusculi Barr, se ia în considerație numărul maxim găsit deoarece unii ar putea să nu apară.

## TESTUL CROMATINEI Y

**Cromatina Y reprezintă** aspectul interfazic al celor **2/3 distale ale brațului q al cromozomului Y**. Se evidențiază prin colorare cu quinacrină prezentându-se un corpuscul intens fluorescent (corpuscul F), vizibil în nucleul interfazic. Mărimea lui este de 0,25 microni și este situat liber sau lipit de membrana nucleară. Frecvența este diferită în diferite țesuturi ale organismului masculin:

- 70-80% în fibroblaști;
- 45% în spermatozoizi;

Corpusculul F este prezent exclusiv la bărbat într-un singur exemplar; poate fi prezent în două exemplare la persoanele cu cariotip 47,XYY.

## VALOAREA PRACTICĂ A TESTULUI CROMATINEI SEXUALE

Testul cromatinei X este un **test rapid, foarte util** în multe situații, care poate fi efectuat în condiții de **dotare minimă, cu mijloace modeste**:

**a) prenatal:** în celulele extrase prin puncție amniotică - permite **stabilirea sexului genetic al fătului** în anomaliile gonosomale recesive (de exemplu hemofilia sau miopatie Duchenne) în cazul în care femeia este purtătoare a genei anormale (risc 50%).

**b) la naștere:** în cazul ambiguității sexuale la nou născuții cu testicul nepalpabil - pentru precizarea sexului genetic și **punerea în concordanță cu sexul civil**; sexul civil are importanță mai ales în edificarea ulterioară a sexului psiho-comportamental.

**c) mai târziu:** în diferite anomalii de sexualizare pentru precizarea sexului genetic; **diagnosticul disgeneziilor gonadice** orhitice sau ovariene prin anomalii de număr și structură a cromozomilor sexuali.

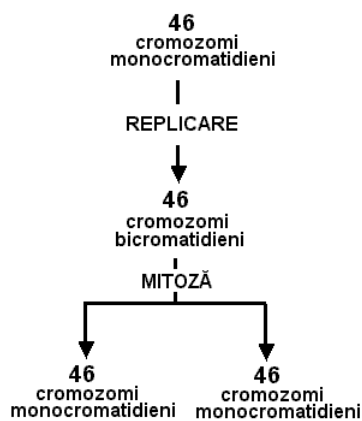
**d) în medicina legală și criminalistică** pentru precizarea provenienței feminine sau masculine a unor fragmente de țesuturi, pete de sânge, fire de păr.

**DAR**, testul cromatinei sexuale este un test **subiectiv**, nu poate depista toate mozaicurile și nici anomaliile autozomilor; în multe situații, pentru precizare necesită efectuarea cariotipului.

## CURS 5

### TRANSMITEREA MATERIALULUI GENETIC DE LA CELULĂ LA CELULĂ

Una dintre proprietățile fundamentale ale organismelor vii este autoreproducerea, asigurată de proprietatea unică a moleculelor de ADN de a se replica. În timpul replicării materialul genetic se dublează, iar în timpul diviziunii celulare are loc distribuția lui descendenților. Astfel, diviziunea celulară este ansamblul de evenimente genetice, biochimice și morfologice, ce asigură, prin intermediul cromozomilor, transmiterea informației genetice la generațiile următoare de celule sau organisme.



Transmiterea informației genetice de la celulă la celulă se realizează în două etape majore:

- dublarea ADN cromozomial;
- repartizarea egală și identică a cromozomilor celulelor fiice.

Acuratețea dublării materialului genetic și distribuției cromozomilor în timpul diviziunii celulare sunt asigurate de succesiunea evenimentelor ciclului celular (ciclului mitotic) programate genetic. Fiecare ciclu celular cuprinde două perioade dinamic și calitativ

distincte: interfaza și mitoză.

Perioadele ciclului celular		Nr de cromozomi	Nr de mol. ADN	Dublarea materialului genetic	Compactizarea materialului genetic	Segregarea materialului genetic
INTERFAZA	G1	46	46	-	slab condensat	-
	S	46	92	Replicare	slab condensat	-
	G2	46	92	-	slab condensat	-
MITOZA	Profaza	46	92	-	puternic condensat	-
	Metafaza	46	92	-	maximal condensat	-
	Anafaza	92	92	-	puternic condensat	Disjuncția cromatidelor surori
	Telofaza	46 + 46	46 + 46	-	puternic / slab condensat	Citochineza

**Interfaza** reprezintă perioada dintre diviziuni pe parcursul căreia materialul genetic este decondensat și se prezintă sub formă de cromatină; informația genetică este realizată prin expresia unor anumite seturi de gene și sinteza diferitor proteine care asigură vitalitatea celulei, creșterea, specializarea celulară și integrarea ei într-un țesut. Pe parcursul interfazei celula primește semnale mitogene (pentru celulele țesuturilor proliferative inducerea mitozei este programată). Recepționând semnalele mitogene, celula derulează procesele de pregătire către mitoză:

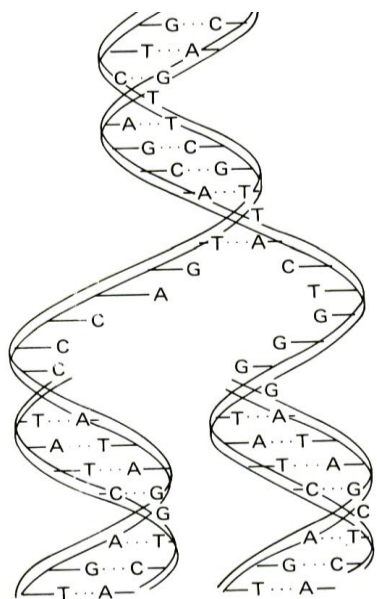
- replicarea ADN cromozomial cu dublarea materialului genetic, cromozomii devenind bicromatidieni;

- controlul calității materialului genetic și înlăturarea defectelor din moleculele de ADN prin activarea diferitor sisteme reparative;
- dublarea centriolilor, care vor asigura formarea fusului de diviziune în timpul mitozei.

## DUBLAREA MATERIALULUI GENETIC

**Replicarea** este procesul molecular prin care se realizează dublarea exactă a moleculelor de ADN (a secvenței nucleotidice), și în consecință dublarea exactă a materialului genetic. Dintr-o moleculă de ADN se formează două molecule identice atât între ele, cât și cu molecula parentală. Acest proces are loc datorită particularităților unice de organizare a moleculelor de ADN: ADN este format din două catene polinucleotidice complementare și antiparalele.

Principalele caracteristici ale replicării sunt:



Replicarea semiconservativă a ADN-ului

- sinteza replicativă a ADN-ului este **semiconservativă**, deoarece fiecare din cele două catene este folosită ca matriță pentru sinteza unei catene noi de ADN, noile molecule conțin o catenă matriță și alta nouă;
- replicarea ADN-ului nuclear are loc numai o singură dată pe parcursul ciclului mitotic, în perioada sintetică a interfazei;
- procesul este asincron - unele secvențe de ADN se replică mai precoce (eucromatina), iar alte secvențe – mai tardiv (heterocromatina).

În rezultatul sintezei replicative a ADN-ului materialul genetic se dublează și cromozomii devin bicromatidieni. Dacă până la replicare în celulă sunt 46 de cromozomi monocromatidieni (46 de molecule de ADN) după replicare cei 46 de cromozomi devin bicromatidieni (92 de molecule de ADN). Moleculele de ADN obținute prin replicare rămân unite prin centromer până în anafază (două molecule de ADN identice între ele reprezintă cromatidele surori ale unui cromozom) .

## DISTRIBUȚIA MATERIALULUI GENETIC PRIN MITOZĂ ECVAȚIONALĂ

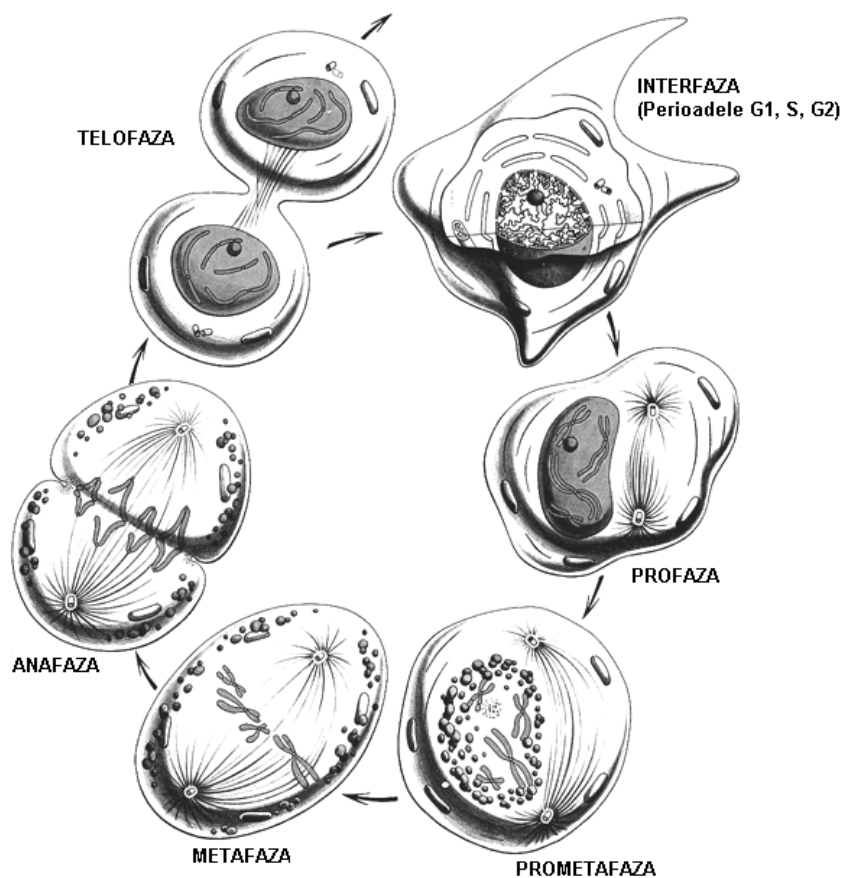
**Mitoza** reprezintă mecanismul de distribuție a materialului genetic replicat la doi poli ai celulei, asigurat de fusul acromatic și de separarea masei citoplasmatică, cu formarea a două celule identice genetic între ele și cu celula mamă.

Mitoza reprezintă o diviziune ecvațională determinată de următoarele evenimente:

- *condensarea materialului genetic* – cromatina se transformă în cromozomi facilitând distribuția egală și identică a materialului genetic;
- toți cromozomii sunt bicromatidieni; cromatidele surori sunt identice, rezultate prin replicarea ADN-ului cromozomial, cromatidele sunt unite prin centromer de la sfârșitul perioadei S până în *Anafază*;
- în regiunea centromerului fiecărui cromozom *se maturizează câte o pereche de kinetocori*, ce asigură interacțiunea cromozomilor cu firele fusului acromatic;
- *organizarea aparatului de diviziune* – centriolii în perioada S se dublează, în *Profază* migrează, formând doi poli ai celulei de la care se asamblează firele fusului de diviziune;



- microtubulii fusului de diviziune se unesc cu cromozomii de ambele părți ale centromerului prin intermediul kinetocorilor;
- *cromozomii maximal condensați*, se aranjează într-un singur plan ecuatorial – placa metafazică, datorită aparatului de diviziune;
- *segregarea materialului genetic*, replicat și condensat, se realizează prin:
  - dublarea și *clivarea longitudinală a centromerilor*;
  - *disjuncția cromatidelor surori* (din fiecare cromozom bicromatidian se formează doi cromozomi monocromatidieni);
  - *migrarea simultană și sincronă a cromatidelor surori* spre polii opuși ai celulei.
- procesul de repartizare a materialului genetic se finalizează prin formarea a doi nuclei identici urmat de citochinează.



**Dinamica cromozomilor în diferite faze ale ciclului mitotic**

Astfel, materialul genetic (cei 46 de cromozomi ai celulei somatice replicați), prin mitoză se transmite de la o celulă la două celule fiice. Celulele rezultate moștenesc câte 46 de cromozomi – material genetic identic, set de gene identic. Mitoza, în așa mod, reprezintă mecanismul ce asigură proprietatea celulelor de a transmite în succesiunea generațiilor material genetic identic.

#### **Rolul biologic al mitozei:**

- √ asigură transmiterea egală și identică a materialului genetic în succesiunea generațiilor de celule;
- √ reprezintă mecanismul universal de înmulțire a celulelor somatice la organismele pluricelulare;

- √ asigură creșterea organismelor pluricelulare la etapele prenatale și postnatală;
- √ reprezintă mecanismul prin care se reînnoiesc țesuturile;
- √ intervine în procesul de regenerare a țesuturilor.

### CARACTERISTICA PERIOADELOR CICLULUI MITOTIC

Perioadele ciclului celular		Evenimente celulare principale	Procese genetice de bază	Forma de prezentare a materialului genetic
INTERFAZA	G1	Creșterea celulară; Specializarea celulară; Controlul competenței intrării celulei în perioada S.	Transcripția Translația Reparația	Cromozomi monocromatidieni, decondensați sub formă de eucromatină și heterocromatină
	S	Dublarea ADNului nuclear; Dublarea centriolilor.	Replicarea Reparația Transcripția Translația	Cromozomii devin bicromatidieni, decondensați sub formă de eucromatină și heterocromatină
	G2	Controlul competenței intrării celulei în mitoză; Acumularea factorilor proteici mitotici.	Reparația Transcripția Translația	Cromozomi bicromatidieni, decondensați sub formă de eucromatină și heterocromatină
MITOZA	Profaza	Disocierea membranei nucleare; Condensarea cromatinei și transformarea ei în cromozomi; Formarea aparatului de diviziune; Maturizarea kinetocorilor; Interacțiunea cromozomilor cu fusul de diviziune.	-	Cromozomii bicromatidieni se condensează
	Metafaza	Cromozomii sunt dispuși într-un singur plan ecuatorial; Controlul interacțiunii cromozomilor cu fusul de diviziune.	-	Cromozomi bicromatidieni maximal condensați
	Anafaza	Clivarea longitudinală a centromerului Disjuncția cromatidelor surori Migrarea simultană și sincronă a cromatidelor spre polii celulei	-	Din fiecare cromozom bicromatidian, prin separarea cromatidelor surori, se formează doi cromozomi monocromatidieni.
	Telofaza	Decondensarea cromozomilor cu transformarea lor în cromatină Reorganizarea membranei nucleare, cu formarea a două nuclee Citochineza cu formarea a două celule fiice	-	Cromozomi monocromatidieni, ce se decondensează transformându-se în cromatină.

### ERORILE MITOZEI

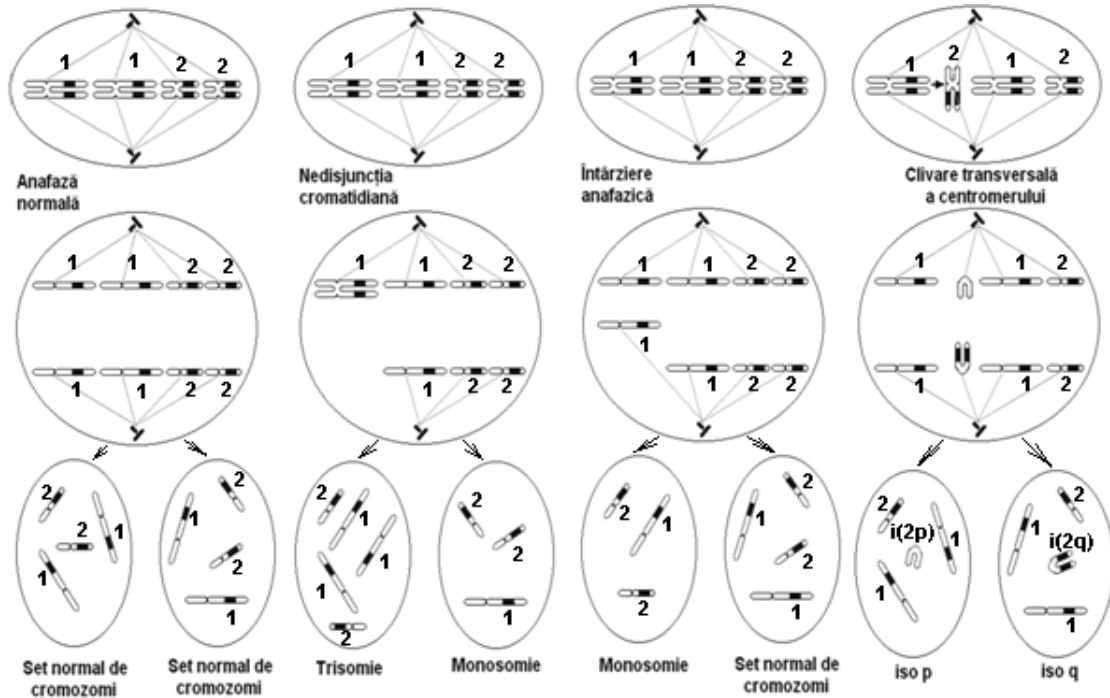
Erorile mitozei reprezintă anomalii de distribuție a materialului genetic în timpul diviziunii celulare. Însăși distribuția materialului ereditar are loc în anafază prin clivarea longitudinală a centromerului, segregarea cromatidelor și migrarea lor simultană spre polii celulei, iar prin separarea citoplasmei cele două celule-fiice moștenesc un număr identic de cromozomi. Din diverse motive (defecte genetice, defecte metabolice, acțiunea factorilor de mediu) aceste procese celulare pot fi dereglate; se pot produce:

- asamblare anormală a fusului acromatic și interacțiune defectuoasă cu kinetocorii;
- depolimerizare asincronă a microtubulilor, care determină migrarea neconcomitentă a cromozomilor spre polii celulei;
- defecte în structura centromerului ce împiedică separarea cromatidelor-surori;

- modificarea viscozității citoplasmei care poate împiedica procesul normal de deplasare a cromozomilor spre polii celulelor, etc.

Principalele erori ce conduc la o distribuție anormală a materialului genetic sunt:

- **clivarea transversală a centromerului** cu producerea izocromozomilor;
- **nedisjunția cromatidiană** și
- **întârzierea anafazică** cu producerea celulelor aneuploide (trisomii, monosomii).



Diferite erori ale mitozei și tipurile de celule rezultate pentru o celulă cu două perechi de crs:

- set normal de cromozomi – disomie –  $2n$ ;
- set anormal de cromozomi:
  - trisomie –  $2n + 1$ ;
  - monosomie –  $2n - 1$ ;
- celule cu aberații cromozomiale:
  - cu iso p –  $2n, i(?p)$ ;
  - cu iso q –  $2n, i(?q)$ .

## CLIVAREA TRANSVERSALĂ A CENTROMERULUI

În anafază, cromozomul bicromatidian se separă în doi cromozomi monocromatidieni prin clivarea centromerului. Clivarea centromerului, în normă, se realizează în plan longitudinal, rezultând doi cromozomi identici după mărime, formă și informație genetică, având un braț proximal (**p**) și altul distal (**q**). Dar, mai rar, clivarea centromerului se poate realiza în plan transversal, rezultând doi cromozomi monocromatidieni diferiți ca mărime, formă și conținut genetic – **izocromozomi (iso)** ce conțin două brațe de același fel:

- **iso p (ip)** – cromozom format din două brațe p fiind absent brațul q;
- **iso q (iq)** – cromozom format din două brațe q fiind absent brațul p.

În rezultatul clivării transversale a centromerului și segregării cromozomilor, cele două celule fiice vor moșteni materialul genetic dublat al unui braț și absența altui braț al cromozomului implicat în anomalie. Ex.:

$$46, XX \xrightarrow{CICrsX} 46, X, i(Xp) / 46, X, i(Xq)$$

$$46, XY \xrightarrow{CICrsY} 46, X, i(Yp) / 46, X, i(Yq)$$

$$46, XX (XY) \xrightarrow{CICrs 21} 46, XX (XY), i(21p) / 46, XX (XY), i(21q)$$

etc.

## NEDISJUNCȚIA CROMATIDIANĂ

Cromatidele surori ale unui cromozom, rezultate prin replicarea premitotică a ADN-ului cromozomial, se separă una de alta după clivarea centromerului. Acest proces reprezintă momentul cheie în distribuția materialului genetic în timpul diviziunii. În caz de neseparare – nondisjunție – cromatidele surori ale unui cromozom vor migra la același pol, determinând o repartizare inegală a materialului genetic. Ca rezultat una dintre celulele fiice va moșteni un cromozom în plus ( $2n+1 \rightarrow 47$  cromozomi – *trisomie*), iar în cealaltă celulă va lipsi cromozomul respectiv ( $2n-1 \rightarrow 45$  cromozomi – *monosomie*). Ex.:

46, XX  $\xrightarrow{NDcrsX}$  45,X / 47,XXX ;

46, XY  $\xrightarrow{NDcrsY}$  45,X / 47,XXY;

46, XX  $\xrightarrow{NDcrs13}$  45,XX,-13 / 47,XX,+13;

46, XY  $\xrightarrow{NDcrs18}$  45,XY, -18 / 47,XY,+18;

46, XY  $\xrightarrow{NDcrs21}$  45,XY,-21 / 47,XY,+21;

46, XX  $\xrightarrow{NDcrs8}$  45,XX,-8 / 47,XX,+8;

etc.

## ÎNTÂRZIEREA ANAFAZICĂ

După separarea cromatidelor-surori, prin depolimerizarea fusului de diviziune, are loc migrarea simultană a cromozomilor monocromatidieni spre poli opuși. La fiecare pol ajung câte 46 cromozomi, care vor fi separați în două nuclee, iar prin citochineză vor rezulta două celule cu conținut genetic identic. Ca rezultat al defectelor de dezasambalare a microtubulilor sau a modificării viscozității citoplasmatică migrarea cromozomilor poate fi asincronă. În rezultat, unii cromozomi vor nimeri în nucleul celulei-fiice, iar alții, cei întârziți, vor forma micronuclei citoplasmatici, care vor degrada. În consecință, celulele fiice moștenesc seturi diferite de cromozomi: una dintre celule poate obține un set normal, iar cealaltă celulă va fi monosomică. Ex.:

46, XX  $\xrightarrow{IAcrsX}$  45,X / 46,XX;

46, XY  $\xrightarrow{IAcrsY}$  45,X / 46,XY;

46, XX  $\xrightarrow{IAcrs13}$  45,XX,-13 / 46,XX;

46, XY  $\xrightarrow{IAcrs18}$  45,XY, -18 / 46,XY;

etc.

## CONSECINȚELE ERORILOR DIN MITOZĂ

Erorile de distribuție a materialului genetic în mitoză determină apariția celulelor cu seturi diferite de cromozomi în același organism - **mozaicuri celulare cromozomice ce pot genera două sau mai multe linii sau clone celulare, care diferă prin numărul de cromozomi.**

În rezultatul clivării transversale a centromerului se poate produce mozaicul de tipul:

- **46, isop / 46, isoq** - când eroarea afectează diviziunea zigotului, sau
- **46 / 46, isop / 46, isoq** - când eroarea apare în cursul diviziunii blastomerilor.

În rezultatul **nedisjunției cromatidiene**, eroare determinată de nesepararea cromatidelor surori ale unui cromozom în cursul anafazei, apar **mozaicuri** de tipul:

- **45 / 47** – când eroarea afectează diviziunea zigotului; sau
- **45 / 46 / 47** – când eroarea apare în cursul diviziunii blastomerilor.

În rezultatul **întârzierii anafazice** - eroare caracterizată prin migrarea cu viteză redusă sau blocarea migrării unei cromatide după ce disjunția cromatidiană s-a produs normal, determină apariția unui mozaic cromozomic de tipul 45/46.

**Evoluția clonelor celulare anormale** depinde de viabilitatea celulelor care prezintă anomalia cromozomică:

- anomaliile grave determină *moartea celulelor anormale* (clonele anormale se autoelimină);
- anomaliile mai puțin grave permit multiplicarea celulei anormale cu apariția unei *clone anormale*.

Trisomiile sunt mai puțin grave ca monosomiile, anomaliile gonosomilor sunt mai puțin grave ca anomaliile autosomilor; cromozomii mai mici au mai puține gene și anomaliile lor sunt mai puțin grave ca anomaliile cromozomilor mari.

Anomalii cromozomiale	Erori mitotice – cauze ale anomaliilor cromozomiale	Anomalii cromosomice viabile	Anomalii cromosomice letale
Trisomii (47,+?)	Nedisjuncția cromatidiană	47,XXX 47,XXY 47,XYY 47,XX(XY),+21 47,XX(XY),+13 47,XX(XY),+18 47,XX(XY),+8	Restul trisomiilor autozomale
Monosomii (45,-?)	Nedisjuncția cromatidiană; Întârzierea anafazică	45,X	Toate monosomiile autozomale
i (?p)	Clivarea transversală a centromerului	46,X,i (Xp) 46,X,i (Yp)	Restul anomaliilor crs 46,XX(XY),i (?p)
i (?q)		46,X,i (Xq) 46,X,i (Yg) 46,XX(XY),i (Dq) 46,XX(XY),i (Gq)	Restul anomaliilor crs 46,XX(XY),i (?q)

**Consecințele fenotipice ale clonelor anormale** depind de momentul ontogenetic al apariției lor. Dacă se produc în timpul embriogenezei - este perturbată formarea normală a țesuturilor și organelor producând *anomalii congenitale* (fenotip anormal la naștere); în caz dacă apar postnatal se produce perturbarea structurii sau funcției anumit țesut sau organ și apare o degenerare neoplazică (*cancer*).

#### SALVAREA ANEUPLOIDIILOR

Organismul are tendința de a corecta dezechilibrul genetic, încercând să elimine cromozomul supranumerar în cazul trisomiilor sau să câștige un cromozom în plus în cazul monosomiilor.

**Corecția unei trisomii în disomie** se poate realiza prin următoarele mecanisme:

- nedisjuncție mitotică;
- întârziere anafazică;
- pulverizarea cromosomului supranumerar.

**Corecția monosomiei în disomie** poate fi realizată prin:

- nondisjuncție mitotică;
- endoreplicare selectivă a cromosomului monosomic;
- clivare transversală a centromerului ce rezultă iso q.– în cazul acrosomilor.

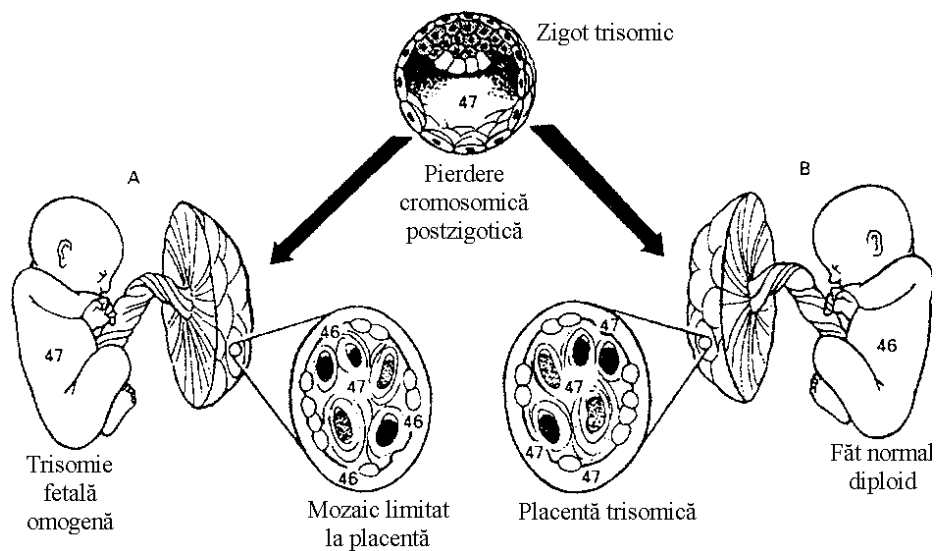
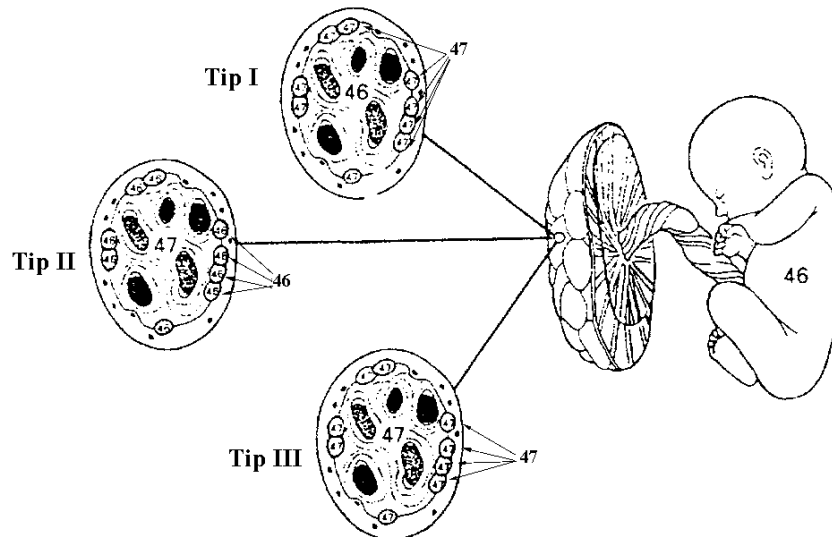
Consecința unui mecanism de “salvare” a unei aneuploidii este **disomia uniparentală**. Trisomiile ce sunt corectate prin pierderea unuia din cei trei cromosomi, 1/3 cazuri - rezultă o disomie uniparentă (DUP). Monosomiile sunt corectate prin duplicarea cromosomului monosomic, rezultând întotdeauna DUP.

În cazul în care corecția se produce doar în anumite celule, rezultă mozaicuri cromosomice:

- corecția unei trisomii prin pierderea cromosomului suplimentar determină producerea unui mozaic 47/46;
- corecția unei monosomii prin duplicarea cromosomului fără omolog determină producerea unui mozaic 46/45.

Mozaicurile cromosomice pot fi împărțite în trei categorii:

- mozaicuri generalizate, prezente în toate țesuturile organismului;
- mozaicuri limitate la anumite țesuturi embrionare;
- mozaicuri limitate la placentă.



Consecințele mozaicurilor limitate la placentă sunt:

- disfuncție metabolică placentară ce afectează dezvoltarea embrionară;
- întârziere în dezvoltare și avorturi;
- mortalitate perinatală.

## CURS 6

### TRANSMITEREA INFORMAȚIEI GENETICE DE LA PĂRINȚI LA COPII

Perpetuarea speciei și păstrarea caracterelor distinctive sunt determinate pe proprietatea fundamentală a organismelor vii de a se autoreproduce. Pe parcursul evoluției lumii vii a apărut necesitatea înmulțirii sexuate care asigură diversitatea intraspecifică – fenomen important pentru supraviețuire: asigură recombinarea materialului genetic, determină apariția indivizilor cu combinații noi de caractere cu o susceptibilitate diferită la agresiunile din mediul ambiant și, în consecință, reprezintă un mecanism important în selecția naturală.

La organismele cu reproducere sexuată legătura materială dintre generații, transmiterea și conservarea informației genetice de la o generație la alta este asigurată de două procese genetice distincte:

- gametogeneza - producerea celulelor sexuale mature cu set haploid de cromozomi ( $n=23$ ),
- fecundarea gameților și formarea zigotului cu set diploid de cromozomi ( $2n=46$ ) cu o configurație genetică nouă, unică și constantă.

### GAMETOGENEZA

Gametogeneza este ansamblul proceselor genetice, biochimice și morfologice, care determină formarea și maturarea gameților în gonade (testicule sau ovare).

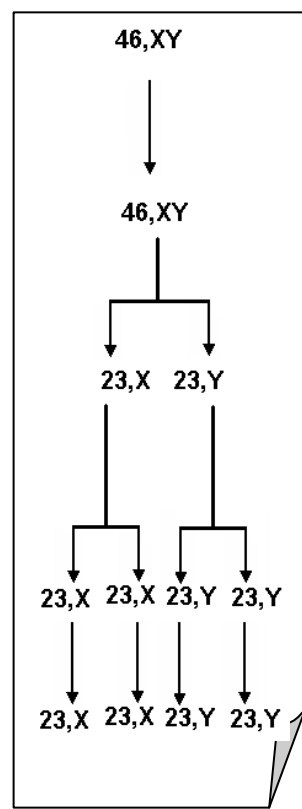
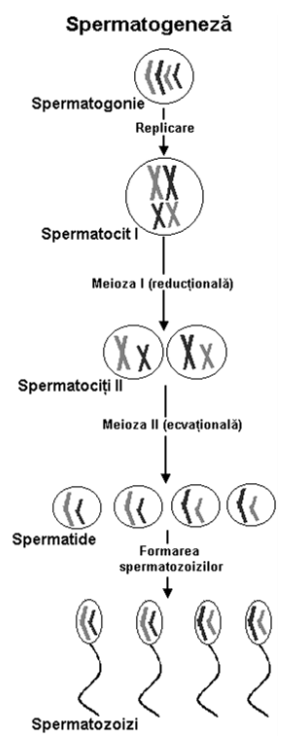
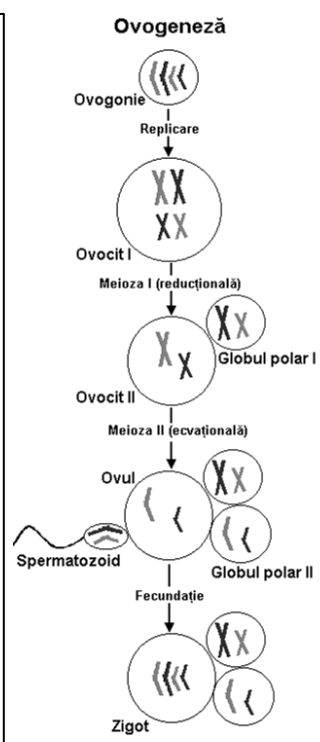
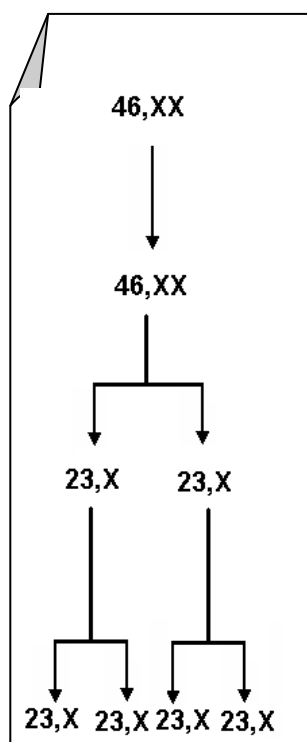
**Ovogeneza** este mecanismul de diferențiere a ovulelor haploide din celule sexuale primare diploide (ovogonii); se desfășoară în ovare; unele procese se realizează în perioada embrion-fetală, iar alte – numai după pubertate până la menopauză; populația de ovocite nu se reînnoiește, iar însăși procesul este discontinuu, cu două faze de așteptare (dictiotenul profazei I și metafaza II ale meiozei).

**Spermatogeneza** reprezintă procesul de diferențiere a spermatozoizilor haploizi din celule sexuale primare diploide (spermatogonii); are loc în testicule; se desfășoară în mai multe etape, cu reînnoirea permanentă a populațiilor de celule sexuale după pubertate.

Gametogeneza se desfășoară în câteva etape:

- perioada de înmulțire mitotică a celulelor sexuale primare cu formarea unei populații mari de **gametogonii** ( $2n=2c$ );
- perioada de creștere cu formarea **gametociților** de ordinul I ( $2n=46$  crs) prin replicarea ADN-ului cromozomial, sinteza componentelor necesare pentru meioză și acumularea factorilor ce asigură formarea și dezvoltarea zigotului;
- perioada de maturare cu formarea **gameților** haploizi, realizată prin **meioză** – proces decisiv în gametogeneza:
  - pe parcursul ovogenezei dintr-o ovogonie se maturizează doar un ovul capabil de fecundație și doi/ trei globuli polari;
  - pe parcursul spermatogenezei dintr-o spermatogonie se maturizează patru spermatozoid;
- !!! perioada de formare, *caracteristică doar spermatogenezei*, ce asigură modificările morfologice ale celulei sexuale masculine, transformând spermatozoidul în spermatozoid capabil pentru fecundație (mobilitate și capacitație).

Ovogeneza	Spermatogeneza
<b>Locul desfășurării</b>	
În ovare (gonade feminine)	În testicule (gonade masculine)
<b>Perioadele caracteristice</b>	
I. De înmulțire a ovogoniilor II. De creștere a ovocitelor de ordinul I III. De maturare a ovulelor (dintr-un ovocit I se formează un ovul și trei globuli polari)	I. De înmulțire a spermatogoniilor II. De creștere a spermatocitelor de ordinul I III. De maturare a spermatozoidelor (dintr-un spermatocit I se formează patru spermatozoid) IV. De formare a spermatozoidelor
<b>Reglarea procesului</b>	
Control neuro-endocrin dependent de factorii de mediu	Autocontrol neuro-endocrin
<b>Tipul de gameti</b>	
Ovule - celule mari rotunde, ce conțin vitelius, setul de organite celulare caracteristic și nucleul haploid (23,X)	Spermatozoizi – celule mici mobile, formate din cap, gât și flagel, nucleul este haploid ( 23,X sau 23,Y)
<b>Perioada desfășurării</b>	
Perioada de înmulțire și creștere se desfășoară doar prenatal; Ovarul nou-născutei conține ovocite de ordinul I stopate în dictioten (profaza I a meiozei); Perioada de maturare începe după pubertate, câte un ovocit (mai rar două) se maturizează lunar, până la stadiul metafazei II; Meioza se finalizează după fecundarea ovulului de către spermatozoid. !!! Ovocitele nu se reînnoiesc.	Prenatal, odată cu formarea gonadelor se formează o populație de spermatogonii; După pubertate toate cele patru perioade ale spermatogenezei se desfășoară continuu, producând un număr enorm de spermatozoizi. Spermatozoidii permanenți se reînnoiesc; perioada de reînnoire este de circa 64 de zile..
<b>Riscul mutațiilor generative</b>	
Crește odată cu vârsta femeii; risc pentru anomalii cromozomiale.	Independent de vârsta bărbatului, risc pentru mutații genice.





## FECUNDAREA

Contopirea gameților haploizi de origine parentală diferită poartă denumirea de *fecundare*, iar celula rezultată ce conține materialul genetic al ambilor gameți - *zigot*. Gameții formați în timpul ovogenezei și spermatogenezei sunt foarte variați, pentru că rezultă în urma unor procese de recombinare intra- și intercromozomială. Participarea ovulelor și spermatozoizilor la fecundație este aleatorie, asigurând formarea diferitor variante genetice de zigoti, ceea ce reprezintă *recombinarea genomică*.

Fuziunea celor doi gameți haploizi reface setul diploid de cromozomi, caracteristic speciei. Mitozele succesive ale zigotului duc la creșterea și dezvoltarea organismului pluricelular. Începând cu zigotul, toate celulele somatice vor avea cromozomii în perechi. Cromozomii pereche sau omologii sunt asemănători ca morfologie și structură genică, dar diferiți ca origine.

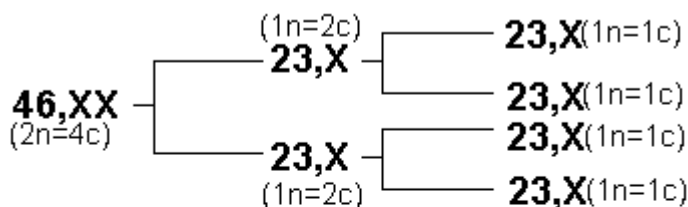
În concluzie, organismul uman matur posedă două linii celulare:

- (i) **celule somatice** ce alcătuiesc diferite țesuturi și organe:
  - au set diploid de cromozomi ( $2n=46\text{c}$ );
  - provin de la celula zigot prin mitoze repetate;
  - 51% din materialul genetic este de origine maternă și 49% de origine paternă (deoarece ADNmt este de origine maternă);
  - se înmulțesc prin mitoză pentru a asigura creșterea organismului, reînnoire și regenerarea țesuturilor;
- (ii) **celule sexuale** care asigură transmiterea materialului genetic de la părinți la descendenți la formarea zigotului:
  - au set haploid de cromozomi ( $n=23\text{c}$ );
  - provin din gametogonii (celule diploide), care reprezintă celule somatice specializate pentru gametogeneză;
  - se maturizează în gonade prin meioză;
  - determină stabilitatea numărului de cromozomi la specia dată.

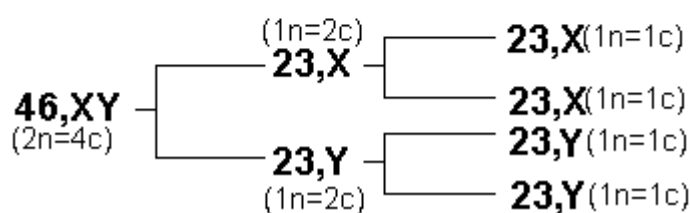
### DINAMICA CROMOZOMILOR ÎN MEIOZĂ

Meioza ("meiosis" – micșorare) este un mecanism complex ce implică desfășurarea succesivă a două diviziuni, care se termină cu înjumătățirea setului de cromozomi. Din fiecare celulă cu 46 cromozomi (*set diploid*) se formează 4 gameți cu câte 23 cromozomi (*set haploid*). Gameții sunt extrem de variați pentru că, rezultați din meioză, sunt produși ai recombinării intra- și intercromozomice.

#### A. Ovogeneza



#### B. Spermatogeneza



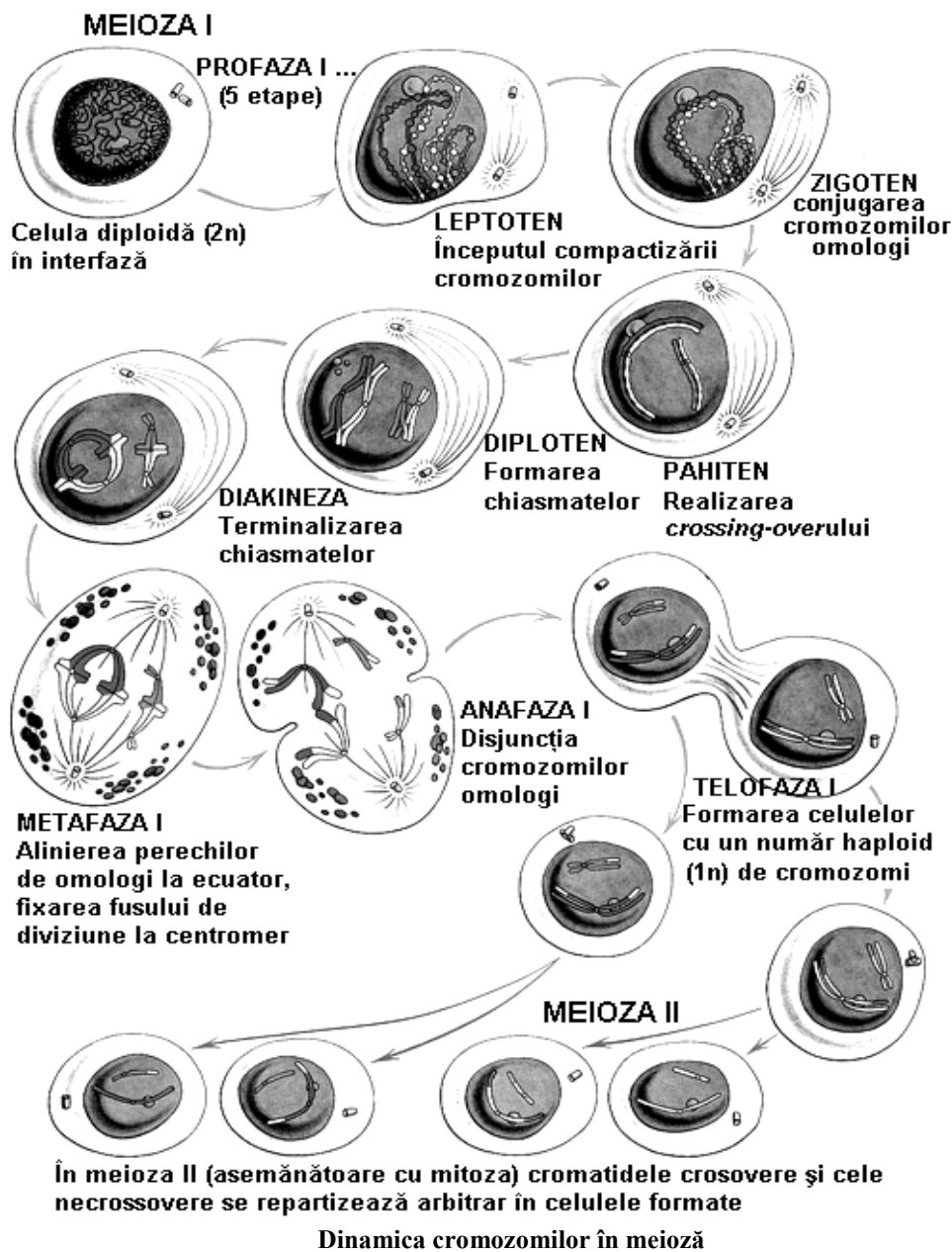
Particularitățile segregării cromozomilor în meioza ovogenezei și spermatogenezei

Meioza este precedată de o interfază premeiotică în care *are lor replicarea ADN-ului*. Între cele două diviziuni există o perioadă scurtă – *interkineza* – în care *ADN-ul nu se replică*.

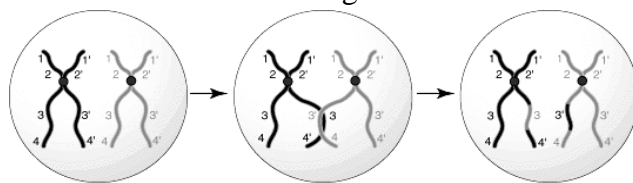
**Prima diviziune a meiozei – diviziunea reduțională** asigură înjumătățirea numărului de cromozomi în celulele: transformă *gametocitele de ordin I* cu 46 cromozomi bicromatidieni în *gametocite de ordin II* cu 23 cromozomi bicromatidieni.

Reducerea numărului de cromozomi este determinată de:

- conjugarea cromozomilor omologi cu formarea a 23 de *bivalenți (tetrade)* în profaza I;
- aranjarea bivalenților în plan ecuatorial în metafaza I;
- disjuncția cromozomilor omologi și migrarea spre poliile celulei a cromozomilor bicromatidieni, câte un cromozom din fiecare pereche în anafaza I;
- citokineza asigură separarea masei citoplasmatică cu formarea a două celule cu număr haploid de cromozomi dar bicromatidieni (cu cantitate dublă de ADN –  $1n=2c$ ) – *gametocite de ordinul II*.



Paralel cu procesele ce asigură segregarea cromozomilor pe parcursul diviziunii meiotice reducționale are loc recombinaarea materialului genetic:



**Conjugarea omologilor și recombinaarea intracromozomială – crossing-overul**

- **recombinaarea intracromozomială – crossing-overul**, care reprezintă schimbul reciproc de fragmente (gene) între cromozomii omologi materni și paterni și se desfășoară datorită conjugării lor (Profaza I);
- **recombinaarea intercromozomială**, care reprezintă assortarea independentă a cromozomilor neomologi materni și paterni la polii celulei în timpul Anafazei I, datorită aranjării aleatorii a bivalenților la ecuator și migrării spre polii celulei.

Perioadele ciclului celular		Nr. de cromozomi		Nr. de cromatide		Dublarea mat. genetic	Recombinarea	Segregarea mat. genetic
Interfapa premeiotică		46 (gametocit I)		92		+	-	-
MEIOZA I reducțională	P I	46		92		-	+	-
	M I	46		92		-	-	-
	A I	46		92		-	+	+
	T I	23 + 23 (gametociți II)		46 + 46		-	-	Citokineza
Inerchineză		23	23	46	46	-	-	-
MEIOZA II ecvațională	P II	23	23	46	46	-	-	-
	M II	23	23	46	46	-	-	-
	A II	46	46	46	46	-	-	+
	T II	23+23	23+23	23+23	23+23	-	-	Citokineza
		(gameți)						

**A doua diviziune a meiozei – diviziunea ecvațională** asigură repartizarea egală și identică a materialului genetic în celulele-gameți. Formarea gameților haploizi ( $1n=1c$ ) din gametociții de ordinul II ( $1n=2c$ ) este asigurată de:

- maturizarea a doi kinetokori pentru fiecare centromer;
- aranjarea la ecuator a cromozomilor într-un singur plan;
- clivarea longitudinală a centromerului și disjuncția cromatidelor surori;
- migrarea simultană și sincronă a cromatidelor (cromozomilor monocromatidieni) spre polii celulei;
- separarea masei citoplasmatică cu formarea a câte doi gameți haploizi din fiecare gametocit I, în total 4 din fiecare celulă ce a intrat în meioză.

## ROLUL BIOLOGIC AL MEIOZEI

- i. Meioza are un rol esențial pentru reproducerea organismelor și conservarea însușirilor părinților, asigurând legătura materială între părinți și copii;
- ii. Meioza are și rolul de a produce și a menține variabilitatea genetică în populațiile umane prin fenomenele de recombinare intra- și intercromozomică, ce se realizează în profaza meiozei I – schimbul reciproc de fragmente egale între cromozomii omologi (procesul *crossing-over*) și în anafaza meiozei I – asortarea independentă a cromozomilor neomologi;
- iii. Meioza demonstrează corelația dintre dinamica cromozomilor și legile eredității ale lui Mendel (legea segregării caracterelor, legea moștenirii independente a caracterelor).

## ERORILE MEIOZEI ȘI CONSECINȚELE LOR

În cursul meiozei se pot produce diferite anomalii de distribuție a materialului genetic:

- **crossing-over inegal** cu formarea gameților purtători de deleții sau duplicații cromozomice;
- **nedisjunctie cromozomială sau cromatidiană** cu formarea gameților nulisomici și disomici;
- **întârziere anafazică** cu formarea gameților nulisomici;
- **ne separarea gametocitelor** cu formarea gameților diploizi.;
- **clivarea transversală a centromerului** cu formarea isocromozomilor.

**CROSSING-OVERUL INEGAL** se poate produce ca rezultat al unei conjugări anormale a cromozomilor omologi și, în consecință, schimbului inegal de fragmente între cromatidele nesurori ale bivalentului. Această eroare va fi cauza apariției unor cromozomi cu deleție și cu duplicație, iar gameții respectivi purtători de aberații cromozomiale [de ex.: **23,X(Y),1p-** și **(23,X(Y),1p+**] vor da naștere la zigoți cu monosomii și trisomii parțiale [de ex.: **46,XX(XY), 1p-** și **46, XX(XY), 1p+**].

**NEDISJUNCȚIA CROMOZOMICĂ** poate avea loc în anafaza I, când ambii cromozomi omologi nimeresc la același pol al celulei și ca urmare în același gametocit sau în meioza II – când din diverse motive **nu are loc clivarea centromerului** și cele două **cromatide nu se separă**, migrând împreună la un pol se poate produce **nedisjunctia cromatidiană**. În ambele cazuri se formează gameți cu aneuploidii cromozomice – disomii și nulisomii, care după fecundare vor da naștere unor zigoți anormali: trisomici și monosomici.

**ÎNTÂRZIEREA ANAFAZICĂ** a unui cromozom sau a unei cromatide se poate produce ca urmare a **separării** anafazice asincrone a **cromozomilor în meioza I** sau a **cromatidelor în meioza II**, urmată de întârzierea unui cromozom la polul celulei și pierderea acestuia în momentul citochinezei (cromozomul întârziat rămâne în afara nucleului în citoplasmă și degradează). Ca rezultat al întârzierii anafazice se formează gameți nulisomici, cât și gameți normali.

**NESEPARAREA GAMETOCITELOR** reprezintă fenomenul când după segregarea cromozomilor în meioză nu se separă masa citoplasmatică și ca rezultat se produc gameți diploizi (2n), care după fecundare cu gameții normali vor forma zigoți triploizi (3n).

**CLIVAREA TRANSVERSALĂ A CENTROMERULUI**, cauzată de defecte ale ADN-ului centromeric sau de asamblarea anormală a proteinelor centromerice, se poate produce în Anafaza II. Ca rezultat se vor forma gameți cu isocromozomi p și izocromozomi q. La fecundarea gameților 23,ip sau 23,iq vor rezulta zigoți 46,ip (cu materialul genetic al brațului p a cromozomului respectiv dublat și lipsa materialului genetic al brațului q a cromozomului respectiv sau zigoți 46,iq (cu materialul genetic al brațului q a cromozomului respectiv dublat și lipsa materialului genetic al

brațului p a cromozomului respectiv), iar după fecundare se vor forma zigoți cu monosomie parțială și trisomie parțială.

Astfel toate erorile de distribuție a materialului genetic în cursul meiozei duc la formarea gameților aneuploizi, iar după fecundare formează zigoți aneuploizi (monosomici, trisomici), care în consecință sunt cauza tulburărilor de reproducere: sterilitate, avorturi spontane, nou născuți morți sau malformații, copii cu tulburări de creștere pre – și postnatală, întârziere în dezvoltarea psihomotorie.

### ERORI LA FECUNDARE

**Fecundarea dublă** este posibilă când ovarul eliberează în momentul ovulației două ovule și prin fecundare, ele vor forma doi zigoți, care pot evolua independent; sau se pot uni, formând o singură structură embrionară denumită **himeră**; în ultimul caz, dacă zigoții vor avea același sex genetic, se realizează o sexualizare normală și numai unele studii a caracterelor vor evidenția o populație celulară dublă; dacă zigoții care s-au unit au sexe genetice diferite, se realizează o constituție XX/XY cu tulburări de sexualizare – hermafroditism adevărat.

**Dispermia** este posibilă când un ovul este fecundat de doi spermatozoizi, rezultând zigoți triploizi (69,XXX sau 69,XXY sau 69,XYY).

**Diginia sau diandria** reprezintă fenomenul când unul din gameți este diploid și celălalt este haploid, rezultând zigoți triploizi; zigoții triploizi evoluează cu dereglări severe în dezvoltarea embrionară.

	Consecințe	Constituția genetică	Evoluție
Fecundarea dublă	Gemeni dizigoți	46,XX și 46,XX și 46,XX și 46,XY	Evoluție normală
	Himeră	46,XX/46,XX 46,XX/ 46,XY	Evoluție normală Hermafroditism adevărat
Dispermie	Triploidie	69,XXX sau 69,XXY sau 69,XYY	Dereglări severe în dezvoltarea embrionară
Diginie	Triploidie	69,XXX sau 69,XXY	Dereglări severe în dezvoltarea embrionară, placentă mică de formă anormală, avort precoce
Diandrie	Triploidie	69,XXY sau 69,XYY	Molă hidatiformă parțială, placentă mare, polichistică, embrion malformat.