



FIOCRUZ

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina
Investigativa**

TESE DE DOUTORADO

**MIGRAÇÃO, ESTRUTURA POPULACIONAL, TIPOS DE CASAMENTOS E
DOENÇAS GENÉTICAS**

TAISA MANUELA BONFIM MACHADO

**Salvador – Brasil
2012**

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina
Investigativa**

**MIGRAÇÃO, ESTRUTURA POPULACIONAL, TIPOS DE CASAMENTOS E
DOENÇAS GENÉTICAS**

TAISA MANUELA BONFIM MACHADO

Orientadoras: Prof^a Dr^a Kiyoko Abe Sandes
Prof^a Dr^a Angelina Xavier Acosta

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa, área de Concentração: Epidemiologia Molecular e Medicina Investigativa, para a obtenção do grau de Doutor.

**Salvador – Brasil
2012**

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

Machado, Taisa Manuela Bonfim
M149m Migração, estrutura populacional, tipos de casamentos e doenças genéticas
em Monte Santo-Ba [manuscrito] / Taisa Manuela Bonfim Machado. - 2012.
102 f.: il. ; 30 cm.

Datilografado (fotocópia).

Tese (doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo
Moniz, 2012.

Orientador: Prof. Dr^a Kiyoko Abe Sandes.

1. Migração. 2. Doenças Genéticas. 3. DNA Mitocondrial. 4. Cromossomo
Y. I.Título.

CDU 575.17(813.8)

"MIGRAÇÃO, ESTRUTURA POPULACIONAL, TIPOS DE CASAMENTOS E DOENÇAS GENÉTICAS"

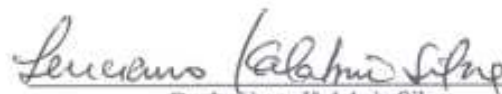
TAISA MANUELA BONFIM MACHADO

FOLHA DE APROVAÇÃO


COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. Rogério Grimaldi Sampaio
Professor
EBMSP



Dr. Luciano Kalabric Silva
Tecnologista em Saúde Pública
CPqGM / FIOCRUZ



Drª Marilda de Souza Gonçalves
Pesquisador Titular
CPqGM / FIOCRUZ

Aos meus pais, Márcia e Manoel, à
minha irmã, Joana, e à Dayano.

Dedico a vocês mais esta conquista.

Agradecimentos

À Profa. Dra Kiyoko Abe Sandes não apenas pela orientação, incentivo, apoio, paciência, pelas horas a mim dispensadas nas longas correções, por acreditar no meu trabalho, mas acima de tudo pela confiança e amizade;

À Profa. Dra. Angelina Xavier Acosta pela co-orientação, apoio, incentivo;

Aos professores que gentilmente aceitaram compor a banca para avaliação deste trabalho;

Aos integrantes de cada expedição à Monte Santo-BA, e do projeto Genética no Sertão, e aos profissionais locais, que tornaram possível a realização deste verdadeiro trabalho em EQUIPE;

Ao antigo GENLASP, agora agregado ao SISGENE, nosso grupo de pesquisa em Genética, onde aprendemos sempre mais;

A todos do LASP, em especial ao Dr. Bernardo Galvão e Dra Fernanda Grassi, pelo apoio laboratorial;

Ao Labimuno, em especial ao Dr. Roberto Meyer e a Dra. Ivana Nascimento, pela acolhida profissional, pela confiança no meu trabalho e por permitir a realização desta tese em meio a tantos outros trabalhos;

À Silvia Letícia, Selma São Bernardo e Aidil Garcez, que além de auxiliarem na realização dos experimentos, tornam o ambiente de trabalho cada vez mais agradável;

A todos os meus amigos, parceiros de trabalho e de vida, com vocês a vida é mais doce, mais suave;

Em especial a Thaís Bomfim pela convivência diária, parceria nos trabalhos e acima de tudo amizade;

À Coordenação de Ensino do Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa, aos professores e seus funcionários pelo trabalho de excelente qualidade;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), a Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) e ao Instituto Nacional de Genética Médica Populacional (INAGEMP) pelo auxílio financeiro;

A todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho,

Obrigada!

MACHADO, Taisa Manuela Bonfim. Migração, estrutura populacional, tipos de casamentos e doenças genéticas f. il. Tese (Doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2012.

RESUMO

A migração é o fator evolutivo capaz de dispersar a diversidade genética entre populações, inserindo novas características fenotípicas e genotípicas. A dinâmica matrimonial, juntamente com a estrutura da população são fatores que podem alterar a frequência destas características. Exemplo dessas características são as doenças genéticas, onde a frequência e distribuição destas auxilia na compreensão da influência de fatores evolutivos em uma população. No município de Monte Santo, localizado no interior da Bahia, foram encontradas doenças genéticas com elevada frequência, como mucopolissacaridose do tipo VI e fenilcetonúria. Existem evidências que algumas doenças mostram associação entre a raça e o risco de sua ocorrência. Dados moleculares mostraram que na Bahia a contribuição africana é de 47,2%, entretanto, dados baseados em classificação fenotípica apontam para o aumento da contribuição europeia com o afastamento do litoral. Para inferir a origem de algumas doenças genéticas em Monte Santo foram analisados marcadores informativos de ancestralidade autossômicos (*AT3-I/D*, *APO*, *PV92* e *SB19.3* genotipados por PCR; *GC*1F* e *GC*1S* por PCR/RFLP; e os marcadores *FYnull*, *CKMM* e *LPL* por PCR em tempo real) e marcadores uniparentais do mtDNA (sequenciamento da região HVS-I) e do cromossomo Y (marcador *YAP* por PCR; *DYS 199*, *92R7* e *M207* por PCR/RFLP; e *M60*, *PN2*, *PN3*, *M34*, *M89*, *M9* por sequenciamento). Assim, através da identificação da origem desses marcadores foi possível inferir a contribuição das populações que formaram a população de Monte Santo, e a origem de algumas das alterações gênicas responsáveis pelas doenças genéticas aqui estudadas (síndrome de Treacher Collins, hipotireoidismo congênito, fenilcetonúria, mucopolissacaridose tipo VI, surdez hereditária não síndrômica e osteogênese imperfeita). Os dados do cromossomo Y e dos autossômicos apontam para maior contribuição europeia, e os resultados dos marcadores mitocondriais para elevada contribuição africana e ameríndia. A elevada contribuição europeia tanto paterna quanto autossômica sugere origem europeia para as mutações c.35delG e R252W, responsáveis por aproximadamente 24% dos casos de surdez hereditária não síndrômica e por todos os casos de fenilcetonúria, respectivamente. A mucopolissacaridose do tipo VI tem como causa a mutação p.H178L, a presença desta alteração apenas em pacientes brasileiros, que compartilham o mesmo haplótipo intragênico sugere origem autóctone. Além de marcadores moleculares também foram analisados os tipos de casamentos (endogâmicos, exogâmicos e entre imigrantes) e sua frequência no município. Foi observada elevada frequência de casamentos endogâmicos e baixa taxa de migração, sugerindo crescimento populacional interno. Além disso, a maioria da população reside em povoados, cujo tamanho varia de 113 a 582 pessoas por povoado. Nesta cidade 80% da população tem renda mensal equivalente a meio salário mínimo, o que explica a baixa taxa de migração por ausência de atrativos econômicos. Avaliando os casamentos dentro das genealogias dos afetados é possível observar que a maioria

deles é filho de pais consanguíneos. Estes resultados mostram que o elevado grau de endogamia e endocruzamento assim como possível efeito fundador e deriva genética estão associados ao aumento da frequência e manutenção das doenças genéticas neste município.

Palavras Chave: migração, doenças genéticas, DNA mitocondrial, cromossomo Y, Monte Santo-BA, ancestralidade, tipo de casamento, estrutura populacional

MACHADO, Taisa Manuela Bonfim. Migration, population structure, types of marriages and genetic diseases. 102 f. il. Tese (Doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2012.

ABSTRACT

Migration is the evolutionary factor able to disperse the genetic diversity among populations, inserting new phenotypic and genotypic characteristics. The dynamic of marriage and population structure are factors that may maintain or eliminate these characteristics. Examples of these traits are genetic diseases, where the frequency of these helps in understanding the evolutionary factors influence in a population. In Monte Santo city, situated in county of Bahia, were found genetic diseases with high frequency such as mucopolysaccharidosis type VI and phenylketonuria. It has been shown that some diseases have an important racial factor in determining risk of its occurrence. Molecular results show that in Bahia the African contribution is 47.2%. However, phenotypic classification data show an increase of European contribution with the distance from the coast. To infer the origin of some genetic disease in Monte Santo were analyzed autosomal ancestry informative markers (*AT3-I/D*, *APO*, *PV92* and *SB19.3* genotyped by PCR, *GC*1F* and *GC*1S* by PCR/RFLP and *FYnull*, *CKMM* and *LPL* genotyped by real time PCR) and uniparental markers of mtDNA (sequencing of the HVS-I region) and the Y chromosome (YAP marker by PCR; *DYS199*, *92R7* and *M207* by PCR/RFLP, and *M60*, *PN2*, *PN3*, *M34*, *M89*, *M9* by sequencing). Thus, by identifying the origin of these markers was possible to infer the contribution of the populations that formed Monte Santo, and the origin of some genetic mutations responsible for genetic diseases studied here (Treacher-Collins syndrome, congenital hypothyroidism, phenylketonuria, mucopolysaccharidosis type VI, hereditary non-syndromic deafness and osteogenesis imperfecta). The Y chromosome and autosomal results indicate greater European contribution, and the results from mtDNA show high contribution of African and Amerindian contribution. The high European contribution both paternal and autosomal suggests European origin for the c.35delG and R252W mutations,

responsible for approximately 24% of cases of hereditary non-syndromic deafness and all phenylketonuria cases, respectively. The mucopolysaccharidosis type VI is caused by p.H178L mutation, the presence of this mutation only in Brazilian patients, who share the same intragenic haplotype suggest an autochthonous origin. In addition to molecular markers were also analyzed the types of marriages (endogamic, exogamous and between immigrant) and how often they occur in the city. We observed a high frequency of endogamic marriages and low migration rates, suggesting internal population growth. The population of Monte Santo is characterized by division into villages, where the majority of the population, the number of inhabitants varies from 113 to 582 people per village. In this city 80% of the population has income equivalent to half the minimum wage, which reinforces the absence of compelling economic and low migration rate. Evaluating the marriages inside the genetic diseases pedigree families can be observed that most of those affected are children of consanguineous parents. These results suggest that the high degree of inbreeding as well as the occurrence of founder effect and genetic drift were associated with increased frequency and maintenance of genetic diseases in the city.

Key Words: migration, genetic disease, mitochondrial DNA, Y chromosome, Monte Santo-BA, ancestry, types of marriages and population structure

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
INTRODUÇÃO	
Figura 1. Demonstração sugerida da migração da população africana para o Brasil do século XVI ao século XVIII.	19
Quadro 1. Autoclassificação de raça/cor em percentual (%) da população brasileira de acordo com o censo demográfico realizado pelo IBGE em 2000.	21
MANUSCRITO 1	
Figura 1. Mapa da cidade de Monte Santo e localização dos pacientes afetados pelas doenças genéticas.	52
MANUSCRITO 3	
Figura 1. Localização dos pacientes no município de Monte Santo-BA	82
APÊNDICE	
Fluxograma 1. Análise do manuscrito 1	102
Fluxograma 2. Análise dos manuscritos 2 e 3	102

LISTA DE TABELAS

	Página
MANUSCRITO 1	
Tabela 1. Números de casamentos e informações sobre local de nascimento e consanguinidade em Monte Santo por período.	52
Tabela 2. Tipos de casamentos nos diferentes períodos.	52
Tabela 3. Distribuição dos nubentes migrantes entre as cidades vizinhas.	53
Tabela 4. Matriz de distância entre os noivos	53
MANUSCRITO 2	
Tabela 1. Marcadores autossômicos estudados	68
Tabela 2. Marcadores do cromossomo Y analisados, metodologia utilizada e população ancestral onde o marcador é encontrado.	68
Tabela 3. Caracterização da amostra estudada.	69
Tabela 4. Distribuição das frequências dos marcadores autossômicos nas populações estudadas e nas ancestrais.	69
Tabela 5. Estimativa de mistura na amostra estudada estimada por marcadores autossômicos, do mtDNA e do cromossomo Y.	70
Tabela 6. Ancestralidade individual entre os diferentes grupos.	70
MANUSCRITO 3	
Tabela 1. Amostras estudadas.	82
Tabela 2. Marcadores autossômicos estudados.	83
Tabela 3. Marcadores do cromossomo Y analisados e metodologia utilizada e a população ancestral.	83
Tabela 4. Estimativas de mistura e haplogrupos do mtDNA e cromossomo Y.	83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARSB - enzima N-acetilgalactosamina-4-sulfatase ou arilsulfatase B

AFR – africano

AME - ameríndio

CAPS - Centro de Atenção Psicossocial

DA - deficiência auditiva

DI - dentinogênese imperfeita

DNA - ácido desoxirribonucléico

EUR - europeu

F - coeficiente de endocruzamento

GAG - glicosaminoglicanos

GJB2 – junção fenda (do inglês, *gap junction beta-2 protein*)

HbS - hemoglobina S

HC - hipotireoidismo congênito

HVS-I - região hipervariável I do DNA mitocondrial

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LPL – lipoproteína lipase

MITOMAP – *A human mitochondrial genome database*

MPSVI - mucopolissacaridose do tipo VI

mtDNA - ácido desoxirribonucléico mitocondrial

NV – nascidos vivos

OI - osteogênese imperfeita

OMIM – *Online Mendelian Inheritance in Man*

PCR – reação em cadeia da polimerase (do inglês, *polymerase chain reaction*)

PKU - fenilcetonúria

PAH - fenilalanina hidroxilase

RFLP – polimorfismo de comprimento do fragmento de restrição (do inglês, *Restriction Fragment Length Polymorphism*)

SHNS - surdez hereditária não sindrômica

SI – sem informação

SINE - do inglês *short interspersed repetitive elements*

SNP – polimorfismo de nucleotídeo único (do inglês, *Single Nucleotide Polymorphism*)

STC - síndrome de Treacher Collins

VLDL - do inglês, *very low density lipoproteins*

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Migração, formação e distribuição da população brasileira	16
1.2 Cromossomo Y e DNA mitocondrial	21
1.3 Diversidade genética e doenças	23
1.4 Doenças Genéticas, fatores evolutivos e alelos causais	26
1.5 Casamentos Consanguíneos	27
1.6 Monte Santo e Doenças genéticas	29
1.6.1 Fenilcetonúria	29
1.6.2 Mucopolissacaridose VI	30
1.6.3 Hipotireoidismo congênito	31
1.6.4 Síndrome de Treacher Collins	32
1.6.5 Osteogênese imperfeita	32
1.6.6 Surdez hereditária não-sindrômica	33
1.7 Marcadores informativos de ancestralidade (AIM)	33
1.7.1 Inserção/deleção (<i>AT3-I/D</i>)	34
1.7.2 Inserção Alu (<i>Sb19.3, APO, PV92</i>)	34
1.7.3 SNP (<i>Fy-null, LPL, CKMM, GC</i>)	35
1.7.3.1 <u><i>Fy-null</i></u> (antígeno duffy)	35
1.7.3.2 <u><i>LPL</i></u>	35
1.7.3.3 <u><i>CKMM</i></u>	36
1.7.3.4 <u><i>GC</i></u>	36
2 OBJETIVOS	37
2.1 Geral	37
2.2 Específicos	37

3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
3.1	Manuscrito 1 – Tipos de casamentos, estrutura populacional e ocorrência de doenças genéticas	39
3.2	Manuscrito 2 – Maior contribuição europeia em pacientes com deficiência auditiva causada pela c.35delG no gene GJB2	54
3.3	Manuscrito 3 – Doenças genéticas e ancestralidade	71
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	84
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
6	ANEXOS	101
6.1	Parecer do Comitê de Ética	101
7	APÊNDICES	102

1 INTRODUÇÃO

1.1 Migração, formação e distribuição da população brasileira

A migração é um dos principais fatores evolutivos que modulam a diversidade genética de populações humanas. Portanto, o entendimento das causas, padrões, e efeitos das migrações são fundamentais para interpretar a história evolutiva da nossa espécie, auxiliando assim na compreensão das alterações nas frequências alélicas e genotípicas nas populações bem como na dispersão dos variantes genéticos inclusive daqueles que são responsáveis pelas doenças genéticas. Algumas doenças apresentam frequências bem diferentes nas populações, possivelmente devido ao local de origem da mutação causal e padrão de acasalamento da população e ao efeito fundador associado à deriva genética. A distribuição espacial de algumas características pode fornecer informações relevantes sobre a história da movimentação da nossa espécie no passado.

Ao cruzar o estreito de Bering da Sibéria para a América do Norte, a humanidade iniciou o povoamento daquele que se tornaria conhecido, muito tempo depois, como Novo Mundo. Apesar de ter sido esse o caminho mais provável, a forma como se deu a fixação dos primeiros americanos é motivo de inúmeras discussões e muitas incertezas (SILVA-JR *et al.*, 2002).

Uma das principais teorias, fundamentada na análise linguística, morfologia dentária e marcadores genéticos e proteicos que tenta explicar a colonização da América foi proposta por Greenberg e cols., (1986). Segundo esses autores o continente americano teria sido povoado por três ondas migratórias distintas, a primeira há cerca de onze mil anos, composta pelos ameríndios e que deu origem à maioria dos nativos americanos atuais da América do Norte, Central e do Sul. Uma segunda onda migratória há nove mil anos, que teria originado os nativos da região noroeste dos Estados Unidos, composta pelos Na-Dene. Finalmente, uma terceira onda migratória teria ocorrido há 4-6 mil anos, originando as populações representadas pelos esquimós-aleutas. Essa hipótese mostrou-se consistente com os dados de DNA mitocondrial (TORRONI *et al.*, 1993) disponíveis na época.

Uma nova onda migratória, anterior à dos ameríndios foi proposta por Neves e cols., (1996), com base em craniometria e, segundo esses autores, esse grupo teria características morfológicas semelhantes aos atuais africanos e australianos.

Em contraposição a essas hipóteses, estudo recente analisando 8,8 kb do DNA mitocondrial de ameríndios da América do Sul sugere que a América foi povoada entre 12.366 a 19.074 anos numa única onda migratória (SILVA-JR *et al.*, 2002). De fato, numerosos estudos anteriores propõem uma onda migratória única e mais antiga (MERRIWETHER *et al.*, 1995; FORSTER *et al.*, 1996; BONATTO; SALZANO, 1997a, 1997b; STONE; STONEKING, 1998).

Os dados mais recentes obtidos dos estudos do cromossomo Y e do DNA mitocondrial mostram-se incompatíveis com o modelo de três ondas distintas provenientes da Ásia (UNDERHILL *et al.*, 1996; SANTOS *et al.*, 1999; KARAFET *et al.*, 1999).

A hipótese baseada em dados do mtDNA e de uma única onda migratória para a América é reforçada pela parcimônia na explicação da diferenciação linguística e de frequência gênica por isolamento geográfico dos indivíduos que formaram a população nativa americana, no Brasil, historicamente conhecida como índios (SILVA-JR *et al.*, 2002).

O estudo de marcadores moleculares uniparentais (cromossomo Y e DNA mitocondrial (mtDNA) (MARRERO *et al.*, 2007) e biparentais (LUIZON *et al.*, 2008), em populações ameríndias, têm mostrado que a variabilidade diferencial encontrada entre os grupos populacionais ameríndios no continente americano é consequência do isolamento geográfico destas populações. Estas diferenças podem estar relacionadas com a deriva genética e o efeito fundador uma vez que estes fatores interferem fortemente em grupos pequenos e isolados (FREIRE-MAIA, 1974; BEIGUELMAN, 1996).

A partir do ano de 1500, o tamanho desta população foi reduzido de aproximadamente 2,4 milhões, para cerca de 326.000 (CALLEGARI-JACQUES & SALZANO, 1999). Segundo o censo do IBGE (2000) apenas 0,36% dos indivíduos no Nordeste se autodenominaram como índios. Nessa região, dados moleculares têm

revelado contribuição menor deste grupo na formação da população quando comparada aos africanos e europeus (ABE-SANDES *et al.*, 2010; FELIX *et al.*, 2010).

O processo de colonização do Brasil foi marcado pela imigração, principalmente, de europeus e africanos e interferiu no tamanho populacional e na distribuição territorial dos indígenas, promovendo a erradicação e/ou deslocamento deste povo cada vez mais para o interior do estado. Este deslocamento também protegeu da escravização alguns grupos nativos americanos (AZEVEDO *et al.*, 1982). Entretanto, alguns grupos permaneceram nas regiões ocupadas pelos portugueses convivendo com estes. As alianças formadas entre os portugueses e indígenas não só consolidaram a presença portuguesa no continente americano, mas também estabeleceram os primeiros ramos de famílias brasileiras, iniciando o processo de miscigenação (MONTEIRO, 1996).

A migração europeia foi inicialmente composta quase que exclusivamente por homens, e com fluxo intenso desde o início. Estima-se que 500.000 portugueses chegaram ao Brasil até 1808 (RIBEIRO, 1995). A presença europeia foi extremamente significativa para o povoamento das terras brasileiras e com eles, posteriormente, chegaram os africanos, que vieram substituir a mão de obra escrava que era ocupada pelos povos indígenas (MONTEIRO, 1996).

De acordo com Callegari-Jacques & Salzano (1999), dos imigrantes que chegaram ao Brasil entre 1500 e 1972, 58% eram europeus, 40% africanos e 2% asiáticos. Com a abertura dos portos em 1808, o fluxo de imigrantes provenientes da Europa intensificou-se e continuou acentuado até o início do século XX. Estima-se que entre 1820 a 1975, tenha entrado no Brasil seis milhões de europeus, sendo que destes 70% eram portugueses e italianos. Outras populações como espanhóis, alemães, sírios, libaneses e japoneses também fizeram parte do contingente de imigrantes (IBGE, 2000).

Segundo Curtin (1969), o Brasil recebeu cerca de quatro milhões de escravos entre os anos de 1600 a 1870, o que compreende 40% do total de africanos que foram introduzidos nas Américas neste período. Os negros provinham de diversas regiões da África, predominando Angola, Congo e Moçambique (CURTIN, 1969), como está mostrado na Figura 1. A distribuição deste novo grupo étnico no território brasileiro foi

bastante heterogênea e, segundo Viana-Filho (1988), o Rio de Janeiro (38%) e a Bahia (25%) receberam os maiores contingentes, seguidos de Pernambuco (13%), São Paulo (12%), Maranhão (7%) e Pará (5%).

A formação da população brasileira é, portanto, resultado de 500 anos de miscigenação entre os três principais grupos étnicos ancestrais: africanos, europeus e ameríndios. Como consequência desse processo a nossa população é considerada como uma das mais heterogêneas do mundo (CARVALHO-SILVA *et al.*, 2001).

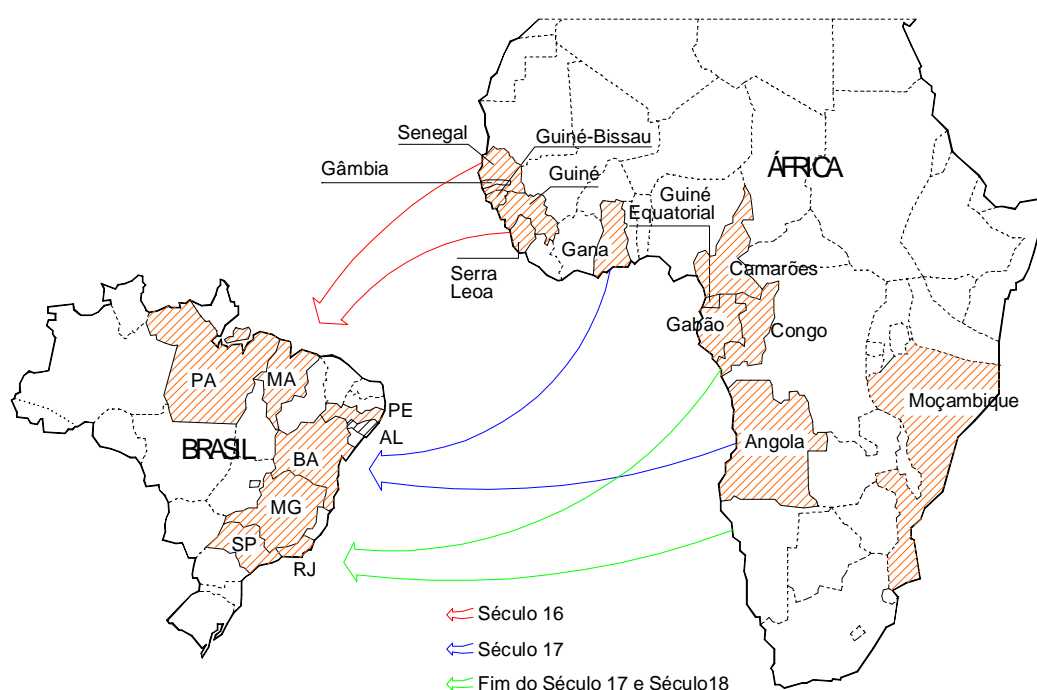


Figura 1. Demonstração sugerida da migração da população africana para o Brasil do século XVI ao século XVIII (SOUSA, 2001).

Na Bahia, Azevedo e cols. (1982) mostraram a diversidade na distribuição dos afrodescendentes, sua presença é mais significativa no litoral e em regiões economicamente importantes, como no município de Lençóis devido à exploração de minérios; na região sul do estado, com o cultivo do cacau e na região litorânea com o cultivo da cana de açúcar. Este trabalho ainda ressalta o branqueamento da população do estado da Bahia à medida que a distância do litoral aumenta, com exceção das regiões economicamente importantes, como citado anteriormente.

No período de 1880 a 1920 foi implementado no país o processo de migração seletiva objetivando o branqueamento da população e a maioria dos imigrantes europeus que entraram Brasil era proveniente da Itália (SEYFERTH,1996). O Estado brasileiro impôs restrições à entrada de imigrantes no país, sendo absolutamente restrita a entrada de imigrantes negros e a cota anual para “amarelos” era de 3%. A imigração europeia foi incentivada por uma série de propostas de estímulo à migração e política de colonização, aumentando assim as chances de branqueamento da população brasileira (RAMOS, 1996).

Mesmo após cinco séculos de mistura ainda é possível encontrar grupos humanos relativamente isolados que conservam muito das características das populações ancestrais, a exemplo dos remanescentes de quilombos e tribos indígenas, principalmente devido aos casamentos endogâmicos. Isto também mostra que a espécie humana, assim como muitos animais têm a tendência a viver em agrupamentos (isolados) (SALZANO & FREIRE-MAIA, 1970). E mesmo nos grandes centros urbanos, a miscigenação não ocorre de forma aleatória, os casamentos são preferenciais e uma das características de escolha é o grupo racial (AZEVEDO *et al.*, 1982).

Esses agrupamentos favorecem o aumento de casamentos endogâmicos, como os observados entre os índios e os judeus Ashkenazi. Estas uniões também podem diminuir a variabilidade genética da população e favorecer o aparecimento de características recessivas e também de doenças genéticas. Os pequenos agrupamentos populacionais mantendo-se parcialmente isolados sofrem ação de fatores evolutivos que podem interferir nas frequências gênicas como efeito fundador e deriva genética (FREIRE-MAIA, 1974).

As migrações internas durante o período colonial do Brasil promoveram a dispersão dos três grupos étnicos no país, favorecendo dessa forma a miscigenação. Entretanto, as proporções dos três grandes componentes étnicos variam consideravelmente conforme a região geográfica (Quadro 1). Tendo as regiões norte (68,97%) e nordeste (65,8%) os maiores contingentes de afrodescendentes (soma de pretos com pardos), ficando a segunda com o maior percentual de pretos (7,7%). Já para os brancos, o maior índice encontra-se nas regiões sudeste (62,4%) e,

principalmente, sul (83,6%). A maior concentração de indígenas é observada na região Norte (1,65%) (IBGE, 2000).

Com relação à população da Bahia os dados do IBGE (2000) mostram que 77,5% dessa população (10.095.282 indivíduos) é composta por afrodescendentes (negros/pardos). Nesta população, a análise de marcadores informativos de ancestralidade mostrou que a contribuição africana estimada foi de 47% (ABÉ-SANDES *et al.*, 2010).

Fenótipos Regiões	Branco	Preto	Indígena	Pardo	Amarelo	Sem Declaração
Brasil	53,75	6,21	0,43	38,45	0,45	0,71
Norte	28,00	5,00	1,65	63,97	0,22	1,16
Nordeste	32,90	7,70	0,36	58,10	0,14	0,80
Centro-Oeste	49,72	4,62	0,90	43,68	0,40	0,68
Sudeste	62,40	6,60	0,20	29,50	0,70	0,60
Sul	83,60	3,75	0,34	11,49	0,41	0,41

Quadro 1. Autoclassificação de raça/cor em percentual (%) da população brasileira de acordo com o censo demográfico realizado pelo IBGE em 2000.

1.2 Cromossomo Y e DNA mitocondrial

O cromossomo Y (região não recombinante) e o DNA mitocondrial (mtDNA) são conjuntos gênicos de herança uniparental, sendo um de origem paterna e o outro de origem materna, respectivamente. As variantes encontradas nesses conjuntos gênicos estão sendo amplamente utilizadas para estimar a ancestralidade de diferentes populações, facilitando a reconstrução histórica e de evolução das mesmas (BORTOLINI *et al.*, 1998; ALVES-SILVA *et al.*, 2000; SILVA-JR *et al.*, 2002; ABE-SANDES *et al.*, 2004; MENDES-JR *et al.*, 2009; NUNES *et al.*, 2011; BISSO-MACHADO *et al.*, 2011).

As alterações encontradas nesses conjuntos, conhecidos como haplótipos, permitem definir linhagens maternas e paternas alcançando dezenas de gerações no passado, podendo, assim, reconstruir a história genética e de migrações em uma população (ABE-SANDES, 2002).

Características singulares do cromossomo Y e do mtDNA como, haploidia, não recombinação com outras regiões e/ou outros cromossomos/conjuntos gênicos, que tornam a herança de pais para filhos inalterada, e a ocorrência de variações devido apenas a mutações, indicam a utilização destas na formação de haplótipos/haplogrupos que definem a origem ancestral do indivíduo e da população (GILES *et al.*, 1980; ANDERSON *et al.*, 1981; SHUSTER *et al.*, 1988; HORAI *et al.*, 1990; ABE-SANDES, 2002).

As mutações no mtDNA, principalmente nas regiões não codificadoras, como a região hipervariável I (HVS-I), que caracterizam os haplogrupos populacionais veem sendo bastante estudadas em populações brasileiras (ALVES-SILVA *et al.*, 2000; BORTOLINI *et al.*, 2002 e 2004; SILVA *et al.*, 2006; MARRERO *et al.*, 2007; GUERREIRO-JR *et al.*, 2009; LOPES-MACIEL *et al.*, 2011).

Os haplogrupos do mtDNA, L1, L2, L3a, L3b, L3c, L3d constituem linhagens africanas sub-saharianas; os haplogrupos A, B, C, D referem-se a linhagens americanas; M compreende a linhagem asiática; H, I, J, K, T, U, V, W correspondem as linhagens europeias, o haplogrupo X é uma linhagem de origem tanto europeia quanto americana ou asiática (*A human mitochondrial genome database - MITOMAP*).

A distinção dos haplogrupos do cromossomo Y é realizada pelo estudo de marcadores *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP). Os haplogrupos A, B e E caracterizam linhagens africanas, as europeias são contempladas pelos haplogrupos I e R; os asiáticos estão reunidos nos haplogrupos D, C, F2 e O e os nativos americanos apresentam o haplogrupo Q; os demais haplogrupos, em sua maioria, apresentam ampla distribuição geográfica, segundo Karafet e cols (2008).

1.3 Diversidade genética e doenças

A diversidade entre os seres vivos e entre os indivíduos de uma mesma espécie é um fato já observado e discutido nos trabalhos de Darwin e Wallace.

As primeiras análises sobre a diversidade biológica humana foram feitas utilizando características morfológicas (COON, 1965); em seguida utilizando-se variantes proteicas (HARRIS & HOPKINSON, 1972) e, na atualidade são preferencialmente utilizados os variantes de DNA. Os avanços tecnológicos na área da biologia molecular revelaram grande diversidade da nossa espécie.

A frequência de alguns marcadores mostrou-se diferente entre populações e ou regiões geográficas (CAVALLI-SFORZA & BODMER, 1971). A análise desta heterogeneidade é importante para a descrição da diversidade genética populacional, reconstrução histórica dos povoamentos (YANAGIHARA *et al.*, 1995; CALLEGARI-JACQUES & SALZANO, 1999) e estimativa de contribuição das populações ancestrais na formação de populações miscigenadas (SHRIVER *et al.*, 1997; PARRA *et al.*, 1998; PARRA *et al.*, 2001; SHRIVER *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2010; ABE-SANDES *et al.*, 2010; FELIX *et al.*, 2010).

A estimativa de contribuição genética na formação das populações pode ser realizada avaliando-se marcadores uniparentais, cromossomo Y e mtDNA. O uso destes marcadores é também importante para avaliar diferenças entre a contribuição materna e paterna na formação de uma população (GILES *et al.*, 1980; JOBLING & TYLER-SMITH, 1995).

As estimativas de mistura na população baseadas em marcadores uniparentais (Y e mtDNA) mostraram resultados contrastantes entre si. Utilizando marcadores bialélicos do cromossomo Y numa amostra de brasileiros descendentes de europeus, Abé-Sandes e cols. (2004) observaram apenas 2% de cromossomos típicos de africanos e nenhum cromossomo Y ameríndio; resultados semelhantes (2,5% de linhagens africanas) foram observados por Carvalho-Silva e cols. (2001) em brasileiros brancos. Já os resultados do mtDNA em brasileiros brancos revelaram frequências diferentes nas contribuições ameríndias e africanas nesta população, com descrição de 33% e 28% (ALVES-SILVA *et al.*, 2000) e de 12,8% e 21,4% (ABE-SANDES, 2002),

respectivamente. Estes dados corroboram a presença de diferenças na contribuição ancestral das populações brasileiras devido a diferenças na distribuição dos ancestrais pelo território brasileiro. Numa amostra de afrodescendentes de Salvador-BA e Ribeirão Preto-SP, Abé-Sandes (2002) observou frequência elevada de linhagens mitocondriais africanas com 85,8% e 76%, respectivamente; além da presença de linhagens ameríndias com 2,9% e 18%, respectivamente. A amostra de Ribeirão Preto-SP foi a única que apresentou haplogrupo mitocondrial europeu (4%), mostrando miscigenação diferente e maior quando comparada com a amostra de Salvador.

As frequências alélicas observadas em populações afrodescendentes, tendo como base vários marcadores são, na maioria das vezes, muito semelhantes às observadas nas populações africanas, ou seja, há um predomínio de contribuição africana (SOUZA & CULPI, 1992; OLIVEIRA *et al.*, 2001; COTRIM, 2003; ABÉ-SANDES *et al.*, 2004; ABÉ-SANDES *et al.*, 2010; FELIX *et al.*, 2010). A diversidade gênica observada em tais populações variou conforme o tipo de marcador empregado nas análises; entretanto, mostrou alta similaridade com populações africanas.

As análises de marcadores bialélicos do cromossomo Y em populações brasileiras descendentes de japoneses, de europeus e de africanos mostraram que a diversidade genética intrapopulacional foi de 73,18%, sendo responsável pela maior parte da variação genética total, com diferença genética entre os grupos de 23,52% (ABÉ-SANDES *et al.*, 2004).

A diversidade gênica intrapopulacional indicada por marcadores moleculares de evolução rápida demonstrou ser maior nos africanos, e menor em ameríndios (BOWCOCK *et al.*, 1994; ZAGO *et al.*, 1996). Este parâmetro em africanos é similar ao observado em populações afro sul-americanas, quando analisados por marcadores proteicos (BORTOLINI *et al.*, 1998), minissatélites (BORTOLINI *et al.*, 1998) e microssatélites (BARBOSA *et al.*, 2006).

A presença de linhagens Y ameríndias (3% a 18%) foi observada nas comunidades situadas na região norte do país (BATISTA-DOS-SANTOS *et al.*, 1999) e em 2% dos afro-brasileiros de Salvador (ABÉ-SANDES *et al.*, 2004). Diferentemente, no mtDNA, a contribuição de ameríndios foi elevada em todas as comunidades

afroderivadas (ABÉ-SANDES, 2002), sugerindo desta forma, assimetria nas contribuições masculina (dados do cromossomo Y) e feminina (dados do DNAm) na formação destas populações.

Os resultados destes estudos, aliados aos dados históricos, evidenciam a ocorrência no passado de um forte direcionamento entre os casamentos, sendo mais frequentes as uniões entre homens europeus e mulheres ameríndias e africanas (ALVES-SILVA *et al.*, 2000; CARVALHO-SILVA, 2001; ABÉ-SANDES *et al.*, 2004;).

Alguns estudos mostram associação entre a ancestralidade e determinadas doenças. Isso mostra a existência de risco diferencial de desenvolvimento de algumas doenças a depender do grupo étnico ou região geográfica, podendo ocorrer associação para doenças (PENA, 2005; HABER *et al.*, 2011; SCHLESINGER *et al.*, 2011) como, por exemplo, doenças cardiovasculares (THOMAS *et al.*, 2005), tromboembólicas (CAMARGO *et al.*, 2005), câncer de próstata (KITTLES *et al.*, 2002; PASCHOALIN *et al.*, 2003), hiperhomocisteínemia (ARRUDA *et al.*, 1998) e hepatite crônica C (NGUYEN & THULUVATH, 2008).

Um exemplo de doença associada não apenas ao grupo étnico e/ou região geográfica é a infecção pelo HTLV, que é mais prevalente em africanos. Em estudo realizado na população de Salvador-BA, onde a prevalência de infecção pelo HTLV-I variou de 3,85% a 1,23% entre os bairros da cidade, foi possível observar sequências virais de origem africana. Estudos moleculares sugerem que o subgrupo viral, Transcontinental, foi introduzido pela primeira vez na África do Sul como resultado da migração da população Bantu da África Central para a África do Sul nos últimos 3.000 anos, e depois para o Brasil durante o tráfico de escravos entre os séculos XVI e XIX (REGO *et al.*, 2008).

Os haplogrupos do mtDNA têm sido associados à algumas doenças, a exemplo da doença de Huntington, para a qual já foi descrito o haplogrupo H (de origem europeia), que foi associado a menor idade de início da doença (SANCHEZ-FERRERO *et al.*, 2011). Para a neuropatia ótica hereditária de Leber também já foi demonstrada associação de haplogrupos do mtDNA com diferenças na penetrância de mutações para esta doença (SANCHEZ-FERRERO *et al.*, 2011).

Outra doença já associada com ancestralidade e origem geográfica é a anemia falciforme. Estudos na cidade de Salvador, Bahia, mostraram frequência de 7,6% a 15,9% de heterozigotos em afro-descendentes (AZEVEDO *et al.*, 1980) consequência do fluxo elevado de escravos provenientes do oeste e centro da África (VERGER, 1987).

O papel da migração associado à ocorrência e distribuição da anemia falciforme na população brasileira pode ser evidenciado no trabalho de Watanabe (2008), onde foi observado menor frequência da hemoglobina S (HbS) em indivíduos do estado do Paraná, onde a população branca é mais prevalente, quando comparado com estudos na população da Bahia que possui maior contingente de afrodescendentes (Quadro 1).

1.4 Doenças genéticas, fatores evolutivos e alelos causais

As doenças genéticas podem ser monogênicas, cromossômicas, multifatoriais e mitocondriais. As monogênicas, quando apenas um gene está envolvido na ocorrência da doença, são divididas em: ligadas ao X e autossômicas. As doenças genéticas com padrão autossômicas, por sua vez, podem ainda ser classificadas em recessivas, quando são necessários dois alelos alterados para a expressão de um fenótipo, e dominantes, quando apenas um alelo mutado é suficiente para o aparecimento da doença genética (BORGES-OSÓRIO & ROBINSON, 2001).

As doenças genéticas recessivas, em sua maioria, apresentam incidência populacional baixa. O aumento do número de afetados por este tipo de enfermidade depende da frequência alélica e da ocorrência de casamentos endogâmicos que aumentam a frequência de homozigotos em detrimento à de heterozigotos (BEIGUELMAN, 1996; BORGES-OSÓRIO & ROBINSON, 2001).

As frequências das características genéticas, inclusive das doenças, podem variar entre as populações, como por exemplo, a fenilcetonúria que possui incidência estimada em 1:10.000 em população eurodescendente (SCRIVER & KAUFMAN, 2001); em Salvador - Bahia-Brasil, esta incidência foi estimada em 1:22.000 nativos (AMORIM *et al.*, 2005). Outras doenças chegam a ser consideradas extremamente raras, a exemplo da mucopolissacaridose do tipo VI (MPSVI), que possui incidência

mundial variando de 1:238.095 a 1:423.610 nascidos vivos (NELSON *et al.*, 2003), no Brasil, a ocorrência é estimada em 1:1.298.469 nascidos vivos (MABE *et al.*, 2004).

Não só casamentos endogâmicos podem alterar a incidência dessas doenças, mas também fatores evolutivos como, a deriva genética e efeito fundador (BEIGUELMAN, 1996).

O estudo multicêntrico que avaliou pacientes com MPSVI provenientes da América do Norte, América do Sul, Europa e Austrália identificou 83 mutações causadoras da doença, confirmando assim a heterogeneidade genética da mesma. Algumas destas mutações foram observadas apenas em pacientes brasileiros (H178L, L98Q, R197X, L72R e IVS5-8t>g) (KARAGEORGOS *et al.*, 2007). Já as mutações R315Q e S384N, que foram encontradas em pacientes de origem portuguesa, são também compartilhadas por pacientes brasileiros. A entrada destas mutações na nossa população, possivelmente, ocorreu através de imigrantes provenientes desse país. Portanto, a presença de determinados variantes e ausência de outros, bem como frequências de alguns alelos pode ser explicado por efeito fundador e/ou deriva genética. Outros exemplos de efeito fundador por migração são os variantes R252W, causadora da fenilcetonúria, e 35delG, que está associada com surdez hereditária não sindrômica, que conhecidamente possuem origem europeia, sendo a R252W (RIVERA *et al.*, 1998; DESVIAT *et al.*, 1999) proveniente da península ibérica (Portugal e Espanha) e Itália, principais imigrantes europeus que colonizaram o Brasil.

1.5 Casamentos consanguíneos

A união entre pessoas biologicamente aparentadas, ou seja, que possuem pelo menos um ancestral comum é conhecida como casamento consanguíneo (BITTLES, 2001; SAADAT, 2007a). Este tipo de casamento tem sido um hábito social antigo nas populações (RAFIEE *et al.*, 2010). Estudo recente estimou que nas populações mundiais 10,4% dos casamentos são entre parentes (BITTLES *et al.*, 2010). A prevalência de casamentos consanguíneos depende de fatores demográficos, religiosos, culturais e socioeconômicos (BITTLES, 2001; SAADAT *et al.*, 2007; 2008). No Brasil, Freire-Maia (1957) concluiu que o padrão cultural, o nível econômico, a

migração, a densidade populacional e o grau de ruralização são os fatores que influenciam os níveis de endogamia.

A distribuição das taxas de endogamia no Brasil é heterogênea. No Brasil, a intensidade da endogamia aumenta do litoral para o interior (FREIRE-MAIA, 1957). A região Sul é caracterizada por frequências relativamente baixas de casamentos consanguíneos, enquanto o Nordeste apresenta os maiores coeficientes de endogamia do país (FREIRE-MAIA, 1957).

Alguns estudos têm mostrado aumento significativo de esterilidade, aborto, perdas perinatais e morte neonatal em famílias consanguíneas, da mesma forma a ocorrência de malformações entre filhos de casamentos consanguíneos é maior que entre filhos de pais não aparentados. (AL-AWADI *et al.*, 1986; BITTLES *et al.*, 1993; DAWODU *et al.*, 1996; AL-ABDULKAREEM & BALLAL, 1998; OBER *et al.*, 1999; AL-RIFAI & WOODY, 2007; KERKENI *et al.*, 2007).

Entretanto, a principal consequência de casamentos consanguíneos é o aumento do risco de aparecimento de doenças autossômicas recessivas (RAFIEE *et al.*, 2010). Por isso, este tipo de casamento é frequentemente investigado em famílias com doenças recessivas (KHLAT *et al.*, 1991; BITTLES *et al.*, 1993; TUNCBILEK & KOC, 1994; STOLTENBERG *et al.*, 1999; BITTLES, 2001; SAADAT & ZENDEH-BOODI, 2006; SAADAT, 2005, 2007, 2008a, 2008b; TADMOURI *et al.*, 2009).

Estudos têm mostrado a importância dos casamentos consanguíneos na ocorrência de doenças e/ou fenótipos recessivos como a síndrome que associa amelogênese imperfeita com nefrocalcinose, risco aumentado para asma, paraplegia espástica, atrofia óptica e neuropatia e esquizofrenia em idade precoce (PAULA *et al.*, 2005; MACEDO-SOUSA *et al.*, 2005; 2009; MAHDI *et al.*, 2010; NAFISSI *et al.*, 2011).

A migração, o efeito fundador, a deriva genética e os casamentos consanguíneos são fatores de risco para doenças recessivas e influenciam a estrutura e formação de uma população (FREIRE-MAIA, 1974; BEIGUELMAN, 1996; BORGES-OSÓRIO & ROBINSON, 2001).

1.6 Monte Santo e doenças genéticas

O município de Monte Santo situa-se no interior do estado da Bahia, latitude: 10° 26' 16" S, longitude: 39° 19' 58"O, abrangendo 3.285km² de área, ocupada por uma população de 52.339 habitantes (IBGE, 2010). Este município está localizado a 352 km de Salvador, capital do estado.

Monte Santo foi fundada a partir da Missão do capuchinho italiano Frei Alopônio de Toddi que observou semelhança entre uma colina localizado nesta cidade, com o calvário de Jerusalém. Neste monte foram então construídas capelas contendo painéis representativos da vida de Nosso Senhor. E por consequência da fé religiosa dos moradores do local e da atribuição de milagres ao monte, o município foi denominado Monte Santo (IBGE, 2010).

Além da importância da fé e da religiosidade neste município alguns fatos também marcam sua história, como a queda do meteorito Bendegó. Descoberto no interior do município em 1784, foi transportado em 1887 para o Museu Nacional do Rio de Janeiro, onde ainda se encontra. Pesa aproximadamente 6.000 quilos e é considerado um dos maiores do mundo (IBGE, 2010). O município também foi palco da Guerra de Canudos, dados relatados na obra literária de Euclides da Cunha – “Os sertões”; a cidade também está representada nas cenas do filme “Deus e o Diabo na terra do sol” de Glauber Rocha e Walter Lima Jr.

Em excursões realizadas ao município, por uma equipe multidisciplinar, foi identificada prevalência elevada de doenças genéticas, a maioria autossômica recessiva. Abaixo segue a descrição das doenças genéticas encontradas até o momento no município.

1.6.1 Fenilcetonúria

A fenilcetonúria (PKU) é uma doença autossômica recessiva resultante da deficiência da enzima fenilalanina hidroxilase (PAH), na grande maioria dos casos causada por mutação no gene da *PAH* (região 12q22-q24.1) (OMIM# 251580). A alteração nesse gene leva à deficiência de seu produto, promovendo, com isso, o

aumento dos níveis séricos de fenilalanina e de seus metabólitos secundários (SCRIVER & KAUFMAN, 2001).

A deficiência enzimática causa intolerância à ingestão do aminoácido essencial fenilalanina. Esta deficiência é bastante heterogênea em decorrência do alelo apresentado pelo paciente, podendo gerar diferentes quadros clínicos e/ou bioquímicos, como a PKU clássica – deficiência completa da atividade enzimática; Hiperfenilalaninemia não PKU – deficiência enzimática com aumento de fenilalanina sérica, sem intolerância dietética, tendo este menor associação com risco de desenvolvimento cognitivo na ausência de tratamento.

A heterogeneidade da PKU é consequência do número elevado de mutações identificadas no gene da *PAH* (550 mutações - *Phenylalanine Hydroxylase Knowledgebase*, 2010). A mutação mais frequentemente identificada em diferentes populações estudadas é a R408W. Os países que apresentam o maior número de mutações descritas são a Inglaterra, Espanha, Canadá, EUA, Itália, Noruega, Bélgica e Alemanha (SCRIVER *et al.*, 2001).

A incidência da PKU varia de 1:8.000 a 1:25.000, em nascidos vivos (NV), em populações europeias e asiáticas, sendo de aproximadamente 1:11.000 em Portugal. No Brasil, a incidência descrita varia entre 1:15.000 a 25.000 NV, tendo sido anteriormente descrita como de 1:22.000 na Bahia (CARVALHO *et al.*, 2003; AMORIM *et al.*, 2005; VILARINHO *et al.*, 2006; LEÃO *et al.*, 2008). Em Monte Santo a prevalência da PKU foi estimada em 1:5000 (AMORIM *et al.*, 2011).

1.6.2 Mucopolissacaridose VI

As mucopolissacaridoses (MPS) são um grupo de doenças hereditárias causadas pela deficiência de uma das onze enzimas lisossomais envolvidas na degradação dos glicosaminoglicanos (GAGs) (NEUFELD & MUENZER, 2001).

A mucopolissacaridose tipo VI (MPS VI) ou síndrome de Maroteaux-Lamy é uma doença autossômica recessiva, causada pela deficiência da enzima N-acetilgalactosamina-4-sulfatase ou arilsulfatase B (ARSB). A MPS VI é caracterizada

pelo armazenamento intralisossomal e excreção urinária de níveis elevados de dermatan sulfato (COSTA-MOTTA *et al.*, 2011).

A incidência de MPSVI varia de 1:238.095 a 1:423.610 NV (NELSON *et al.*, 2003), no Brasil, a ocorrência é estimada em 1:1.298.469 NV (MABE *et al.*, 2003). Em Monte Santo estima-se uma prevalência de 1:6000 (COSTA-MOTTA *et al.*, 2011).

Karageorgos e cols. (2007) identificaram 83 mutações no gene ARSB em pacientes da América do Norte, América do Sul, Europa e Austrália. As mutações p.H178L, p.L98Q, p.R197X, p.L72R e g.IVS5-8t>g foram observadas apenas em pacientes brasileiros.

1.6.3 Hipotireoidismo Congênito

O hipotireoidismo congênito (HC) é consequência de má formação da tireoide em 80 a 85% dos casos (MACCHIA *et al.*, 1998). Nestes casos, a glândula tiróide pode estar ausente (agênese), localizada ectopicamente, e/ou bastante reduzida em tamanho (hipoplasia). Quando a terapia hormonal não é iniciada nos primeiros 2 meses de vida, o HC pode causar graves danos neurológicos, mentais e motores (MACCHIA *et al.*, 1998).

Segundo Ribeiro e cols. (2002) os dados obtidos pelo Centro de Triagem Neonatal de Porto Alegre em 2000, mostraram incidência de 1:3.500 para o HC. Em Minas Gerais, a incidência foi de 1:4.375 (SILVA *et al.*, 2005); na Bahia, segundo Almeida (2003), a incidência de HC foi de 1:4.000. Em trabalho realizado recentemente, a incidência na Bahia no ano de 2009 foi de 1:3.070 NV (LACERDA *et al.*, 2009). Em Monte Santo a frequência de HC é estimada em 1:5000 (OLIVEIRA, 2010). A incidência de HC pode sofrer variação entre as diferentes etnias, áreas geográficas e na presença de consanguinidade. A frequência é maior em brancos do que em negros, sendo sua ocorrência três a quatro vezes maior no sexo feminino (LAFRANCHI, 1999).

Em cerca de 5% dos casos de HC foram evidenciadas mutações em genes envolvidos no desenvolvimento da glândula, mas a maioria dos casos é de ocorrência esporádica e sua patogênese permanece desconhecida, indicando a sua complexidade (DE FELICE & DI LAURO, 2004).

Já foram identificados mais de 14 genes associados às causas de HC. Mutações no gene codificador do receptor de TSH (TSHR) têm sido identificadas como causa de HC hereditário ou congênito. A frequência destas mutações é desconhecida, porém parece ser rara (0,01%) (DUPREZ, 1998).

1.6.4 Síndrome de Treacher Collins

A síndrome de Treacher Collins (STC) é uma desordem autossômica dominante de expressão variável, caracterizada por hipoplasia dos ossos zigomáticos e mandíbula, anormalidades na orelha externa, ausência de cílios na pálpebra inferior e deslocamento de pêlos pré-auriculares. Cerca de 40% a 50% dos indivíduos têm perda auditiva condutiva atribuída mais comumente a malformação, incluindo fusão, hipoplasia, ou ausência dos ossículos e hipoplasia das cavidades do ouvido médio, mas as estruturas da orelha interna tendem a ser normais (OMIM #154500).

Mutações no gene que codifica a proteína Treacle (*TCOF1*) (5q32), associada com a produção de ribossomos, já foram identificadas, em sua maioria têm como consequência a formação de um códon prematuro de parada da síntese proteica (OMIM #154500).

1.6.5 Osteogênese Imperfeita

A osteogênese imperfeita (OI) é um grupo de transtornos caracterizados por fraturas com trauma mínimo ou ausente, dentinogênese imperfeita (DI), e, em idade adulta, a perda de audição. As fraturas podem ocorrer em qualquer osso, mas são mais comuns nas extremidades. A DI é caracterizada por alteração na cor e na estrutura na dos dentes que podem aparecer translúcidos e desgastados, com facilidade para quebrar. Antes de entender a base molecular da OI, esta foi classificada em quatro tipos, com base no modo de herança, apresentação clínica e exame radiológico. Com detalhados estudos radiográficos e de morfologia óssea e análises de genética molecular, a classificação se expandiu para sete tipos (Genereviews).

Alterações nos genes *COL1A1* e *COL1A2*, envolvidos na produção de colágeno, estão associadas com o desenvolvimento da doença (OMIM#166210).

1.6.6 Surdez Hereditária não-sindrômica

A deficiência auditiva (DA) é causada por fatores genéticos, ambientais ou por ambos. Nos países desenvolvidos, cerca de 60% dos casos de DA são hereditários, 30% adquiridos e 10% sem etiologia definida. As formas não-sindrômica e-sindrômica ocorrem, respectivamente, em 70% e 30% dos casos hereditários (BITNER-GLINDZICZ, 2002; VAN LAER *et al.*, 2003). Não há dados oficiais sobre a prevalência da etiologia da DA no Brasil, mas sabe-se que a maioria ocorre por fatores ambientais (RUSSO, 2000).

Mutações no *locus* 13q11-q12 são as principais causas de DA genética, principalmente nos casos de DA herdada com padrão autossômico recessivo (KELSELL *et al.*, 1997; ESTIVILL *et al.*, 1998; KENNESON *et al.*, 2002; NCBI - OMIM # 220290; BALLANA *et al.*, 2010). Neste *locus* são encontrados os genes *GJB2* e *GJB6*, que codificam proteínas chamadas conexina 26 (Cx26) e conexina 30 (Cx30), respectivamente (DEL CASTILLO *et al.*, 2002; GRIFA *et al.*, 1999).

Cerca de 110 mutações associadas à DA não-sindrômica foram descritas no gene *GJB2* até o momento. Noventa e uma dessas estão associadas com DA herdada com padrão autossômico recessivo, nove com padrão autossômico dominante e 10 com padrão não-identificado (BALLANA *et al.*, 2010). A mutação mais comum entre os pacientes com DA não-sindrômica herdada com padrão autossômico recessivo é denominada c.35delG. Esta é uma mutação causada pela deleção de uma guanina na região composta por uma sequência de seis guaninas encontradas na posição 30-35 da região codificante do gene *GJB2* (GASPARINI *et al.*, 2000). Esta mutação mostra-se mais frequente em populações europeias.

1.7 Marcadores informativos de ancestralidade (AIM)

São considerados marcadores informativos de ancestralidade (AIM) aqueles alelos que apresentam um diferencial de frequência (δ) maior que 30% entre quaisquer duas populações definidas geográfica ou etnicamente (SHRIVER *et al.*, 1997). Esses marcadores são representados por diferentes variantes genéticas, como polimorfismos de único nucleotídeo (SNP), inserções e deleções de nucleotídeos ou até mesmo

inserções *Alu*. Os marcadores analisados no presente trabalho encontram-se caracterizados a seguir.

1.7.1 Inserção/deleção (*AT3-I/D*)

A antitrombina III (*AT3*) é um membro da família dos inibidores da serina proteinase. Ela inativa, irreversivelmente, várias proteinases de coagulação, tais como os fatores IXa, Xa, XIIa e trombina. O gene da *AT3* localiza-se no cromossomo 1 (1q25.1), possui 19kb e sete éxons (LIU *et al.*, 1995). No presente estudo foi analisado o polimorfismo de comprimento de 76bp (inserção/deleção) na região 5' do éxon 1 (LIU *et al.*, 1995). A presença desta inserção gera um fragmento de 572bp e caracteriza o alelo *AT3-I/D*1*, mais frequente na população africana.

1.7.2 Inserções *Alu* (*SB19.3*, *APO* e *PV92*)

As inserções *Alu* são repetições intercalantes curtas (SINE, do inglês *short interspersed repetitive elements*) diméricas de aproximadamente 300pb, e representam 10% do genoma humano. Cada elemento *Alu* é um retrotransposon homólogo ao gene 7SL RNA e que se movimenta através do genoma de primatas por um processo definido como retrotransposição. Os polimorfismos de inserções *Alu* são marcadores ideais para estudos evolucionários humanos porque a retrotransposição produz eventos de inserção irreversíveis e amplamente distribuídos, cada qual com o estado ancestral conhecido (WATKINS *et al.*, 2001). Os elementos *Alu* podem ser classificados em famílias e subfamílias com base na identidade nucleotídica entre elas.

A inserção *Alu Sb19.3* pertence a subfamília Yb8 e está localizada no cromossomo 19p12 (ARCOT *et al.*, 1998). A presença da inserção *Alu* gera um fragmento de aproximadamente 457pb que caracteriza o alelo *Sb19.3*1*. Este alelo apresenta frequência elevada em europeus e nativo-americanos. O locus *Alu APO* está próximo ao complexo de genes da apolipoproteína AI-CIII-AIV no braço longo do cromossomo 11 (KARATHANASIS *et al.*, 1986). A presença da inserção *Alu* gera um fragmento de aproximadamente 409pb e caracteriza o alelo *APO*1*, bastante frequente em nativos americanos e europeus. O *Alu PV92* localiza-se no cromossomo 16

(BATZER *et al.*, 1994) e a caracterização do alelo *PV92*1* dá-se pela presença da inserção *Alu* que gera um fragmento de aproximadamente 400pb, mais prevalente em populações asiáticas.

1.7.3 SNP (*FY-null*, *LPL*, *CKMM*)

1.7.3.1 *FY-null* (antígeno Duffy)

Os antígenos Duffy são proteínas multiméricas da membrana de eritrócitos compostas por diferentes subunidades. Uma glicoproteína de 35 a 45 kD nomeada GPD é a subunidade principal da proteína complexa e tem as determinantes antigênicas definidas por anti-Fy (a), anti-Fy (b), e os anticorpos anti-Fy6 (HADLEY *et al.*, 1984). O fenótipo Fy (a-b-) fornece a proteção completa para infecção pelo *Plasmodium vivax*.

O sistema de Duffy foi o primeiro grupo sanguíneo a ter o *locus* genético atribuído ao cromossomo autossômico específico, o cromossomo 1 (DONAHUE *et al.*, 1968). A variante a ser analisada neste estudo está relacionada com o fenótipo Fy (a-b-) que teve sua base molecular demonstrada por Tournamille e cols. (1995). Esta é uma transição de uma adenina (A) para uma guanina (G) na posição -46 da região promotora deste gene. A população europeia praticamente possui apenas o alelo A, convencionalmente chamado de alelo *FY-null*1*, juntamente com os nativos americanos, enquanto que os africanos apresentam apenas o alelo G.

1.7.3.2 *LPL*

A lipoproteína lipase (*LPL*) está envolvida no metabolismo de triglicérides através do catabolismo de partículas como quilomícrons e VLDL (do inglês, very low density lipoproteins) (STEPANOV & LEMZA, 1993). A variante a ser estudada no locus *LPL* é uma transição de uma timina (T) para uma citosina (C) e encontra-se no intron 6 do gene da lipoproteína lipase (*LPL*), onde o alelo T, também conhecido como alelo *LPL*1*, encontra-se mais frequente em populações africanas e o alelo C em populações asiáticas, sendo que as populações europeias apresentam frequências semelhantes desses alelos.

1.7.3.3 CKMM

A creatina cinase, codificada pelo gene *CK*, existe como um dímero sendo que a enzima do músculo (MM) consiste em 2 subunidades idênticas de M, e a do cérebro (BB) consiste em 2 subunidades idênticas de B (DAWSON *et al.*, 1968). Outros tecidos mostram uma terceira, a enzima híbrida MB. As isozimas dimericas da creatina cinase estão envolvidas na manutenção dos níveis intracelulares de ATP, particularmente nos tecidos que têm demandas de energia elevada. A isozima MM da creatina cinase é encontrada exclusivamente em músculo estriado; a isozima BB é encontrada no músculo liso, cérebro e nervos; CKMB é encontrado no coração humano.

O gene da creatina cinase está localizado no cromossomo 19q13.32 e o polimorfismo estudado neste gene consiste em uma transição C>T, no éxon 8. Sendo o alelo C prevalente nas populações européias e africanas e o T, ou alelo *CKMM*1*, na asiática.

1.7.3.4 GC

O gene GC codifica a proteína ligadora de vitamina D e está localizado no cromossomo 4. Neste foram identificadas duas mutações no éxon 11, uma na posição 34, uma transição de G para T, que leva a troca de um ácido aspártico para um ácido glutâmico na cadeia polipeptídica, no códon 416. E outra no nucleotídeo 45, a substituição de uma C por uma A com conseqüente alteração de um aminoácido treonina para uma lisina no códon 420 (BRAUN *et al.*, 1992).

A combinação dessas mutações gera três diferentes isoformas da proteína ligadora de vitamina D (SANDFORD *et al.*, 1997). Cada isoforma corresponde a um alelo: *1F (T para o nucleotídeo 34 e C para o 45), mais frequente em africanos, *1S (G para o 34 e C para 45), mais frequente em europeus, e o 2 (com uma T na posição 34 e A na 45).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Estimar a ancestralidade genética para inferir origem das mutações causadoras das doenças e inferir quais fatores evolutivos estão envolvidos na distribuição, aumento de frequência e manutenção de doenças genéticas observadas no município de Monte Santo-BA;

2.2 Específicos

- Avaliar a dinâmica matrimonial e verificar sua influência na ocorrência das doenças genéticas;

- Inferir origem e migração da população fundadora de Monte Santo pela análise das linhagens do DNA mitocondrial e do cromossomo Y e da origem das mutações causais;

- Estimar a contribuição das populações ancestrais africana, europeia e ameríndia em indivíduos com doenças genéticas de Monte Santo;

- Avaliar a influência da estrutura da população e o aparecimento e manutenção das doenças genéticas.

A **metodologia**, os **resultados** e a **discussão** desta tese estão descritos nos manuscritos 1, 2 e 3. As figuras e tabelas estão posicionadas após as referências de cada manuscrito.

3.1 MANUSCRITO 1

Manuscrito aceito para publicação pela revista: Journal of Biosocial Science

Tipos de casamentos, estrutura populacional e ocorrência de doenças genéticas

Machado, TMB^{1,4}; Bomfim, TF^{1,4}; Souza, LV⁵; Soares, N¹; Santos, FL⁶; Acosta, AX^{1,2}; Abe-Sandes, K^{1,3,4}

¹Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz (CPqGM) / FIOCRUZ- BA; ²Faculdade de Medicina da Bahia - Universidade Federal da Bahia (UFBA)

³Universidade Estadual da Bahia (UNEB); ⁴Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular – Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (Labimuno/ICS/UFBA); ⁵Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia da Bahia (IFBA); ⁶Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)

RESUMO

A ocorrência de casamentos consanguíneos em taxas elevadas pode favorecer o aparecimento e o aumento da frequência de doenças autossômicas recessivas em uma população. A população do município de Monte Santo-BA apresenta elevada frequência de doenças genéticas raras, como mucopolissacaridose tipo VI. Com o objetivo de verificar a influência dos casamentos consanguíneos no aumento da frequência das doenças genéticas observadas foi avaliada a estrutura da população e a frequência dos tipos de casamentos em diferentes períodos. Foram analisados os registros de casamento da paróquia do município em três períodos: 1860 a 1895; 1950 a 1961 e 1975 a 2010, totalizando 9765 casamentos, cujas taxas de consanguinidade observadas foram de 37,1%, 13,2% e 4,2%, respectivamente. Além da alta taxa de endocruzamento, predominaram os casamentos endogâmicos em todos os períodos. No último período observou-se aumento de casamentos exogâmicos e entre imigrantes, porém a maioria destes ocorreu entre indivíduos provenientes de cidades vizinhas à Monte Santo. A baixa taxa de migração e as altas frequências de casamentos endogâmicos e consanguíneos mostram que o crescimento desta população é predominantemente interno e justificam a ocorrência e aumento na frequência de doenças genéticas recessivas neste município.

Palavras Chave: Casamentos consanguíneos; doenças genéticas; migração

Introdução

A união, entre pessoas biologicamente relacionadas, ou seja, que possuem pelo menos um ancestral comum é conhecida como casamento consanguíneo (BITTLES, 2001; SAADAT, 2007). Este tipo de casamento tem sido um hábito social de longas

datas nas populações (RAFIEE *et al.*, 2010). Estudos recentes estimam que nas populações mundiais 10,4% dos casamentos são entre parentes (BITTLES *et al.*, 2010). A prevalência de casamentos consanguíneos depende de fatores demográficos, religiosos, culturais e socioeconômicos (BITTLES, 2001; SAADAT *et al.*, 2007; 2008b). No Brasil, Freire-Maia (1957) conclui que o padrão cultural, o nível econômico, a migração, a densidade populacional e o grau de ruralização são os fatores que influenciam os níveis de endogamia.

A distribuição das taxas de endogamia no Brasil é heterogênea. No Brasil, a intensidade da endogamia aumenta do litoral para o interior (FREIRE-MAIA, 1957). A região Sul é caracterizada por frequências relativamente baixas de casamentos consanguíneos, enquanto o Nordeste apresenta os maiores coeficientes de endogamia do país.

Alguns estudos têm mostrado aumento significativo de esterilidade, aborto, perdas perinatais e morte neonatal em famílias consanguíneas. Muitos estudos têm mostrado que a ocorrência de malformações entre filhos de casamentos consanguíneos é maior que entre filhos de pais não aparentados. (AL-AWADI *et al.*, 1986; BITTLES *et al.*, 1993; DAWODU *et al.*, 1996; AL-ABDULKAREEM & BALLAL, 1998; OBER *et al.*, 1999; AL-RIFAI & WOODY, 2007; KERKENI *et al.*, 2007).

Entretanto, a principal consequência de casamentos consanguíneos é o aumento do risco de aparecimento de doenças autossômicas recessivas (RAFIEE *et al.*, 2010). Por isso, este tipo de casamento é frequentemente investigado em famílias com doenças recessivas (KHLAT *et al.*, 1991; BITTLES *et al.*, 1993; TUNCBILEK & KOC, 1994; STOLTENBERG *et al.*, 1999; BITTLES, 2001; SAADAT & ZENDEH-BOODI, 2006; SAADAT, 2005, 2007, 2008a, 2008b; TADMOURI *et al.*, 2009).

Estudos têm mostrado a importância dos casamentos consanguíneos na ocorrência de doenças e/ou fenótipos recessivos como associação de amelogênese imperfeita com nefrocalcinose, risco aumentado para asma, paraplegia espástica, atrofia óptica e neuropatia, esquizofrenia em idade precoce, mucopolissacaridose VI (MPSVI), fenilcetonúria (PKU) e deficiência auditiva (DA) (PAULA *et al.*, 2005; MACEDO-SOUZA *et al.*, 2005; MACEDO-SOUZA *et al.*, 2009; MAHDI *et al.*, 2010;

AMORIM *et al.*, 2011b; MANZOLI, 2010; NAFISSI *et al.*, 2011; COSTA-MOTTA *et al.*, 2011).

O município de Monte Santo está localizado no estado da Bahia, nordeste do Brasil, e através de observações em ambulatório clínico de genética na capital do Estado observou-se elevado número de pacientes afetados com MPSVI, provenientes deste município. A análise molecular destes pacientes mostrou a ocorrência de um mesmo alelo em homozigose (COSTA-MOTTA *et al.*, 2011) como causador da doença, que é autossômica recessiva.

Na análise das famílias dos afetados observa-se que todos pacientes são filhos de casamentos consanguíneos e estão inseridos em uma única genealogia com mais de 1000 indivíduos (COSTA-MOTTA *et al.*, 2011). Além disso, o estudo de polimorfismos intragênicos mostrou que todos os afetados compartilham o mesmo haplótipo, confirmando desta forma a origem comum da mutação e o parentesco entre os afetados.

Além da MPSVI que no município de Monte Santo apresenta frequência estimada de aproximadamente 1:5.000 enquanto que a incidência varia de 1:43.261 nascidos na Turquia a 1:1.505.160 na Suíça (VALAYANNOPOULOS *et al.*, 2010; COSTA-MOTTA *et al.*, 2011), nesta cidade encontra-se também afetados com fenilcetonúria (PKU), onde a frequência na Bahia é de 1:22.000 e em Monte Santo esta estimada em 1:5.000 (AMORIM *et al.*, 2011b).

Outra doença também encontrada neste município é a deficiência auditiva que segundo Morton e cols. (1991), 1 em cada 1000 nascidos vivos possuem deficiência auditiva, enquanto que em Monte Santo esta frequência se eleva para 1:622 (MANZOLI, 2010).

A migração, o efeito fundador, a deriva genética e os casamentos consanguíneos são fatores associados com o aparecimento de doenças recessivas e influenciam a estrutura e formação de uma população. Este trabalho analisa a associação entre os fatores evolutivos e casamentos consanguíneos e a elevada frequência de doenças genéticas no município de Monte Santo.

Material e Métodos

O presente estudo foi desenvolvido no município de Monte Santo, localizado no Estado da Bahia, nordeste do Brasil, latitude: 10° 26' 16" S, longitude: 39° 19' 58" O. A área do município é de 3.285 Km² e a população é de 52.338 habitantes (IBGE, 2010). Destes, 13% residem na sede do município e 87% na zona rural, subdividida em mais de 150 povoados. A representação gráfica do município de Monte Santo, as cidades vizinhas e a distribuição das doenças encontradas com sua exata localização no município encontram-se na Figura 1.

Os dados sobre casamentos consanguíneos foram obtidos dos registros de matrimônio da paróquia de Monte Santo. Foram analisados 9765 registros de casamento, em três períodos, escolhidos de acordo com os seguintes critérios: 1º período: 1860 a 1895 – início dos registros da paróquia; 2º período: 1950 a 1961 – relato mais antigo e mais consistente de caso de MPSVI e 3º período: 1975 a atual, onde se observa alta frequência de doenças recessivas.

Foram calculados os coeficientes de endocruzamento (F), para cada casal e o coeficiente de endocruzamento médio (FREIRE-MAIA, 1974) para cada período analisado. O coeficiente de endocruzamento é a probabilidade de um indivíduo receber ambos os alelos de um par de um mesmo ancestral. Os casamentos consanguíneos foram classificados pelo grau de relacionamento entre os casais como: primos duplos de primeiro grau (F=1/8), primos de primeiro grau (F=1/16), primos em segundo grau (F=1/32), primos em terceiro grau (F=1/64), para todos aqueles que o grau de consanguinidade não estava especificado, o valor de F considerado foi 1/32, tendo em vista que a partir de 1983 a necessidade de dispensa para casamento era para parentesco até 4º grau civil. Todos os graus de consanguinidade foram convertidos da nomenclatura canônica para a nomenclatura civil.

Foi analisada também a distância marital, para avaliar a migração entre os nubentes através da identificação do local de nascimento dos noivos. As distâncias foram agrupadas da seguinte forma: 0km – Monte Santo-BA; até 250km de Monte Santo; 251 a 500km de Monte Santo e > 500km de Monte Santo. A estratificação destas distâncias foi realizada de acordo com a proximidade do município de Monte

Santo com outras cidades vizinhas da microrregião do sisal (*Agave sisalana*), onde se localiza o polo produtor, industrial e comercial do sisal, principal atividade econômica da região.

Para realização deste cálculo os casamentos foram classificados segundo Amorim e cols.(2011), em casamentos endogâmico (ambos os noivos são nascidos no município de Monte Santo-BA, exogâmico (um dos noivos nascido em Monte Santo-BA e o outro não) e entre imigrantes (ambos os noivos nasceram fora de Monte Santo-BA).

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, parecer 182/2008.

Resultados

Os livros de matrimônio analisados estavam em razoáveis condições de conservação, alguns apresentam rasuras, informações ilegíveis e folhas danificadas devido à falta de política sistemática de preservação. Um resumo dos dados analisados está sumarizado na tabela 1.

O município de Monte Santo se caracteriza pela subdivisão em mais de 150 povoados com média populacional de 341 habitantes por povoado, variando de 113 a 582 pessoas. Esta estrutura promove casamentos endogâmicos e consanguíneos, pois muitos povoados são fundados por famílias.

1º Período – 1860 a 1895

Neste período foram analisados 2589 casamentos. Observou-se neste período os registros mais completos em relação ao número de informações legíveis e registros de consanguinidade mais detalhada. Entretanto, com relação ao registro de local de nascimento dos noivos em 62,0% dos registros não havia esta informação.

Observou-se predomínio de casamentos endogâmicos (93,7%) e alta ocorrência de casamentos consanguíneos (37,1%), que variou de 4,5% a 56,5%, por ano. O valor de F médio por ano variou de 0,000016 a 0,001831 e, para o período como um todo o valor de F médio foi de 0,0000646. Os outros tipos de casamentos tiveram frequência de 5,9% para os exogâmicos e 0,4% entre imigrantes (Tabela 2).

A maioria dos migrantes era proveniente dos municípios vizinhos (44,5%) (Tabela 3) e do sexo masculino (62,5%). A cidade de origem dos noivos mais distante, foi a Costa da África (5.000km) e a mais próxima foi Euclides da Cunha-BA (40 km). Dentre as noivas, a maior distância encontrada foi 1.389km (Cidade de São João Batista-MA) e a menor foi 71,6km (Queimadas-BA).

Os noivos migrantes eram provenientes de 18 diferentes municípios (3 cidades vizinhas e 15 mais distantes) cuja distância média para Monte Santo-BA foi de 300 km. Já para as noivas a distância média para Monte Santo-BA foi de 158 km, sendo provenientes de sete diferentes municípios (2 vizinhos e 5 mais distantes).

2º Período – 1950 a 1961

Embora este período seja curto, a escolha do mesmo deu-se devido à ocorrência do relato oral mais consistente de casos de MPSVI na população estudada. Foram analisados cinco anos antes e cinco depois do primeiro relato desta doença.

A frequência de casamentos consanguíneos foi de 13,2%, sendo 61,3% de 4º grau civil (primos em 1º grau) e 38,7% de 6º grau civil (primos em 3º grau).

A maioria dos casamentos era endogâmico (99,1%), com apenas 0,3% exogâmico e 0,6% entre imigrantes (Tabela 2). O valor de F médio variou de 0,000001 a 0,006594. O valor mais alto de F médio é atribuído ao ano de 1952, onde 98% dos matrimônios foram endogâmicos e desses 16% eram consanguíneos. O F médio para o período como um todo foi de 0,0000183.

Os indivíduos imigrantes deste período eram originados principalmente das cidades que fazem fronteira com Monte Santo-BA (82,9%) e eram predominantemente do sexo masculino (53,8%) (Tabela 3). A maior distância encontrada para a origem dos noivos foi 700 km, referente ao estado do Ceará e a menor distância esta representada pelo município de Cansanção (32 km). Para as noivas este mesmo município aparece como menor distância. A maior distância encontrada, para as noivas, foi do município de Catolé da Rocha-PB (640 km).

Os noivos migrantes eram provenientes de 11 diferentes municípios (6 cidades vizinhas e 5 mais distantes) cuja distância média para Monte Santo-BA foi de 146 km.

Já para as noivas a distância média para Monte Santo-BA foi de 147 km, sendo provenientes de sete diferentes municípios (5 vizinhos e 2 mais distantes).

3º Período – 1975 a 2010

Neste período, a frequência de casamentos consanguíneos foi de 4,0%, todos classificados como 4º ou 6º grau civil, com frequência de 66,7% e 33,3%, respectivamente. O valor de F médio calculado para o período foi de 0,00000433 e variou de 0,000025 a 0,000102 por ano.

A análise de distância marital (informação presente apenas no período de 1983 a 2010) mostrou que 88% dos enlaces matrimoniais eram endogâmicos, 10,7% exogâmicos e 1,3% entre imigrantes.

Neste período houve maior número de cidades brasileiras que contribuíram com imigrantes, embora 45,2% destes provinham de cidades vizinhas. A cidade mais próxima foi Cansanção (32 km), para ambos nubentes, e a maior distância para as noivas foi 2506 km (Paranavaí-PR) e para os noivos foi 2210 km (Tatuí-SP). Neste período o maior número de migrantes era do sexo masculino (Tabela 3).

Os noivos migrantes eram provenientes de 76 diferentes municípios (16 cidades vizinhas e 60 mais distantes) cuja distância média para Monte Santo-BA foi de 324 km. Já para as noivas a distância média para Monte Santo-BA foi de 481 km, sendo provenientes de 45 diferentes municípios (9 vizinhos e 36 mais distantes).

Discussão

Na avaliação da estrutura populacional e dinâmica matrimonial é fundamental considerar os fatores socioeconômicos, demográficos, culturais e religiosos e suas influências na evolução da população.

A falta de dados sobre localidade de nascimento e do grau de consanguinidade dos noivos deveu-se à heterogeneidade no padrão de preenchimento dos livros paroquiais nos três períodos analisados. As diferenças no detalhamento dos registros podem ser atribuídas principalmente aos diferentes modelos de livros de registro utilizados, inicialmente eram de redação livre, posteriormente com texto predefinido,

que não contemplavam o local de nascimento, e atualmente livros padronizados com informações mais detalhadas, com informações sobre local de nascimento dos noivos, local de residência, data de nascimento e grau da consanguinidade.

A ausência de registros de consanguinidade a partir do 5º grau civil (primos em 2º grau) no último período deve-se à mudança na exigência de dispensa pela igreja católica com relação ao grau de parentesco entre os noivos, a partir de 1983 (AGOSTINI & MEIRELLES-NASSER, 1986; BEIGUELMAN, 1996). Atualmente a dispensa só é necessária para parentes até o 4º grau, ou seja, primos em 1º grau.

As frequências de casamentos consanguíneos variaram de acordo com cada período estudado, sendo mais frequente no 1º período (37,1%), particularmente no ano de 1890 (56,5%). Nos demais períodos as frequências foram menores, 13,2% para o 2º e 4,0% para o 3º, sendo que para o 2º período ainda encontra-se mais elevada quando comparadas tanto com as estimativas para a região nordeste do país (de 6 a 12%), quanto para o Brasil (4,8%) (FREIRE-MAIA, 1954; FREIRE-MAIA, 1957), bem como para as estimativas mundiais (10,4%) (BITTLES *et al.*, 2010). A frequência do 3º período por sua vez foi menor que as estimativas descritas na literatura.

As frequências de casamentos consanguíneos tanto dos períodos iniciais que se mostraram mais elevadas que as descritas na literatura para população geral, quanto do 3º período, que se mostrou menor, podem estar subestimadas, uma vez que os dados analisados são provenientes apenas de registros da igreja católica, não tendo sido computadas as uniões informais, uniões em outras religiões e apenas no civil.

Além disso, podem ter havido uniões cuja consanguinidade é desconhecida ou não foi relatada devido a não obrigatoriedade da dispensa para uniões com consanguinidade a partir do 5º grau.

A maior frequência dos casamentos endogâmicos e a menor frequência de casamentos exogâmicos e entre imigrantes (Tabela 2), ainda que tenham aumentado do 1º ao 3º período, sugere crescimento populacional interno, ou seja, por reprodução de seus componentes e não pela entrada de indivíduos de outras populações, mostrado pela baixa taxa de imigração no município e pela maior taxa de natalidade (15,5:1000 hab) quando comparada com a de mortalidade (4,7:1000 hab) (IBGE, 2010).

O crescimento de uma população depende de três variáveis: taxa de natalidade, taxa de mortalidade e migração (emigração e imigração) (JUSTO *et al.*, 2009). A migração pode influenciar a dinâmica matrimonial, reduzindo ou aumentando a ocorrência de casamentos consanguíneos (FREIRE-MAIA, 1974).

A baixa taxa de migração em Monte Santo-BA pode ser atribuída à ausência de atrativos financeiros no município, que possui índice de desenvolvimento humano municipal variando de 0,21 a 0,53 nos anos de 1970 a 2000 (IBGE, 2000). E aproximadamente 80% da população tem renda per capita de meio salário mínimo (R\$255,00 ou US\$141,00) (IBGE, 2010).

Existem diversos fatores que determinam a migração e um dos mais importantes é a diferença de renda (JUSTO *et al.*, 2009), ou seja, as migrações são movidas pelas oportunidades financeiras oferecidas pela localidade escolhida pelo migrante. No Brasil há poucos estudos sobre migração entre unidades geográficas menores, municípios, principalmente os da região Nordeste do Brasil (JUSTO *et al.*, 2009).

Em Monte Santo, observou-se que a maioria dos migrantes se deslocou em média 250 Km (Tabela 4), ou seja, mesmo os casamentos não endogâmicos ocorreram entre indivíduos geograficamente próximos, que teoricamente são geneticamente mais semelhantes, não contribuindo para o aumento da variabilidade genética do município (FREIRE-MAIA, 1974; BEIGUELMAN, 1996). Este perímetro abrange os municípios que integram a região sisaleira, onde a movimentação dos indivíduos é influenciada por esta atividade econômica.

O maior número de migrantes era do sexo masculino em todos os períodos analisados, porém, a distância marital foi maior para o sexo masculino apenas no 1º período, possivelmente influenciada pela presença de um migrante proveniente do continente Africano. A maior distância marital entre as migrantes foi consequência do êxodo masculino com posterior migração de retorno, juntamente com suas nubentes, de municípios mais distantes (Tabela 4). O fluxo de migração descrito na população brasileira mostra que 41% dos emigrantes da região Sudeste destinam-se ao Nordeste, e entre eles, alguns são migrantes de retorno (JUSTO *et al.*, 2009; AMORIM *et al.*,

2011a). Além disso, verificou-se a ocorrência de migrantes filhos de casamentos endogâmicos de Monte Santo, nascidos em outras localidades.

A distribuição da maioria da população de Monte Santo, na zona rural, em 150 povoados, a alta frequência de casamentos endogâmicos, de casamentos consanguíneos e a ocorrência de doenças genéticas recessivas com frequência elevada, concentradas em povoados distintos (MPSVI e PKU) (Figura 1) e a baixa taxa de migração podem explicar a origem e manutenção das doenças genéticas encontradas no município.

Agradecimentos

Os autores agradecem a toda equipe do projeto Genética no Sertão que participou das atividades de campo nas expedições ao município, assim como à Paróquia do Sagrado Coração que disponibilizou os livros de registro de casamento para consulta.

Este trabalho foi financiado pelo Instituto Brasileiro de Genética Médica Populacional (INAGEMP) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

Referências Bibliográficas

AGOSTINI, J. M. & MEIRELLES-NASSER, C. Consanguineous marriages in the archdiocese of Florianópolis, South Brazil. **Rev. Brasil. Genet.** IX, 3: 479-486. 1986.

AL-ABDULKAREEM, A. A. & BALLAL, S. G. Consanguineous marriage in an urban area of Saudi Arabia: rates and adverse health effects on the offspring. **J Community Health.** 23, 75–83. 1998.

AL-AWADI, S. A.; NAGUIB, K. K.; MOUSSA, M. A.; FARAG, T. I.; TEEBI, A. S.; EL-KHALIFA, M. Y. The effect of consanguineous marriages on reproductive wastage. **Clin Genet.** 29, 384–388. 1986.

AL-RIFAI, M. T. & WOODY, R. C. Marriage patterns and pediatric neurologic disease in Damascus, Syria. **Pak J Neurology Sci.** 2, 136–140. 2007.

AMORIM, C.E.; GONTIJO, C.C.; FALCÃO-ALENCAR, G.; GODINHO, N.M.; TOLEDO, R.C.; PEDROSA, M.A.; LUIZON, M.R.; SIMÕES, A.L.; KLAUTAU-GUIMÃES, M.N.;

- OLIVEIRA, S.F. Migration in Afro-Brazilian rural communities: crossing demographic and genetic data. **Hum Biol.** Aug;83(4):509-21. 2011a.
- AMORIM, T.R.S.; BOA-SORTE, N; LEITE, M.E.Q; ACOSTA, A.X. Clinical and demographic aspects of phenylketonuria in Bahia state, Brazil. **Rev Paul Pediatr.** 29(4):612-7. 2011b.
- BEIGUELMAN, B. **Dinâmica dos Genes Nas Famílias e Nas Populações.** 2. ed. Ribeirão Preto: Editora da Sociedade Brasileira de Genética. 472 p. 1996.
- BITTLES, A. H.; GRANT, J. C.; SHAMI, S. A. An evaluation of consanguinity as a determinant of reproductive behavior and mortality in Pakistan. **Int J Epidemiol.** 22, 463–467.1993.
- BITTLES, A.H. Consanguinity and its relevance to clinical genetics. **Clin Genet.** 60, 89–98. 2001.
- BITTLES, A.H.; BLACK, M.L. Consanguinity, human evolution and complex diseases. **Proc Natl Acad Sci USA.** 107:1779–86. 2010.
- COSTA-MOTTA, F.M.; ACOSTA, A.X.; ABÉ-SANDES, K.; BENDER, F.; SCHWARTZ, I.V.D.; GIUGLIANI, R.; LEISTNER-SEGAL, S. Genetic Studies in a Cluster of Mucopolysaccharidosis Type VI Patients In Northeast Brazil. **Mol Genet Metab.** v. 104, p. 603-607. 2011.
- DAWODU, A.; ABDULRAZZAQ, Y. M.; BENER, A.; KAPPEL, I.; LIDDLE, L.; VARGHESE, M. Biologic risk factors for low birth weight in Al Ain, United Arab Emirates. **Am J Hum Biol.** 8, 341–345.1996.
- FREIRE-MAIA, N. Coefficient of inbreeding in some Brazilian populations. **Atti IX Cong. Intern. Genet. Suppl.** 923-924. 1954.
- FREIRE-MAIA, N. Inbreeding in Brazil. **Am J Hum Genet.** 9:284-298. 1957.
- FREIRE-MAIA, N. **Genética de populações humanas.** Universidade de São Paulo. São Paulo. 215p. 1974.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA - IBGE. Rio de Janeiro. 2010. Disponível em: < www.ibge.gov.br>.
- JUSTO, W.R.; FERREIRA, R.A.; LIMA, C.F.; MARTINS, G.N. Migração intermunicipal no Brasil: a dinâmica dos fluxos migratórios municipais. **Rev Econ Desenvol.** 21:108-129. 2009.

- KERKENI, E.; MONASTIRI, K.; SAKET, B.; GUEDICHE, M. N.; BEN CHEIKH, H. Interplay of socio-economic factors, consanguinity, fertility, and offspring mortality in Monastir, Tunisia. **Croat Med.** 48, 701–707. 2007.
- KHLAT, M.; KHOURY, M. Inbreeding and diseases: demographic, genetic, and epidemiologic perspectives. **Epidemiol Rev.** 13(1):28–41. 1991.
- MACEDO-SOUZA, M.I.; KOK, F.; SANTOS, S.; AMORIN, S.C.; STARLING, A.; NISHIMURA, A.; LEZIROVITZ, K.; LINO, A.M.M.; ZATZ, M. Spastic Paraplegia, Optic Atrophy and Neuropathy (SPOAN Syndrome) is linked to chromosome 11q13. **Ann Neurol.** 57:730-737. 2005.
- MACEDO-SOUZA, M.I.; KOK, F.; SANTOS, S.; LICINIO, L.; LEZIROVITZ, K.; CAVAÇANA, N.; BUENO, C.; AMORIN, S.; PESSOA, A.; GRACIANI, Z. *et al.* Spastic Paraplegia, Optic Atrophy and Neuropathy: New observations, locus refinement, and exclusion of candidate genes. **Ann Hum Genet.** 73:382-387. 2009.
- MAHDI B, MAHESH PA, MYSORE RS, KUMAR P, JAYARAJ BS, RAMACHANDRA NB. Inheritance patterns, consanguinity & risk for asthma. **Indian J Med Res.** JUL;132:48-55. 2010.
- MANZOLI, G. N. **Bases Genéticas da Surdez Hereditária Não-Sindrômica em Salvador e em Monte Santo-Bahia.** 2010. Dissertação. Fundação Oswaldo Cruz.
- MORTON, N.E. Genetic epidemiology of hearing impairment. **Ann NY Acad Sci.**630:16-31. 1991.
- NAFISSI, S.; ANSARI-LARI, M.; SAADAT, M. Parental consanguineous marriages and age at onset of schizophrenia. **Schizophr Res.** Mar;126(1-3):298-9. 2011.
- OBBER, C.; HYSLOP, T.; HAUCK, W. W. Inbreeding effects on fertility in humans: evidence for reproductive compensation. **Am J Hum Genet.** 64, 225–231. 1999.
- PAULA, L.M.; MELO, N.S.; SILVA-GUERRA, E.N.; MESTRINHO, D.H.; ACEVEDO, A. C. Case report of a rare syndrome associating amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis in a consanguineous family. **Arch Oral Biol.** Feb;50(2):237-42. 2005.
- RAFIEE, L.; SAADAT, M. Prevalence of consanguineous marriages among Iranian Georgians. **J. Biosoc. Sci.** 43, 47–50. 2010.
- SAADAT, M. Epidemiology and mortality of hospitalized burn patients in Kohkiluyeh va Boyer-Ahmad province (Iran): 2002–2004. **Burns.** 31, 306–309. 2005.
- SAADAT, M.; ZENDEH-BOODI, Z. Correlation between incidences of self-inflicted burns and means of inbreeding coefficients, an ecological study. **Ann Epidemiol.** 16, 708–711. 2006.

SAADAT, M. Consanguineous marriages in Iranian folktales. **Community Genet.** 10, 37–40. 2007.

SAADAT, M. Consanguinity and national IQ. **J Epidemiol Community Health.** 62, 566–567. 2008a.

SAADAT, M. Is consanguineous marriage historically encouraged? **J Bios Sci.** 40, 153–154. 2008b.

STOLTENBERG, C.; MAGNUS, P.; SKRONDAL, A.; LIE, R.T. Consanguinity and recurrence risk of stillbirth and infant death. **Am J Public Health.** 89, 517–523. 1999.

TADMOURI, G.O.; NAIR, P.; OBEID, T.; AL ALI, M.T.; AL KHAJA, N.; HAMAMY, H.A. Consanguinity and reproductive health among Arabs. **Reprod Health.** 6, 17. 2009.

TUNCBILEK, E.; KOC, I. Consanguineous marriage in Turkey and its impact on fertility and mortality. **Ann Hum Genet.** 58, 321–329. 1994.

VALAYANNOPOULOS, V.; NICELY, H.; HARMATZ, P.; TURBEVILLE, S. Mucopolysaccharidosis VI. **Orphanet J. Rare Dis.** 5. 2010.

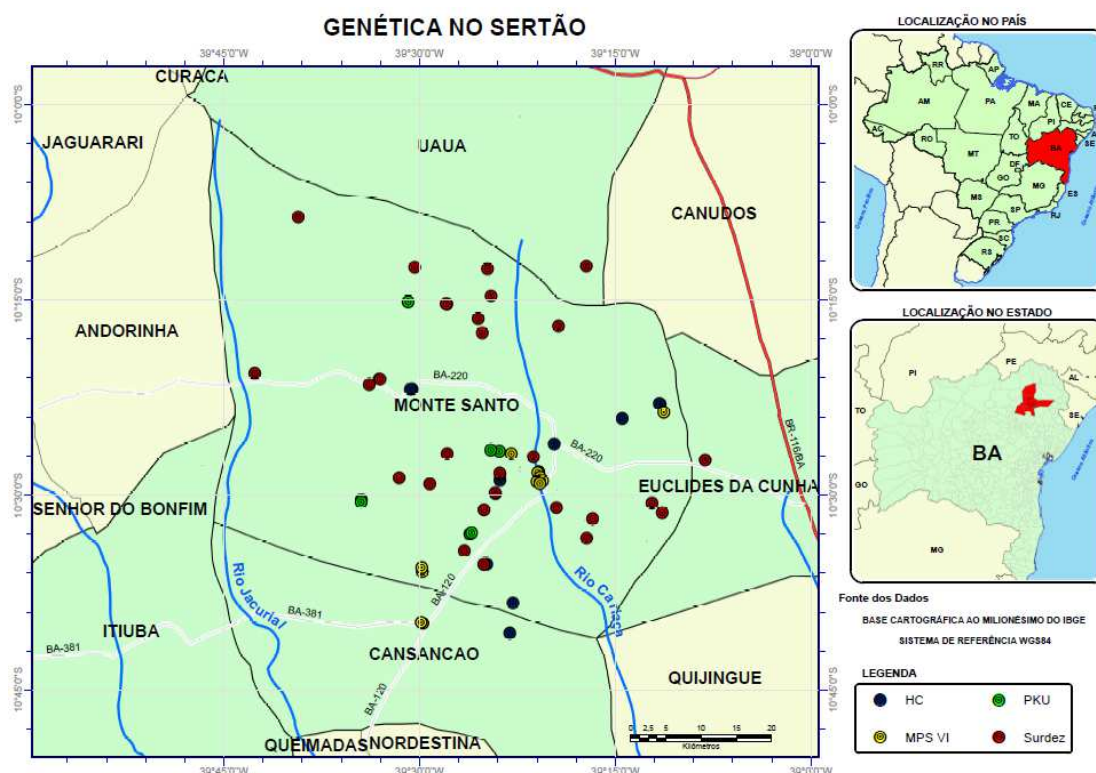


Figura 1. Mapa da cidade de Monte Santo e localização dos pacientes afetados pelas doenças genéticas.

Tabela 1. Números de casamentos e informações sobre local de nascimento e consanguinidade em Monte Santo por período.

	Total de casamentos	Informações ilegíveis	Sem informação de local de nascimento	Consanguíneos
1º período	2589	0	1607 (62,0%)	960 (37,1%)
2º período	2966	119 (1,2%)	81 (2,7%)	392 (13,2%)
3º período	4210	131 (3,1%)	1418 (33,7%)	170 (4,0%)
Total	9765	250	3106	1522

Tabela 2. Tipos de casamentos nos diferentes períodos.

Período	Total de casamentos com registros do local de nascimento dos noivos	Endogâmicos		Exogâmicos		Imigrantes	
		N	(%)	N	(%)	N	(%)
1º	960	900	(93,7)	56	(5,9)	04	(0,4)
2º	2535	2513	(99,1)	08	(0,3)	14	(0,6)
3º	2759	2429	(88,0)	295	(10,7)	35	(1,3)
Total	6254	5842		359		53	

Tabela 3. Distribuição dos nubentes migrantes entre as cidades vizinhas.

	1º Período		2º Período		3º Período	
	Noivos	Noivas	Noivos	Noivas	Noivos	Noivas
Todas as cidades	52	31	27	20	271	134
Cidades vizinhas	36,5%	58,0%	77,8%	90,0%	42,0%	51,5%
Outras cidades	63,5%	42,0%	22,2%	10,0%	58,0%	48,5%

Cidades Vizinhas – Serrinha, Conceição do Coité, Tucano Araci, Itiúba, Santa Luz, Cansanção, Riachão do Jacuípe, Queimadas, Quijingue, Valente, Teofilândia, Pé de Serra, Biritinga, Barrocas, Capela do Alto Alegre, Lamarão, Nordestina, Retirolândia, Candeal, São Domingos, Nova Fátima, Ichu, Gavião,

Tabela 4. Matriz de distância entre os noivos

A) 1º período

1º período (982)		Noivos			
		0 km	até 250km	251 a 500km	> 500km
Noivas	0 km	900 (91,6%)	31 (3,1%)	04 (0,4%)	02 (0,2%)
	até 250km	18 (1,8%)	03 (0,3%)	-	01 (0,1%)
	251 a 500km	-	-	-	-
	>500km	01 (0,1%)	-	-	-

B) 2º período

2º período (2850)		Noivos			
		0 km	até 250km	251 a 500 km	>500 km
Noivas	0 km	2513 (88,2%)	01 (0,04%)	01 (0,04%)	01 (0,04%)
	Até 250km	05 (0,2%)	13 (0,45%)	-	-
	251 a 500km	-	-	-	-
	> 500km	-	01 (0,04%)	-	-

C) 3º período

3º período (2789)		Noivos			
		0 km	até 250km	251 a 500km	> 500km
Noivas	0 km	2430 (87,13%)	113 (4,05%)	57 (2,04%)	28 (1,00%)
	Até 250km	60 (2,15%)	22 (0,78%)	03 (0,11%)	02 (0,07%)
	251 a 500km	10 (0,36%)	-	04 (0,15%)	01 (0,03%)
	> 500km	27 (0,97%)	03 (0,11%)	-	-

3.2 MANUSCRITO 2

Maior contribuição europeia em pacientes com deficiência auditiva causada pela mutação c.35delG no gene *GJB2*

Machado, TMB^{1,4}; Manzoli, GN¹; Bomfim, TF^{1,4}; Meyer, R⁴, Acosta, AX^{1,2}; Abe-Sandes, K^{1,3,4}

¹Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz (CPqGM) / FIOCRUZ- BA; ²Faculdade de Medicina da Bahia - Universidade Federal da Bahia (UFBA)
³Universidade Estadual da Bahia (UNEB); ⁴ Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular – Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (Labimuno/ICS/UFBA)

Corresponding author: kabesandes@yahoo.com

RESUMO

De acordo com a literatura, a mutação c.35delG/*GJB2* é a principal causa de deficiência auditiva (DA) genética não sindrômica em caucasianos. Estudos sugerem a possível origem desta mutação na Europa Central. Contudo, esta mutação tem sido encontrada em paciente com DA de diferentes países, incluindo o Brasil, país cuja população é resultado da mistura de diferentes populações ancestrais. No Brasil há diferentes proporções dos grupos ancestrais entre as diferentes regiões do país. Estudos moleculares mostram que o estado da Bahia apresenta elevada contribuição africana (47,2%). Esta contribuição é maior no litoral e em regiões economicamente importantes no estado da Bahia e menor no interior. O objetivo deste estudo foi estimar a ancestralidade em pacientes com DA, com e sem a mutação c.35delG. Nós avaliamos 40 indivíduos afetados com DA provenientes de Monte Santo, Bahia, Brasil. A ancestralidade genômica foi avaliada utilizando marcadores uniparentais do mtDNA (sequenciamento da região HVS-I) e do cromossomo Y (marcador YAP por PCR visualizado em gel de acrilamida; marcadores DYS 199, 92R7 e M207 por PCR seguido de RFLP, visualizado em gel de acrilamida; e os marcadores M60, PN2, PN3, M34, M89, M9 genotipados por sequenciamento) e marcadores autossômicos (*AT3-1/D*, *APO*, *PV92* e *SB19.3* genotipados por PCR visualizado em gel de acrilamida; *GC*1F* e *GC*1S* por PCR seguido de RFLP e com fragmentos visualizados em gel de acrilamida; e os marcadores *FYnull*, *CKMM* e *LPL* genotipados por PCR em tempo real). A maioria dos pacientes se autotipificou como mulato (71%). A frequência da mutação foi 23,75%, com 22,5% de homocigotos e 2,5% de heterocigotos. Comparando o grupo com e sem a mutação, observou-se que 20,7% e 55,6%, respectivamente se autodenominaram como brancos. Na análise da ancestralidade genética foi observado que a maioria dos afetados possui mtDNA de origem africana (50%), cromossomo Y de origem europeia (60,9%) e contribuição autossômica europeia elevada (61,3%). A alta contribuição africana e ameríndia na análise do mtDNA e elevada contribuição europeia para o cromossomo Y corrobora estudos prévios que mostram diferenças entre as contribuições ancestrais masculina e feminina na formação da população brasileira. A elevada contribuição europeia observada na análise dos marcadores biparentais,

associada com a alta contribuição paterna europeia (cromossomo Y) sugerem origem europeia para a mutação c.35delG na população de Monte Santo, Bahia, Brasil.

Palavras-chave: Deficiência auditiva, ancestralidade genética, c.35delG, *GJB2*

Introdução

A deficiência sensorial mais comum em humanos é a deficiência auditiva (DA), sua incidência é de aproximadamente 1:1000 nascidos vivos (DOWNS *et al.*, 1995; MEHL *et al.*, 1998; 2002). No Brasil, a frequência estimada é de 4:1000 nascidos vivos (PIATTO *et al.*, 2001).

A DA possui diferentes etiologias e nos países desenvolvidos os casos hereditários correspondem a 60%. E desses, os de causa genética não sindrômicas representam 70% (SKVORAK & MORTON, 1999; BITNER-GLINDZICZ, 2002; VAN LAER *et al.*, 2003). Nos países em desenvolvimento, os estudos sobre a prevalência da deficiência auditiva genética ainda são escassos (PIATTO *et al.*, 2005).

A forma autossômica recessiva é a mais comum. Na maioria das populações, a principal causa de DA não-sindrômica autossômica recessiva é a presença de mutações no gene *gap junction beta-2 protein (GJB2)* (13q11-12, OMIM 121011) que codifica a conexina 26 (ESTIVILL *et al.*, 1998; WILCOX *et al.*, 2000).

Já foram encontradas mais de 100 diferentes mutações neste gene, sendo associadas à perda auditiva e destas, quatro apresentam frequência mais elevada em populações específicas (35delG em europeus, 167delT em judeus Ashkenazi, 235delC e W24X em populações orientais (CORDEIRO-SILVA *et al.*, 2011)).

A frequência das mutações varia de acordo com a população estudada (CORDEIRO-SILVA *et al.*, 2011), sugerindo diversidade étnica para a DA de causa genética (BORS *et al.*, 2004).

A mutação c.35delG caracteriza-se pela deleção de uma base nitrogenada guanina (G) em uma sequência de seis guaninas, que se estendem da posição 30 a 35 dos nucleotídeos, no éxon codificante do gene *GJB2*, resultando na formação de um códon de terminação. Esta deleção resulta na síntese de um polipeptídeo incompleto,

com 12 aminoácidos, diferentemente do normal com 226 aminoácidos (RABIONET *et al.*, 2000).

Para a mutação c.35delG, diferentes frequências foram observadas no mundo. As médias de frequências entre portadores da mutação variaram de 0,64 a 1,89, nas populações: europeia (1,89), americana (1,52), asiática (0,64), oceânica (1,0) e africana (0,64) (MAHDIE *et al.*, 2009).

A frequência elevada de portadores da mutação c.35delG foi observada nas populações da região sul da Europa com a seguinte distribuição: Portugal (1/45), Espanha (1/40), Itália (1/32), Grécia (1/33) e Turquia (1/37,5) (GASPARINI *et al.*, 2000). Algumas destas populações como a portuguesa e espanhola contribuíram de maneira significativa na formação da população da Bahia. Estas populações mostram, na análise de amostras com audição normal, alta frequência do alelo mutante c.35delG, variando de 2 a 4% (GASPARINI *et al.*, 2000).

No Brasil, Piatto e cols. (2005) avaliaram a mutação (c.35delG) em 223 recém-nascidos do Hospital de Base de São José do Rio Preto, em São Paulo (SP), e identificaram que 2,24% dos recém-nascidos eram portadores da mutação. Em outro rastreamento neonatal, também na região sudeste do país (Campinas, São Paulo, Brasil), foi encontrado 0,97% de portadores da mutação c.35delG (SARTORATO *et al.*, 2000).

Estudo realizado em quatro das cinco diferentes regiões brasileiras (Belém-PA, Sorocaba-SP, São José do Rio Preto-SP, Espírito Santo do Pinhal-SP, Jundiá-SP, Patos-MG, Porto Alegre-RS, Joinville-SC e Fortaleza-CE), mostrou frequência de 1,3% na população brasileira, variando de 0,8% no Nordeste a 2,1% no Norte (PIATTO *et al.*, 2005).

Na Bahia a análise da mutação c.35delG realizada em amostras de afro-descendentes da cidade de Salvador, sem DA, mostrou frequência de 1% de portadores da mutação, metade da frequência observada entre descendentes de europeus de Ribeirão Preto-SP (2%) (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Neste estudo, foram avaliados também brasileiros descendentes de asiáticos não sendo detectado nenhum indivíduo com a mutação. A frequência observada entre os descendentes de europeus

(1/51) foi similar à observada na população europeia (de 1,32 a 1/45). Isto indica que a estratégia para o rastreio genético de DA no Brasil deve levar em conta a heterogeneidade étnica do país (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

A diversidade na frequência do alelo c.35delG mostra a importância de se estimar a prevalência desta mutação, com base na população local, para a implantação de programas de triagem e diagnóstico em recém-nascidos.

O objetivo deste trabalho é estimar a ancestralidade de pacientes com surdez hereditária não sindrômica de Monte Santo-BA genotipados para a mutação c.35delG (MANZOLI, 2010) e associar a presença ou ausência da mutação com a proporção da contribuição ancestral europeia.

Material e Métodos

- População de estudo

Foram analisados 40 indivíduos de diferentes núcleos familiares com deficiência auditiva do município de Monte Santo coletados durante o período de 2008 a 2010. Monte Santo localiza-se no interior do Estado da Bahia (região Nordeste do Brasil), latitude: 10° 26' 16" S, longitude: 39° 19' 58"O, e possui 52.339 habitantes (IBGE, 2010). Nesse município também foi descrita a ocorrência de várias doenças genéticas com alta frequência, incluindo grande número de casos de DA com recorrência familiar, sugerindo etiologia genética. O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz, parecer nº 182/2008. Todos os participantes do estudo, ou seu responsável legal, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Para análise da ancestralidade individual os genótipos das populações ancestrais foram gentilmente cedidos pelo Dr. Mark D. Shriver da Universidade da Pensilvânia.

- Genotipagem da mutação c.35delG

Todos os pacientes analisados neste estudo foram genotipados para a mutação c.35delG, no gene *GJB2* por Manzoli (2010).

- Ancestralidade autorreferida e fenotípica

Todos os participantes se autodemominaram de acordo com as categorias do IBGE: brancos, pretos, pardos e outros (índios, amarelos e outros) e foram classificados fenotipicamente de acordo com as características físicas, como cor e textura dos cabelos, formato dos lábios e nariz e cor da pele, nas categorias: brancos, negros e mulatos (claro, médio e escuro). Esta classificação foi a mesma utilizada por Abe-Sandes e cols. (2010).

- Ancestralidade genética

a) Marcadores Autossômicos

Foram analisados nove marcadores informativos de ancestralidade - AIM (SHRIVER *et al.*, 2003) com alto diferencial de frequência entre as populações ancestrais (Tabela 1).

b) DNA mitocondrial

Foram analisados 443pb da região hipervariável (HVS-I) (nt15978 ao nt16420) do mtDNA por sequenciamento automático (ABI Prism 3130xl Genetic Analyzer, Applied Biosystems, Foster City, CA) com as sequências de primers: F: 5'- CAC CAT TAG CAC CCA AAG CT -3' e R: 5'-TGA TTT CAC GGA GGA TGG TG - 3' (ABE-SANDES, 2002).

c) Cromossomo Y

Para o cromossomo Y foram escolhidos marcadores que caracterizam os haplogrupos das principais populações ancestrais, descritos na Tabela 2 (Consortium Y - KARAFET *et al.*, 2008).

- Análise Estatística

As frequências alélicas e genotípicas assim como, o equilíbrio de Hardy-Weinberg foram avaliados pelo programa GENEPOP v3.4 (RAYMOND & ROUSSET *et al.*, 1995). A estimativa de mistura populacional e a individual foram analisadas pelos programas ADMIX (CHAKRABORTY *et al.*, 1985) e Structure (PRITCHARD *et al.*, 2000), respectivamente. Todos os segmentos sequenciados foram analisados no programa Bioedit v 7.0.9 (HALL *et al.*, 1999). As comparações entre os grupos com e sem a mutação c.35delG foram realizadas utilizando o cálculo de Fisher ou χ -Quadrado do pacote estatístico WINPEPI (<http://www.brixtonhealth.com/pepi4windows.html>).

Resultados

Para análise da ancestralidade a amostra foi subdividida em dois grupos de pacientes com e sem a mutação c.35delG. A maioria dos pacientes foi do sexo masculino (60%), com média de idade de 29 anos (3 a 68 anos), a média foi maior nos pacientes que não possuem a mutação c.35delG (32 anos) e diminuiu para os pacientes que possuem a mutação (20 anos). A frequência da mutação c.35delG foi de 23,75%, sendo um indivíduo heterozigoto e nove homozigotos mutantes. De todos os pacientes analisados 80% tinham história familiar positiva para a DA e entre os pacientes com a mutação todos tinham história familiar. A consanguinidade entre os pais dos pacientes ocorreu em 50% das amostras. A DA congênita foi predominante em todos os grupos e mais elevada nos que tinha a mutação c.35delG.

Dos pacientes analisados 27,5% se autodenominaram brancos, mas após a estratificação da amostra esta frequência se eleva nos indivíduos com a c.35delG (50%). Na classificação fenotípica encontramos 25% de brancos, na amostra com a mutação a frequência aumentou para 70%. Nenhum dos indivíduos analisados se autoclassificou ou foi fenotipicamente caracterizado como negro. A tabela 3 mostra a caracterização da amostra.

A frequência dos marcadores informativos de ancestralidade está sumarizada na tabela 4. Todos os marcadores analisados encontram-se em equilíbrio de Hardy-

Weinberg em todos os subgrupos estudados (DA, DA com a mutação c.35delG e DA sem a mutação).

A análise de ancestralidade genômica considerando todos os indivíduos com DA mostrou contribuição europeia de 61,3%, africana de 20,5 e ameríndia de 18,2%. Estratificando a amostra em pacientes com e sem a mutação c.35delG, foi possível observar que nos portadores da mutação a contribuição europeia foi de 82,9%, 12,5% de contribuição africana e 4,6% ameríndia. Para os pacientes sem a mutação c.35delG estas contribuições foram de 53,5%, 23,5% e 23,0%, respectivamente (Tabela 5).

A ancestralidade uniparental materna (mtDNA) foi predominantemente africana (50%), seguida de ameríndia (35%) e europeia (15%) (Tabela 5). O haplogrupo mais frequente foi o africano L2a1 que estava presente em 17,5% das amostras analisadas.

A análise do cromossomo Y mostrou contribuição europeia elevada (60,9%); entretanto, 21,7% das amostras apresentaram haplogrupo de origem africana (Tabela 5). Além destes haplogrupos foi encontrado também o haplogrupo KM9 (4,4%), também de origem europeia.

Na análise de estimativa de mistura individual a contribuição europeia variou de 5,1% a 98,2%, a africana de 0,5% a 87,8% e a ameríndia de 1,2% a 66,0%. Entre os indivíduos que possuíam a mutação c.35delG, 90% tinham contribuição europeia maior quando comparados com a africana e a ameríndia e entre os pacientes sem a mutação 60% tinham contribuição europeia maior em relação as demais.

Comparando as diferentes contribuições individuais, entre os dois grupos, verificamos que os indivíduos que apresentam a mutação têm contribuição europeia mais elevada, mas as diferenças não foram estatisticamente significantes (Tabela 6). Na análise de diferenciação populacional gênica e genotípica também não foi observada diferenças estatisticamente significantes entre os dois subgrupos (dados não mostrados).

Discussão

A frequência encontrada para a mutação c.35delG (23,75%) em pacientes com DA de Monte Santo foi similar ao encontrado por Oliveira e cols (2007) em amostras da população de Campinas, SP, Brasil. O estudo de Giolo e cols. (2012) mostrou que a população do sudeste do Brasil, onde está localizada a cidade de Campinas, apresenta maior contribuição ancestral europeia (61,0%), estimativa similar à encontrada na população de Monte Santo-BA.

Estudos em amostras brasileiras sem DA mostraram diferentes frequências desta mutação variando de 0% em brasileiros descendentes de asiáticos (OLIVEIRA *et al.*, 2004), 0,97% em recém nascidos brasileiros (SARTORATO *et al.*, 2000), 2% em brasileiros descendentes de europeus, 1% em afrodescendentes de Salvador-BA (OLIVEIRA *et al.*, 2004) e 2,24% em recém nascidos de São José do Rio Preto-SP (PIATTO *et al.*, 2005). Em amostras da região nordeste Piatto e cols. (2005) encontraram a frequência de 0,8% e de 2,1% no Norte do país. Esses dados ressaltam as diferenças na composição da população brasileira com consequente influência na frequência da mutação c.35delG e mostram a importância da análise da frequência e distribuição desta mutação em todo país.

Sabe-se que a mutação c.35delG é muito frequente em populações de origem europeia e responsável por aproximadamente 70% dos alelos mutantes em pacientes com DA, de etiologia genética, nestas populações (ZELANTE *et al.*, 1997; ANGELI *et al.*, 2008).

Nossos dados mostram maior ancestralidade europeia no grupo que possui a mutação c.35delG (82,9%) quando comparado com aqueles sem a mutação (53,5%), na análise utilizando marcadores autossômicos (estimativa de mistura individual e populacional). Isto também ocorre na análise fenotípica e do cromossomo Y.

A contribuição materna (mtDNA) africana e ameríndia elevadas associadas com a contribuição paterna (cromossomo Y) europeia, como ocorre na amostra estudada, corrobora estudos prévios em populações brasileiras (BORTOLINI *et al.*, 1998; ALVES-SILVA *et al.*, 2000; ABE-SANDES *et al.*, 2004) que evidenciam os casamentos

“assimétricos”, com relação a origem ancestral dos homens e das mulheres, na formação desta população.

A união de homens europeus com mulheres ameríndias e africanas já foi descrita em outros estudos moleculares (BORTOLINI *et al.*, 1998; ALVES-SILVA *et al.*, 2000; ABE-SANDES *et al.*, 2004) e em dados históricos (RIBEIRO, 1995). Estes dados mostram que a colonização do Brasil por europeus, deu-se quase que exclusivamente por homens (RIBEIRO, 1995).

Contudo, a alta contribuição mitocondrial africana na amostra estudada não significa que as mulheres que formaram a população de Monte Santo não fossem miscigenadas. Então, mulheres portadoras de mtDNA africano podem ser filhas de homens europeus, possuindo 100% de mtDNA africano, mas apenas 50% de DNA nuclear desta origem. Dessa forma os descendentes destas mulheres (miscigenadas) continuam herdando 100% de mtDNA africano, mas não 100% de DNA nuclear africano.

Os resultados mostram que a contribuição europeia autossômica foi similar à contribuição do cromossomo Y, mais europeia. Esta maior contribuição europeia na população de Monte Santo, localizada no interior do estado da Bahia, corrobora dados da literatura sobre o branqueamento da população com a maior distância do litoral da Bahia (AZEVEDO *et al.*, 1982).

Estes dados sugerem que esta é uma população miscigenada com contribuição ancestral europeia elevada, principalmente de origem paterna. E que esta contribuição é similar às populações do Sudeste do país (GIOLO *et al.*, 2012), diferente da estimativa (50,5%) encontrada para Salvador (capital do estado) (ABE-SANDES *et al.*, 2010). Esta maior contribuição europeia pode estar associada com a maior frequência da c.35delG nesta população.

As diferenças nas frequências da mutação c.35delG nas diferentes regiões brasileiras podem estar associadas a fatores como migração e efeito fundador e deriva genética. Visto que a distribuição dos migrantes, que chegaram ao Brasil no início de sua colonização, é heterogênea, conferindo diferentes contribuições ancestrais entre as regiões brasileiras.

Diante do exposto, é importante, o conhecimento da ancestralidade da população e o perfil de mutações presentes na mesma antes de se iniciar o rastreamento neonatal para indivíduos afetados pela DA, para definir as mutações mais relevantes a serem triadas para que o rastreamento tenha o melhor custo benefício para a saúde pública.

Conclusão

O presente estudo estimou a contribuição ancestral africana, europeia e ameríndia de uma amostra de pacientes com DA da população de Monte Santo, BA, Brasil. Esta análise mostrou elevada contribuição europeia nos portadores da c.35delG. Isto sugere que a mutação c.35delG, responsável por 23,75% da DA de etiologia genética deste município, pode ser de origem europeia, tendo sido inserida nesta população pela migração de europeus para esta região. Devido à frequência desta mutação na população de Monte Santo pode ser indicada a implementação do estudo molecular para esta mutação na triagem neonatal do município, permitindo a detecção precoce dos casos de DA de etiologia genética pela c.35delG para que possa ser oferecido aconselhamento genético às famílias de risco e tratamento adequado.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos agentes comunitários de saúde do município de Monte que auxiliaram na captação de pacientes. Assim como aos profissionais, integrante do projeto Genética no Sertão, que participaram das viagens de campo ajudando nas mais diversas atividades.

Os autores agradecem ainda à plataforma de sequenciamento do Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz-FIOCRUZ/BA. E às agências de fomento FAPESB, CNPQ e INAGEMP.

Referências Bibliográficas

ABE-SANDES, K. **Diversidade genética de afro-brasileiros: DNA mitocondrial e cromossomo Y**. 2002. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Ribeirão Preto. SP.

ABE-SANDES, K.; SILVA, W.A. Jr; ZAGO, M.A. Heterogeneity of the Y chromosome in AfroBrazilian populations. **Hum Biol** . 76(1):77-86. 2004.

ABE-SANDES, K; BOMFIM, T. F.; MACHADO, T.M.B.; ABE-SANDES, C.; ACOSTA, A. X.; ALVES, C.R.B.; GALVÃO-CASTRO, B. Ancestralidade Genômica, nível socioeconômico e vulnerabilidade ao HIV/aids na Bahia, Brasil. **Saúde Soc** (USP. Impresso). v. 19, p. 75-84. 2010.

ALVES-SILVA, J.; DA SILVA SANTOS, M.; GUIMARÃES, P.E.; FERREIRA, A.C.; BANDELT, H.J.; PENA, S.D.; PRADO, V.F. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. **Am J Hum Genet**. 67(2):444-61. 2000.

ANGELI SI. Phenotype/Genotype Correlations in a DFNB1 Cohort With Ethnical Diversity. **Laryngoscope**. 118: 2014–2023. doi: 10.1097/MLG.0b013e31817fb7ad. 2008.

AZEVEDO, E.S.; FORTUNA, C.M.M.; SILVA, K.M.C.; SOUSA, M.G.F; MACHADO, M.A.; LIMA, A.M.V.M.D; AGUIAR, M.E.; ABÉ, K.; EULÁLIO, M.C.M.N.; CONCEIÇÃO, M.M.; SILVA, M.C.B.O.; SANTOS, M.G. Spread and diversity of human populations in Bahia, Brazil. **Hum Biol** 54:329-341. 1982.

BITNER-GLINDZICZ, M. Hereditary deafness and phenotyping in humans. **Br Med Bulln**; 63: 73-94, 2002.

BORS, A.; ANDRIKOVICS, H.; KALMA'R, L. et al. Frequencies of two common mutations (c.35delG and c.167delT) of the connexin 26 gene in different populations of Hungary. **Int J Mol Med** 14:1105–1108. 2004.

BORTOLINI, M.C.; SILVA-JUNIOR, A.W.; WEIMER, T.A.; ZAGO, M.A.; CASTRO-DE-GUERRA; SCHNEIDER, M.P.; LAYRISSE, Z.; MENDEZ-CASTELLANO, H.; SALZANO, F.M.H. Protein and hypervariable tandem repeat diversity in eight African-derived South American populations. Inferred relationships do not coincide. **Hum Biol**. v. 70. n. 3. p. 443-461. 1998.

CHAKRABORTY, R. Gene identity in racial hybrids and estimation of admixture rates. In Ahuja YR, Neel JV, editors. Genetic differentiation in human and others animal populations. **Ind Anthropol Assoc** 171-180. 1985.

CORDEIRO-SILVA, M.F.; BARBOSA, A.; SANTIAGO, M.; PROVETTI, M.; DETTOGNI, R.S.; TOVAR, T.T; RABBI-BORTOLINI, E.; LOURO, I. D. Mutation analysis of GJB2 and

GJB6 genes in Southeastern Brazilians with hereditary nonsyndromic deafness. **Mol Biol Rep.** 38:1309–1313. 2011.

DOWNS, M.P. Universal newborn hearing screening—the Colorado story. **Int J Pediatr Otorhinolaryngol** 32:257–259. 1995.

ESTIVILL, X.; FORTINA, P.; SURREY, S.; RABIONET, R.; MELCHIONDA, S.; D'AGRUMA, L. et al. Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. **Lancet** .351:394–398.1998.

GASPARINI, P.; RABIONET, R.; BARBUJANI, G.; MELCHIONDA, S.; PETERSEN8, M.; BRØNDUM-NIELSEN, K.; METSPALU, A.; OITMAA, E.; PISANO, M.; FORTINA, P.; ZELANTE, L.; ESTIVILL, X.; The genetic analysis consortium of gjb2 35delg. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. **Eur J Hum Genet.** 8, 19–23, 2000.

GIOLO, S.R.; SOLER, J.M.; GREENWAY, S.C.; ALMEIDA, M.A.; DE ANDRADE, M.; SEIDMAN, J.G.; SEIDMAN, C.E.; KRIEGER, J.E.; PEREIRA, A.C. Brazilian urban population genetic structure reveals a high degree of admixture. **Eur J Hum Genet.** Jan;20(1):111-6. doi: 10.1038/ejhg.2011.144. 2012.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucl. Acids. Symp. Ser.** 41:95-98, 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA - IBGE. **Brasil: 500 Anos de Povoamento.** Rio de Janeiro. 2000. Available at: <www.ibge.gov.br>.

KARAFET, T. M.; MENDEZ, F. L; MEILERMAN, M. B; UNDERHILL, P. A; ZEGURA, S. L.; HAMMER, M. F. New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y chromosomal haplogroup tree. **Genome Res.** 18: 830-838. 2008.

MANZOLI, G. N. **Bases Genéticas da Surdez Hereditária Não-Sindrômica em Salvador e em Monte Santo-Bahia.** 2010. Dissertação. Fundação Oswaldo Cruz.

MAHDIEH, N.; RABBANI, B. Statistical study of 35delG mutation of GJB2 gene: a meta-analysis of carrier frequency. **Int J Audiol.** 48(6):363-70. 2009.

MEHL, A.L.; THOMSON, V. Newborn hearing screening: the great omission. **Pediatrics** 101:E4.23. 1998

MEHL, A.L.; THOMSON, V. The Colorado newborn hearing screening project, 1992–1999: on the threshold of effective population-based universal newborn hearing screening. **Pediatrics** 109:E7.2002.

OLIVEIRA, C.A; ALEXANDRINO, F.; ABE-SANDES, K.; SILVA JR, W.A.; MACIELGUERRA, A.T.; MAGNA, L.A.; SARTORATO, E.L. Frequency of the 35delG

Mutation in the GJB2 Gene in Samples of European, Asian, and African Brazilians. **Hum Biol.** Apr 2004.

OLIVEIRA, C.A.; ALEXANDRINO, F.; VITACHI CHRISTIANI THALITA, V. C.; CARLOS, E. S.; LUIZ, R. C. J.; MACIELGUERRA, A.T.; SARTORATO, E.L.. Molecular Genetics Study of Deafness in Brazil: 8-Year Experience. **Am J Med Genet Part A**, Volume 143A Issue 14, Pages 1574 – 1579, 2007.

PARRA, E.J.; MARCINI, A.; AKEY, J.; MARTINSON, J.; BATZER, M.A.; COOPER, R.; FORRESTER, T.; ALLISON, D.B.; DEKA, R.; FERRELL, R.E.; SHRIVER, M.D. Estimating African American admixture proportions by use of population-specific alleles. **Am J Hum Genet.** Dec;63(6):1839-51. 1998.

PIATTO, V.B.; MANIGLIA, J.V. et al. Importância do Gene Conexina 26 na etiologia da deficiência auditiva sensorioneural não-sindrômica. **Acta Awho** 20(2):106–112. 2001.

PIATTO, V.B.; OLIVEIRA, C.A.; ALEXANDRINO, F.; PIMPINATI, C.J.; SARTORATO, E.L. Perspectivas para triagem da deficiência auditiva genética: rastreamento da mutação 35delG em neonatos. **Jornal Ped** - Vol. 81, Nº2, 2005.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics** 155:945-959. 2000.

RABIONET, R.; GASPARINI, P.; ESTIVILL, X. Molecular genetics of hearing impairment due to mutations in gap junction genes encoding beta connexins. **Hum Mutat.** 16(3):190-202. 2000.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **J Hered** 86:248-249. 1995.

RIBEIRO, D. **O povo brasileiro: a formação e o sentido do Brasil.** São paulo: Companhia das Letras. 1995.

SARTORATO, E.L.; GOTTARDI, E.; OLIVEIRA, C.A.; MAGNA, L.A.; ANNICHINO-BIZZACCHI, J.M.; SEIXAS, C.A. *et al.* Determination of the frequency of the 35delG allele in Brazilian neonates. **Clin Genet.** 58:339-40, 2000.

SHRIVER, M.D.; PARRA, E.J.; DIOS S.; BONILLA, C.; NORTON, H.; JOVEL, C.; PFAFF, C.; JONES, C.; MASSAC, A.; CAMERON, N.; BARON, A.; JACKSON, T.; ARGYROPOULOS, G.; J.I.N, L.; HOGGART, C.J.; MCKEIGUE, P.M.; KITTLES, R.A. Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. **Hum Genet.** 112(4):387-99. 2003.

SKVORAK G. A. B.; MORTON C. C. Genetic causes of nonsyndromic hearing loss. **Curr Opin Pediatr**, 11:5551-557, 1999.

VAN LAER, L.; CRYNS, K.; SMITH, R. J.; VAN CAMP, G. Nonsyndromic hearing loss. **Ear Hear**, 24: 275-88, 2003.

WILCOX, S.A.; SAUNDERS, K.; OSBORN, A.H.; ARNOLD, A.; WUNDERLICH, J.; KELLY, T. et al. High frequency hearing loss correlated with mutations in the GJB2 gene. **Hum Genet** 106:399–405. 2000.

WINPEPI – disponível em: <http://www.brixtonhealth.com/pepi4windows.html>

ZELANTE, L.; GASPARINI, P.; ESTIVILL, X.; MELCHIONDA, S.; D'AGRUMA, L.; GOVEA, N.; MILÁ, M.; DELLA-MONICA, M.; LUTFI, J.; SHOHAT, M.; MANSFIELD, E.; DELGROSSO, K.; RAPPAPORT, E.; SURREY, S.; FORTINA, P. Connexin 26 mutations associated with the most common form of non syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterranean. **Hum Mol Genet** 6:1605-1609. 1997.

Tabela 1. Marcadores autossômicos estudados

Marcador	dbSNP (rs)	Tipo	População com alelo *1 mais frequente	Metodologia	Referência
<i>AT3-I/D</i>	rs3138521	<i>Indel</i>	Africana	PCR	Parra et al., 1998
<i>APO</i>	rs3138522	Inserção Alu	Europeia/Ameríndia	PCR	Parra et al., 1998
<i>SB19.3</i>	rs3138524	Inserção Alu	Europeia	PCR	Parra et al., 1998
<i>PV92</i>	rs3138523	Inserção Alu	Ameríndia	PCR	Parra et al., 1998
<i>GC*1F</i>	rs7041	SNP	Africana	PCR/RFLP	Parra et al., 1998
<i>GC*1S</i>	rs4588	SNP	Europeia/Ameríndia	PCR/RFLP	Parra et al., 1998
<i>LPL</i>	rs285	SNP	Africana	Real Time PCR	Presente estudo
<i>FYnull</i>	rs2814778	SNP	Europeia/Ameríndia	Real Time PCR	Presente estudo
<i>CKMM</i>	rs4884	SNP	Ameríndia	Real Time PCR	Presente estudo

Tabela 2. Marcadores do cromossomo Y analisados, metodologia utilizada e população ancestral onde o marcador é encontrado.

Marcador	Haplogrupo	Metodologia	População
M60	B	PCR/Sequenciamento	Africana
PN2	E1b1	PCR/Sequenciamento	Africana
PN3	A2	PCR/Sequenciamento	Africana
M34	E1b1b1c1	PCR/Sequenciamento	Africana
YAP	DE	PCR	Africana/Asiática
M89	F	PCR/Sequenciamento	Asiática
M9	K	PCR/Sequenciamento	Índia/Oceania/Indonésia e Austrália
DYS199 (M3)	Q1a3a	PCR/RFLP	Ameríndio
92R7	P (Q/R)	PCR/RFLP	Eurásia
M207	R	PCR/RFLP	Europeu

Tabela 3. Caracterização da amostra estudada

		Todos	Com 35delG	Sem 35delG	Valores de P*
		40 (%)	10 (%)	30 (%)	
Sexo	Masculino	57,5	80	50	P = 0,982
	Feminino	42,5	20	50	
História familiar	Positiva	80	100	26,7	P = 0,000
	Negativa	20	0	73,3	
Pais consanguíneos	Sim	50	40	50	P= 0,381
	Não	37,5	50	36,7	
	SI	12,5	10	13,3	
Etiologia	Congênita	70	80	66,7	P = 0,517
	Pós-natal	25	10	3,3	
	SI	5	10	30	
Autodenominação de raça/cor	Branços	27,5	50	20	P = 0,060
	Pardos	67,5	40	76,7	
	Outros	5	10	3,3	
Classificação fenotípica	Branços	25	70	10	P = 0,002
	Não Brancos	57,5	30	66,7	
	SI	17,5	0	23,3	

*= Os valores de p foram calculados apenas comparando os DA com e sem mutação; SI = Sem informação.

Tabela 4. Distribuição das frequências dos marcadores autossômicos nas populações estudadas e nas ancestrais

	AT3-I/D*1	APO*1	PV92*1	SB19.3*1	LPL*1	FY*1	CKMM*1	GC*1F	GC*1S
DA	0,300	0,775	0,200	0,795	0,579	0,750	0,425	0,385	0,462
DA com 35delG	0,400	0,900	0,100	0,833	0,400	0,889	0,350	0,500	0,450
DA sem 35delG	0,267	0,733	0,233	0,783	0,643	0,707	0,450	0,345	0,466
Africanos*	0,880	0,460	0,200	0,455	0,974	0,000	0,153	0,847	0,084
Europeus*	0,273	0,920	0,156	0,900	0,520	0,985	0,280	0,150	0,590
Nativos Americanos*	0,159	0,945	0,764	0,675	0,558	0,993	0,882	0,340	0,540

*Shriver *et al.*, 2003

Tabela 5. Estimativa de mistura na amostra estudada estimada por marcadores autossômicos, do mtDNA e do cromossomo Y

	Contribuição Ancestral	DA Total (%)	DA com mutação (%)	DA sem mutação (%)
Autossômico	Africana	20,5	12,5	23,5
	Europeia	61,3	82,9	53,5
	Ameríndia	18,2	4,6	23,0
mtDNA	Africana	50,0	90,0	36,7
	Europeia	15,0	0	20,0
	Ameríndia	35,0	10,0	43,3
CromossomoY	Africana	21,7	37,5	13,3
	Europeia	60,9	50,0	60,0
	Ameríndia/Índia	4,4	0	6,7
	Sem haplogrupo definido	17,4	12,8	20,0

Tabela 6. Ancestralidade individual entre os diferentes grupos

Contribuição europeia	Com c.35delG (%)	Sem c.35delG (%)	
<50%	10,0	23,3	P = 0,341
>50%	90,0	76,7	

3.3 MANUSCRITO 3

Doenças genéticas e ancestralidade

Machado, TMB^{1,4}; Bomfim, TF^{1,4}; Meyer, R⁴, Acosta, AX^{1,2}; Abe-Sandes, K^{1,3,4}

¹Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz (CPqGM) / FIOCRUZ- BA; ²Faculdade de Medicina da Bahia - Universidade Federal da Bahia (UFBA)

³Universidade Estadual da Bahia (UNEB); ⁴ Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular – Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (Labimuno/ICS/UFBA)

Corresponding author: kabesandes@yahoo.com

RESUMO

No município de Monte Santo-BA foram identificadas várias doenças genéticas raras como síndrome de Treacher Collins (STC), osteogênese imperfeita (OI), mucopolissacaridose do tipo VI (MPSVI), surdez hereditária não sindrômica (SHNS), fenilcetonúria (PKU) e hipotireoidismo congênito (HC) e algumas delas com elevada prevalência. Na tentativa de estimar a ancestralidade e estabelecer fatores evolutivos que estejam envolvidos no aumento da ocorrência destas doenças foram analisados os pacientes afetados e uma amostra de 194 residentes do município. Para isso foram analisados nove marcadores autossômicos informativos de ancestralidade: *AT3-I/D*, *APO*, *SB19.3*, *PV92*, *CKMM*, *FYnull*, *LPL*, *GC-1*F* e *GC-1*S*; a região hipervariável (HVS-I) do DNA mitocondrial (mtDNA) e 10 marcadores do cromossomo Y (M60, PN2, PN3, M34, M89, M9, YAP, M3, M207, 92R7). Estes marcadores foram genotipados por PCR convencional (*AT3-I/D*, *APO*, *SB19.3*, *PV92*, *YAP*), PCR/RFLP (*GC-1*F*, *GC-1*S*, M3, M207, 92R7), PCR em tempo Real (*CKMM*, *FYnull* e *LPL*) ou sequenciamento (HVS-I, M60, PN2, PN3, M34, M89, M9). A estimativa de mistura foi avaliada pelos programas Admix95 e Structure. Maior contribuição europeia foi encontrada em todas as populações estudadas, exceto na OI. Na análise do mtDNA as contribuições africanas e ameríndias são prevalentes, ao contrário do cromossomo Y que possui maior contribuição europeia. A análise de estimativa de mistura nesta população auxilia na reconstrução da dinâmica de formação do município, mostrando a ocorrência de assimetria na contribuição materna e paterna, revelando uniões preferencialmente entre homens europeus e mulheres africanas e ameríndias.

Palavras Chave: Ancestralidade genômica, doenças genéticas, cromossomo Y, mtDNA

Introdução

Dados históricos mostram que a população da Bahia é composta por três grupos ancestrais: africanos, europeus e ameríndios. De acordo com dados do IBGE (2000), no estado da Bahia cerca de 80% da população é composta por afrodescendentes.

Observa-se distribuição heterogênea dos grupos ancestrais no território baiano. Nas regiões que foram economicamente importantes, na época da colonização, existe uma predominância de indivíduos com características fenotípicas e culturais africanas enquanto o branqueamento da população ocorre à medida que se afasta do litoral (AZEVEDO *et al.*, 1982).

Muitas populações têm histórias complexas de mistura recente e a autoclassificação torna-se uma ferramenta incapaz de estimar a real mistura individual ou da população (ROTIMI *et al.*, 2010).

Dados genéticos obtidos através da análise do cromossomo Y e do DNA mitocondrial (mtDNA), indicam que a patrilinearidade brasileira é principalmente de origem européia, enquanto que a matrilinearidade é ameríndia ou africana confirmando dados históricos sobre o processo de migração e fluxo gênico no período colonial (BORTOLINI *et al.*, 1998; ALVES-SILVA *et al.*, 2000; CARVALHO-SILVA *et al.*, 2001; ABÉ-SANDES *et al.*, 2004). Entretanto, um estudo realizado na Bahia mostrou que os casamentos ocorrem preferencialmente entre indivíduos de mesmo grupo racial (AZEVEDO *et al.*, 1986).

O crescente conhecimento da variação genética humana tem elucidado as causas para a susceptibilidade à algumas doenças entre indivíduos e populações. Se a prevalência das doenças entre as populações é variável é de se esperar que as frequências de variantes genéticas que contribuem para sua causa também variem (ROTIMI *et al.*, 2010).

Embora nenhuma doença genética seja restrita a determinado grupo populacional, existem evidências de que algumas delas estão associadas a determinadas populações ou região geográfica. O uso da ancestralidade no mapeamento de genes que contribuem para doenças comuns, tais como doença renal crônica, e infecção pelo vírus da hepatite C (GE *et al.*, 2009), hemoglobinopatias (AZEVEDO *et al.*, 1980), doenças cardiovasculares (THOMAS *et al.*, 2005), tromboembólicas (CAMARGO *et al.*, 2005), câncer de próstata (KITTLES *et al.*, 2002; PASCHOALIN *et al.*, 2003), hiperhomocisteinemia (ARRUDA *et al.*, 1998), hepatite

crônica C (NGUYEN & THULUVATH, 2008) ilustra como a genômica pode nos auxiliar na compreensão das causas das doenças (ROTIMI *et al.*, 2010).

Portanto, a prevalência, gravidade e resistência das doenças variam consideravelmente entre os grupos étnicos e são dependentes de fatores hereditários e não hereditários tais como pobreza, acesso desigual aos cuidados, estilo de vida e de saúde relacionados com as práticas culturais (ROTIMI *et al.*, 2010).

No presente estudo, foi estimada a proporção de ancestralidade africana, europeia e ameríndia em uma amostra de indivíduos afetados por doenças genéticas no município de Monte Santo-BA, utilizando marcadores informativos de ancestralidade biparentais (autossômicos) e uniparentais (no mtDNA e cromossomo Y) com o objetivo de verificar se existe associação entre a ocorrência das doenças, a ancestralidade e fatores envolvidos na ocorrência e manutenção das doenças nesta população.

Material e Métodos

- População de estudo

As amostras analisadas neste estudo são provenientes do município de Monte Santo e cidades vizinhas com diagnóstico clínico, bioquímico e molecular das seguintes doenças genéticas: osteogênese imperfeita (OI), mucopolissacaridose do tipo VI (MPSVI), síndrome de Treacher Collins (STC), fenilcetonúria (PKU) e hipotireoidismo congênito (HC), no período de 2008 a 2010. A população de afetados compreende 36 indivíduos, entretanto, foram avaliados 25, sendo um de cada núcleo familiar (pai, mãe e filhos), o detalhamento por doença encontra-se na Tabela 1.

Além dos pacientes com doenças genéticas já diagnosticadas foram analisados também 194 indivíduos atendidos no Centro de Atenção Psicossocial (CAPS) que haviam sido recrutados para triagem bioquímica de PKU e HC, tendo sido diagnosticado um paciente com PKU. Estes indivíduos foram inseridos neste estudo como amostras da população geral do município.

Monte Santo localiza-se no interior do Estado da Bahia (região Nordeste do Brasil) e possui 52.339 habitantes (IBGE, 2010). Destes, 13% residem na sede do município e 87% na zona rural, subdivididos em mais de 150 povoados.

Estudos de algumas doenças genéticas realizadas por Amorim e cols, 2011; Manzoli, 2010; Costa-Motta e cols., 2011 revelaram frequência aumentada dessas doenças na região de Monte Santo-BA.

A Figura 1 mostra a localização dos indivíduos afetados pelas doenças genéticas (MPS VI, PKU, OI, STC e HC) residentes no município de Monte Santo.

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz. Todos os participantes do estudo ou seu responsável legal assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

- Genotipagem dos marcadores de ancestralidade

a) Marcadores Autossômicos

Foram analisados nove marcadores informativos de ancestralidade (AIM) (SHRIVER *et al.*, 2003) com alto diferencial de frequência entre as populações ancestrais (Tabela 2). Nas amostras do CAPS foram analisados apenas os marcadores autossômicos.

b) mtDNA

Foram analisados 443pb da região hipervariável (HVS-I) (nt15978 ao nt16420) do mtDNA por sequenciamento automático (ABI Prism 3130xl Genetic Analyzer, Applied Biosystems, Foster City, CA) com as sequências de primers: F: 5'- CAC CAT TAG CAC CCA AAG CT -3' e R: 5'-TGA TTT CAC GGA GGA TGG TG - 3' (ABESANDES, 2002).

c) Cromossomo Y

Para a análise dos marcadores do cromossomo Y, em pacientes do sexo feminino, foi coletada, quando possível, amostra do pai e/ou irmão.

Para o cromossomo Y foram escolhidos marcadores que caracterizam os haplogrupos das principais populações ancestrais (Tabela 3) (Consortium Y - KARAFET *et al.*, 2008).

- Análise Estatística

As frequências alélicas e genotípicas dos marcadores biparentais e o equilíbrio de Hardy-Weinberg foram avaliados pelo programa GENEPOP v3.4 (RAYMOND & ROUSSET *et al.*, 1995). A estimativa de mistura populacional e a individual foram avaliadas pelos programas ADMIX (CHAKRABORTY *et al.*, 1985) e Structure v. 2.3.3 (PRITCHARD *et al.*, 2000), respectivamente. Todos os segmentos sequenciados foram analisados no BioEdit sequence analysis software v 7.1.3 (HALL, 1999).

Resultados

Neste estudo foram calculadas as estimativas de mistura e analisada a contribuição uniparental, materna e paterna, para os pacientes afetados por doenças genéticas no município de Monte Santo (Tabela 4).

Na estimativa de mistura utilizando marcadores autossômicos a contribuição ancestral europeia foi a mais elevada tanto nos pacientes como na população do CAPS, a exceção foi observada para os pacientes com OI onde a ancestralidade ameríndia foi predominante.

Os dados do mtDNA mostraram elevada contribuição africana, seguida de ameríndia e europeia. Apenas os pacientes de MPSVI mostram a contribuição ameríndia como principal. Entretanto, a contribuição paterna (cromossomo Y) mostrou elevada contribuição europeia em todos os grupos estudados.

Discussão

A análise das contribuições ancestrais autossômicas mostrou contribuição europeia elevada na formação da população de Monte Santo-BA. Esta contribuição genética europeia elevada é corroborada por dados da literatura que mostram o “branqueamento” da população da Bahia com o aumento da distância do litoral (AZEVEDO *et al.*, 1982).

A maior contribuição autossômica europeia pode ser confirmada pelo predomínio de haplogrupo do cromossomo Y de origem também europeia e pela presença de haplogrupos mitocondriais europeus, mesmo que em menor proporção. Contudo, a discrepância entre as contribuições uniparentais, maior proporção de mtDNA ameríndio e africano e cromossomo Y europeu, reflete a assimetria na contribuição ancestral materna e paterna na formação da população de Monte Santo, assim como observado para o Brasil (ALVES-SILVA *et al.*, 2000).

Considerando os três tipos de ancestralidade avaliados não foi possível associar haplogrupos do cromossomo Y ou de mtDNA e maior estimativa de mistura autossômica com nenhuma das doenças genéticas. Esta ausência de padrão pode estar relacionada com a não associação entre os marcadores informativos de ancestralidade e as alterações causadoras de doença, pois nenhum dos marcadores utilizados na estimativa de mistura está localizado próximo aos *loci* gênicos já descritos como associados com a ocorrência das doenças analisadas.

Este estudo não avaliou as mutações causadoras das doenças genéticas estudadas, mas, possivelmente, a ocorrência das doenças recessivas com frequência elevada no município de Monte Santo pode estar relacionada com fatores como: casamentos consanguíneos, migração, efeito fundador e deriva genética. Todos estes fatores podem alterar as frequências genotípicas e os casamentos consanguíneos aumentam a frequência de homozigotos, aumentando a probabilidade de homozigose também para alelos recessivos.

A ocorrência e o aumento da prevalência das doenças genéticas em Monte Santo podem ser explicados pela frequência mais elevada de casamentos consanguíneos, uma vez que a OI, MPSVI, PKU e HC estão relacionados com alterações autossômicas recessivas. Com relação à OI temos apenas uma família com três afetados filhos de casamento consanguíneo ($F=0,094$). Para a MPSVI, o estudo de Costa-Motta e cols. (2011) mostrou que todos os afetados fazem parte de uma única genealogia ($F=0,0055$), confirmando a consanguinidade como causa da prevalência elevada desta doença no Município. Na análise dos indivíduos com PKU também foi possível, através de relatos de parentesco dos familiares, estabelecer a

consanguinidade entre os pais de todos os afetados e uni-los em uma única genealogia (AMORIM, 2010). Com relação aos pacientes de HC em quatro das sete famílias estudadas os pais dos afetados são consanguíneos (OLIVEIRA, 2010).

Na análise molecular da família com STC foi possível determinar que este se trata de um caso autossômico dominante, onde a mãe e sua prole são afetados.

A subdivisão da população em povoados confere a estas características de pequenos semi-isolados com tamanho populacional reduzido, favorecendo os casamentos endogâmicos e consanguíneos, elevando a frequência de genótipos homozigotos e, conseqüentemente, o aparecimento das doenças genéticas recessivas em regiões específicas do município (Figura 1), onde se observa agrupamento de afetados pela mesma doença em determinada localidade.

Assim como na história da formação da população brasileira, a formação da população de Monte Santo-BA, também contou com a contribuição das três principais populações formadoras: europeus, ameríndios e africanos, tornando-a uma população tri-híbrida. A estimativa da ancestralidade por marcadores autossômicos mostra o predomínio da contribuição europeia, seguida da africana e da ameríndia, exceto para a população de Ol, que pode estar associada com o pequeno número de amostras analisadas. Na análise do cromossomo Y o predomínio de contribuição europeia também ocorreu, enquanto que na análise do mtDNA a contribuição europeia foi menor e a ameríndia e africana mostraram maiores proporções. Estes dados corroboram dados da literatura que mostram maior contribuição paterna europeia e materna de origem africana e ameríndia.

Os alelos mutantes, responsáveis pelas doenças genéticas estudadas podem ter entrado na população de Monte Santo por migração. Mas a manutenção destes alelos na população pode ser explicada não só pela ocorrência de casamentos consanguíneos, mas também pela deriva genética que constitui a variação aleatória das frequências gênicas ao longo das gerações e que pode provocar a eliminação ou a fixação casual de um alelo (BEIGUELMAN, 1996).

A elevada frequência de MPSVI na população de Monte Santo pode estar associada com deriva genética e casamentos consanguíneos. Fatores sugeridos pela

detecção de uma mesma mutação (p.H178L), no gene da *arilsulfatase B*, nestes pacientes (COSTA-MOTTA *et al.*, 2011). Além disso, compartilhamento do mesmo haplótipo intragênico por todos os pacientes, mostra a existência de um ancestral comum a todos os afetados. Estes dados sugerem que a mutação pode ter surgido no Brasil, e que o aumento da frequência em Monte Santo, é devido a alta taxa de endogamia e endocruzamento. A maior proporção de haplogrupo mitocondrial ameríndio entre os afetados também pode estar associada com a presença desta mutação na população de Monte Santo.

Conclusão

Os resultados do presente estudo mostram elevada contribuição européia tanto para marcadores autossômicos quanto em marcadores do cromossomo Y. Entretanto, o estudo do mtDNA mostrou alta contribuição materna ameríndia e africana. Estes dados permitem reconstruir a história de formação da população de Monte Santo. Que, assim como para a população brasileira, sugere a ocorrência de casamentos assimétricos com elevada contribuição paterna europeia e materna ameríndia e africana.

A prevalência elevada de algumas doenças genéticas no município de Monte Santo pode estar associada a fatores evolutivos, como efeito fundador e deriva genética, visto que o maior contingente da população vive em pequenos povoados na zona rural formados por migração de poucos e pequenos núcleos familiares.

A maior ocorrência de casamentos consanguíneos entre os pais dos afetados e entre os indivíduos de um mesmo povoado (subdivisão da população) pode também contribuir para a manutenção das doenças genéticas dentro desta população, bem como para o aumento da frequência de doenças recessivas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à plataforma de sequenciamento do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz-FIOCRUZ/BA, às agências de fomento FAPESB, CNPQ e INAGEMP e aos integrantes das expedições de campo do projeto Genética do Sertão.

Referências Bibliográficas

ABE-SANDES, K. **Diversidade genética de afro-brasileiros: DNA mitocondrial e cromossomo Y**. 2002. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Ribeirão Preto. SP.

ABE-SANDES, K.; SILVA, W.A. Jr; ZAGO, M.A. Heterogeneity of the Y chromosome in AfroBrazilian populations. **Hum Biol** 76(1):77-86. 2004.

ALVES-SILVA, J.; DA SILVA SANTOS M.; GUIMARÃES, P.E.; FERREIRA, A.C.; BANDELT, H.J.; PENA, S.D.; PRADO, V.F. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. **Am J Hum Genet**. 67(2):444-61. 2000.

AMORIM, T. R. S. **Estudo das Bases Moleculares da Fenilcetonúria no Nordeste do Brasil**. 2010. Tese. Fundação Oswaldo Cruz.

AMORIM, T.R.S.; BOA-SORTE, N; LEITE, M.E.Q; ACOSTA, A.X. Clinical and demographic aspects of phenylketonuria in Bahia state, Brazil. **Rev Paul Pediatr**. 29(4):612-7. 2011.

ARRUDA, V.R.; SIQUEIRA, L.H.; GONÇALVES, M.S.; VON ZUBEN, P.M.; SOARES, M.C.; MENEZES, R.; ANNICHINO-BIZZACCHI, J.M.; COSTA, F.F. Prevalence of the mutation C677à T in the methylene tetrahydrofolate reductase gene among distinct ethnic groups in Brazil. **Am. J. Med. Genet**. v. 78. n. 4, p. 332-335, 1998.

AZEVEDO, E.S.; ALVES, A.F.P.; SILVA, M.C.B.O.; SOUZA, M.G.F.; LIMA, A.M.V.M.D.; AZEVEDO, W. Distribution of abnormal hemoglobins and glucose-6-phosphate dehydrogenase variants in 1200 school children of Bahia, Brazil. **Am J Phys Anthropol**. 53:509-12. 1980.

AZEVEDO, E.S.; FORTUNA, C.M.M.; SILVA, K.M.C.; SOUSA, M.G.F; MACHADO, M.A.; LIMA, A.M.V.M.D; AGUIAR, M.E.; ABÉ, K.; EULÁLIO, M.C.M.N.; CONCEIÇÃO, M.M.; SILVA, M.C.B.O.; SANTOS, M.G. Spread and Diversity of Human Populations in Bahia, Brazil. **Hum Biol** 54:329-341. 1982.

AZEVEDO, E.S.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A.; FREIRE-MAIA, N.; FORTUNA, C.M.M.; ABE, K; SANTOS, M.G.; BARBOSA, A.A.L.; SILVA, M.E.T.; COSTA, A.F. Mating types in a mixed and multicultural population of Salvador, Brazil.. **Rev Brasil Genet IX** 3. 487-496. 1986.

BEIGUELMAN, B. **Dinâmica dos Genes Nas Famílias e Nas Populações**. 2. ed. Ribeirão Preto: Editora da Sociedade Brasileira de Genética. 472 p. 1996.

BORTOLINI, M.C.; SILVA-JUNIOR, A.W.; WEIMER, T.A.; ZAGO, M.A.; CASTRO-DE-GUERRA; SCHNEIDER, M.P.; LAYRISSE, Z.; MENDEZ-CASTELLANO, H.; SALZANO, F.M.H. Protein and hypervariable tandem repeat diversity in eight African-derived South American populations. Inferred relationships do not coincide. **Hum Biol.** v. 70. n. 3. p. 443-461. 1998.

CAMARGO, E.C.S.; MASSARO, A.R.; BACHESCHI, L.A.; D'AMICO, E.A.; VILLAÇA, P.R.; BASSITT, R.P.; GUALANDRO, S.F.; BENDIT, I.; SCAFF, M. Ethnic Differences in Cerebral Venous Thrombosis. **Cerebrovasc. Dis.**, v. 19, n. 3, p. 147-151, 2005.

CARVALHO-SILVA, D.R.; SANTOS, F.R.; ROCHA, J.; PENA, S.D. The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. **Am J Hum Genet.** 68:281–286. 2001.

CHAKRABORTY, R. Gene identity in racial hybrids and estimation of admixture rates. In Ahuja YR, Neel JV, editors. Genetic differentiation in human and others animal populations. **Ind Anthropol Assoc** 171-180. 1985.

COSTA-MOTTA, F. M; ACOSTA, A. X; ABÉ-SANDES, K.; BENDER, F.; SCHWARTZ, I. V. D. ; GIUGLIANI, R.; LEISTNER-SEGAL, S. Genetic Studies In A Cluster Of Mucopolysaccharidosis Type Vi Patients In Northeast Brazil. **Mol Genet Metab** (Print), v. 104, p. 603-607, 2011.

GE, D.; FELLAY, J.; THOMPSON, A.J. *et al.* Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. **Nature** 461:399-401. 2009.

HALL TA: BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symp Ser** 41:95-98. 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA - **IBGE**. Rio de Janeiro. 2000. Available at: <www.ibge.gov.br>.

KARAFET, T. M.; MENDEZ, F. L; MEILERMAN, M. B; UNDERHILL, P. A; ZEGURA, S. L.; HAMMER, M. F. New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y chromosomal haplogroup tree. **Genome Res.** 18: 830-838. 2008.

KITTLES, R.A.; CHEN, W.; PANGULURI, R.K.; AHAGHOTU, C.; JACKSON, A.; ADEBAMOWO, C.A.; GRIFFIN, R.; WILLIAMS, T.; UKOLI, F.; ADAMS-CAMPBELL, L.; KWAGYAN, J.; ISAACS, W.; FREEMAN, V.; DUNSTON, G.M. CYP3A4V and prostate

cancer in African Americans: causal or confounding association because of population stratification? **Hum Genet.** 110:553-560. 2002.

MANZOLI, G. N. **Bases Genéticas da Surdez Hereditária Não-Sindrômica em Salvador e em Monte Santo-Bahia.** 2010. Dissertação. Fundação Oswaldo Cruz.

NGUYEN GC, THULUVATH PJ. Racial disparity in liver disease: Biological, cultural, or socioeconomic factors. **Hepatology.** Mar;47(3):1058-66. 2008.

OLIVEIRA, T. L. **Caracterização clínica e molecular de pacientes com hipotireoidismo congênito em Monte Santo-BA.** 2010. Dissertação. Fundação Oswaldo Cruz.

PASCHOALIN EL, MARTINS ACP, PASTORELLO M, SÂNDIS KA, MACIEL LMZ, SILVA JR WA, ZAGO MA, BESSA J JR. Racial influence on the prevalence of Prostate Carcinoma in Brazilian volunteers. **International Braz J Urol .** 29(4): 300-305. 2003.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics** 155:945-959. 2000.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **J Hered** 86:248-249. 1995.

ROTIMI, C. N. and JORDE, L. B. Ancestry and Disease in the Age of Genomic Medicine. **N Engl J Méd.** 363:1551-8. 2010.

SHRIVER, M.D.; PARRA, E.J.; DIOS S.; BONILLA, C.; NORTON, H.; JOVEL, C.; PFAFF, C.; JONES, C.; MASSAC, A.; CAMERON, N.; BARON, A.; JACKSON, T.; ARGYROPOULOS, G.; J.I.N, L.; HOGGART, C.J.; MCKEIGUE, P.M.; KITTLES, R.A. Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. **Hum Genet.** 112(4):387-99. 2003.

THOMAS, A.J.; EBERLY, L.E.; SMITH, G.D.; NEATON, J.D.; STAMLER, J. Race/Ethnicity, Income, Major Risk Factors, and Cardiovascular Disease Mortality. **Am. J. Public. Health,** v.95, n. 8, p. 1417-1423, 2005.

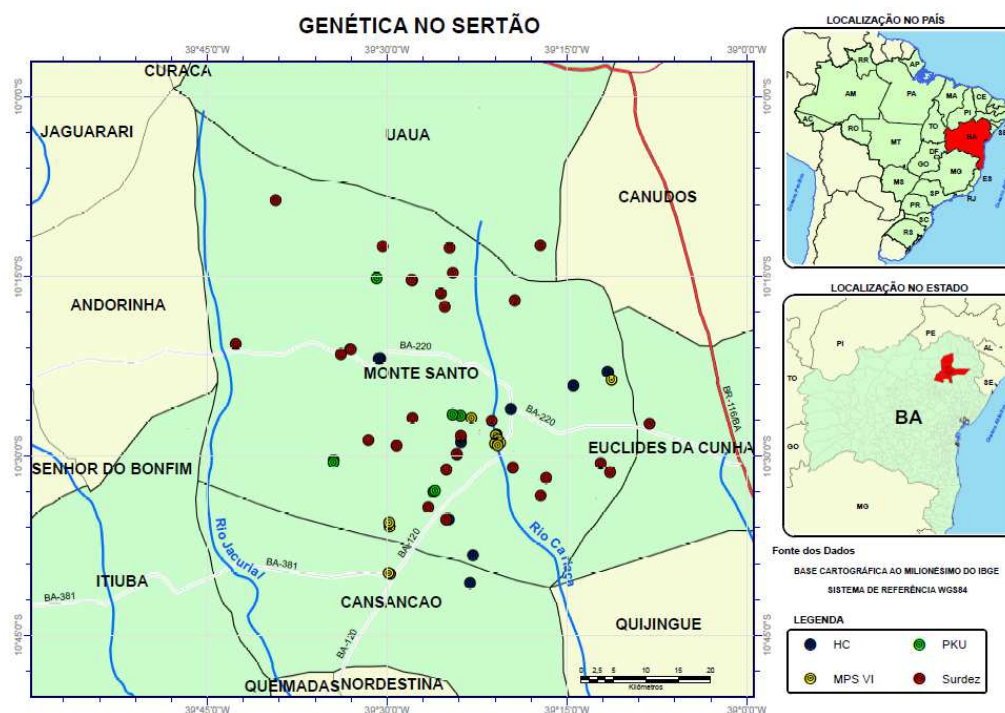


Figura 1. Localização dos pacientes no município de Monte Santo-BA

Tabela 1. Caracterização das amostras estudadas

Doença estudada	Família (n)	Afetados (n)	Amostras analisadas (n)
Mucopolissacaridose VI (MPSVI)	09	11	09
Fenilcetonúria (PKU)	07	07	07
Osteogênese Imperfeita (OI)	01	03	01
Síndrome de Treacher Collins (STC)	01	05	01
Hipotireoidismo Congênito (HC)	07	10	07
Centro de Atenção Psicossocial (CAPS)	-	-	194
Total geral			219

Tabela 2. Marcadores autossômicos estudados

Marcador	db SNP (rs)	Tipo	População com alelo *1 mais frequente	Métodos	Referência
<i>AT3-I/D</i>	rs3138521	<i>Indel</i>	Africana	PCR	Parra et al., 1998
<i>APO</i>	rs3138522	Inserção Alu	Europeia/Ameríndia	PCR	Parra et al., 1998
<i>SB19.3</i>	rs3138524	Inserção Alu	Europeia	PCR	Parra et al., 1998
<i>PV92</i>	rs3138523	Inserção Alu	Ameríndia	PCR	Parra et al., 1998
<i>GC*1F</i>	rs7041	SNP	Africana	PCR/RFLP	Parra et al., 1998
<i>GC*1S</i>	rs4588	SNP	Europeia/Ameríndia	PCR/RFLP	Parra et al., 1998
<i>LPL</i>	rs285	SNP	Africana	Real Time PCR	Presente estudo
<i>FYnull</i>	rs2814778	SNP	Europeia/Ameríndia	Real Time PCR	Presente estudo
<i>CKMM</i>	rs4884	SNP	Ameríndia	Real Time PCR	Presente estudo

Tabela 3. Marcadores do cromossomo Y analisados e metodologia utilizada e a população ancestral

Marcador	Haplogrupo	Métodos	População ancestral
M60	B	Sequenciamento	Africana
PN2	E1b1	Sequenciamento	Africana
PN3	A2	Sequenciamento	Africana
M34	E1b1b1c1	Sequenciamento	Africana
YAP	DE	PCR convencional	Africana/Asiática
M89	F	Sequenciamento	Asiática
M9	K	Sequenciamento	Índia/Oceania/Indonésia e Austrália
DYS199 (M3)	Q1a3a	PCR/RFLP	Ameríndio
92R7	P (Q/R)	PCR/RFLP	Eurásia
M207	R	PCR/RFLP	Europeu

Tabela 4. Estimativas de mistura e haplogrupos do mtDNA e cromossomo Y

Pacientes	Autossômico			mtDNA			Cromossomo Y		
	AFR	EUR	AME	AFR	EUR	AME	AFR	EUR	AME
MPSVI	14,1%	80,1%	5,8%	11%	11%	78%	-	100%	-
PKU	18,2%	70,7%	11,1%	50%	33%	-	33%	67%	-
OI	8,4%	32,3%	59,3%	100%	-	-	-	100%	-
STC	22,3%	72,7%	5,0%	100%	-	-	-	100%	-
HC	27,8%	62,6%	9,6%	57,1%	28,6%	14,3%	25%	75%	-
CAPS	16,4%	63,5%	20,1%	Na	Na	Na	Na	Na	Na

AFR = Africano; EUR = Europeu; AME = Ameríndio; Na = Não analisado

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo sobre os tipos de casamento em Monte Santo mostrou alta ocorrência de casamentos entre indivíduos provenientes deste município, elevada taxa de consanguinidade, divisão da população em povoados (favorecendo os casamentos endogâmicos) e baixa taxa de migração o que caracterizam a população como semi-isolada.

A união destes fatores, presentes em todos os períodos analisados, pode explicar o aumento da ocorrência de doenças genéticas na população estudada.

O manuscrito que relaciona a surdez hereditária não-sindrômica, a presença da mutação c.35delG e a ancestralidade dos pacientes (avaliada tanto por marcadores autossômicos como por marcadores do cromossomo Y e mitocondrial) mostrou elevada contribuição europeia entre os afetados, e ela é maior nos pacientes que tinham a mutação (c.35delG).

Esta maior contribuição europeia associada à mutação c.35delG, responsável por 23,75% da deficiência auditiva de etiologia genética deste município, sugere que esta alteração pode ter sido inserida na população estudada pela migração de europeus ou seus descendentes para esta região.

Visto que a mutação c.35delG é responsável por quase 1/4 dos casos de surdez de Monte Santo pode-se indicar a implementação do estudo molecular desta mutação na triagem neonatal do município, para que seja possível o rastreamento precoce dos casos de DA de etiologia genética pela c.35delG e para que possa ser oferecido o tratamento adequado e o aconselhamento genético às famílias de risco.

Os dados do terceiro artigo desta tese confirmam a elevada contribuição europeia autossômica, exceto ao avaliarmos os afetados pela OI. Isso ocorre talvez pelo número reduzido da amostra de OI, pois a mesma mostrou contribuição paterna europeia.

A análise utilizando marcadores do cromossomo Y mostrou elevada contribuição europeia. Entretanto, para o mtDNA a maior contribuição foi de origem africana, exceto para os pacientes com MPSVI (maior contribuição ameríndia). Estas análises reforçam

dados históricos sobre a formação da população brasileira: a ocorrência de casamentos entre homens europeus e mulheres africanas e ameríndias.

Este terceiro manuscrito mostrou que a influência de fatores evolutivos e fatores que alteram a frequência genotípica são importantes na ocorrência e manutenção das doenças genéticas presentes em Monte Santo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE-SANDES, K. **Diversidade genética de afro-brasileiros: DNA mitocondrial e cromossomo Y**. 2002. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Ribeirão Preto. SP.
- ABE-SANDES, K.; SILVA, W.A. Jr; ZAGO, M.A. Heterogeneity of the Y chromosome in AfroBrazilian populations. **Hum Biol** . 76(1):77-86. 2004.
- ABE-SANDES, K; BOMFIM, T. F.; MACHADO, T.M.B.; ABE-SANDES, C.; ACOSTA, A. X.; ALVES, C.R.B.; GALVÃO-CASTRO, B. Ancestralidade Genômica, nível socioeconômico e vulnerabilidade ao HIV/aids na Bahia, Brasil. **Saúde Soc** (USP. Impresso). v. 19, p. 75-84. 2010.
- AGOSTINI, J. M. & MEIRELLES-NASSER, C. Consanguineous marriages in the archdiocese of Florianopolis, South Brazil. **Rev. Brasil. Genet.** IX, 3: 479-486. 1986.
- AL-ABDULKAREEM, A. A. & BALLAL, S. G. Consanguineous marriage in an urban area of Saudi Arabia: rates and adverse health effects on the offspring. **J Community Health**. 23, 75–83. 1998.
- AL-AWADI, S. A.; NAGUIB, K. K.; MOUSSA, M. A.; FARAG, T. I.; TEEBI, A. S.; EL-KHALIFA, M. Y. The effect of consanguineous marriages on reproductive wastage. **Clin Genet**. 29, 384–388.1986.
- AL-RIFAI, M. T. & WOODY, R. C. Marriage patterns and pediatric neurologic disease in Damascus, Syria. **Pak J Neurology Sci**. 2, 136–140. 2007.
- ALVES-SILVA, J.; DA SILVA SANTOS, M.; GUIMARÃES, P.E.; FERREIRA, A.C.; BANDELT, H.J.; PENA, S.D.; PRADO, V.F. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. **Am J Hum Genet**. 67(2):444-61. 2000.
- AMORIM, C.E.; GONTIJO, C.C.; FALCÃO-ALENCAR, G.; GODINHO, N.M.; TOLEDO, R.C.; PEDROSA, M.A.; LUIZON, M.R.; SIMÕES, A.L.; KLAUTAU-GUIMÃRES, M.N.; OLIVEIRA, S.F. Migration in Afro-Brazilian rural communities: crossing demographic and genetic data. **Hum Biol**. Aug;83(4):509-21. 2011a.
- AMORIM T, GATTO SPP, BOA-SORTE N, LEITE MEQ, FONTES MIMM, BARRETTO J, et al. Aspectos clínicos da fenilcetonúria em serviço de referência em triagem neonatal da Bahia. **Rev Bras Saúde Mater Infant**. 5:457-62. 2005.
- AMORIM, T. R. S. **Estudo das Bases Moleculares da Fenilcetonúria no Nordeste do Brasil**. 2010. Tese. Fundação Oswaldo Cruz.
- AMORIM, T.R.S.; BOA-SORTE, N; LEITE, M.E.Q; ACOSTA, A.X. Clinical and demographic aspects of phenylketonuria in Bahia state, Brazil. **Rev Paul Pediatr**. 29(4):612-7. 2011b.

- ANDERSON, S.; BANKIER, A.T.; BARRIEL, A.G.; DE BRUIJIN, M.H.L.; COULSON, A.R.; SANGER, F.; SCHEIR, P.H.; SMITH, A.J.H.; STANDEN, R.; YOUNG, C. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. **Nature**. 290:457-465. 1981.
- ANGELI SI. Phenotype/Genotype Correlations in a DFNB1 Cohort With Ethnical Diversity. **Laryngoscope**. 118: 2014–2023. doi: 10.1097/MLG.0b013e31817fb7ad. 2008.
- ARCOT, S.S.; ADAMSON, A.W.; RISCH, G.W.; LAFLEUR, J.; ROBICHAUX, M.B.; LAMERDIN, J.E.; CARRANO, A.V.; BATZER, M.A. High-resolution cartography of recently integrated human chromosome 19-specific Alu fossils. **J Mol Biol** 4;281(5):843-56. Sep 1998.
- ARRUDA, V.R.; SIQUEIRA, L.H.; GONÇALVES, M.S.; VON ZUBEN, P.M.; SOARES, M.C.; MENEZES, R.; ANNICHINO-BIZZACCHI, J.M.; COSTA, F.F. Prevalence of the mutation C677à T in the methylene tetrahydrofolate reductase gene among distinct ethnic groups in Brazil. **Am. J. Med. Genet.** v. 78. n. 4, p. 332-335, 1998.
- AZEVEDO, E.S.; ALVES, A.F.P.; SILVA, M.C.B.O.; SOUZA, M.G.F.; LIMA, A.M.V.M.D.; AZEVEDO, W. Distribution of abnormal hemoglobins and glucose-6-phosphate dehydrogenase variants in 1200 school children of Bahia, Brazil. **Am J Phys Anthropol**. 53:509-12. 1980.
- AZEVEDO, E.S.; FORTUNA, C.M.M.; SILVA, K.M.C.; SOUSA, M.G.F.; MACHADO, M.A.; LIMA, A.M.V.M.D; AGUIAR, M.E.; ABÉ, K.; EULÁLIO, M.C.M.N.; CONCEIÇÃO, M.M.; SILVA, M.C.B.O.; SANTOS, M.G. Spread and diversity of human populations in Bahia, Brazil. **Hum Biol** 54:329-341. 1982.
- AZEVEDO, E.S.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A.; FREIRE-MAIA, N.; FORTUNA, C.M.M.; ABE, K; SANTOS, M.G.; BARBOSA, A.A.L.; SILVA, M.E.T.; COSTA, A.F. Mating types in a mixed and multicultural population of Salvador, Brazil.. **Rev Brasil Genet IX** 3. 487-496. 1986.
- BALLANA, E.; VENTAYOL, M.; RABIONET, R.; GASPARINI, P.; ESTIVILL, X. **Connexins and deafness Homepage**. Disponível em <<http://davinci.crg.es/deafness>> Acesso em julho 2010.
- BARBOSA, A.A.L.; SOUSA, S.M.B.; ABÉ-SANDES, K.; ALONSO, C.A.; SCHNEIDER, V.; COSTA, D.C.C.; CAVALLI, I.J.; AZEVÊDO, E.E.S. Microsatellite studies on an isolated population of African descent in the Brazilian state of Bahia **Genet Mol Biol** 29. 1. 23-30. 2006.
- BATISTA-DOS-SANTOS, S.E.; RODRIGUES, J.D.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A.K.; ZAGO, M.A. Differential contribution of indigenous men and women to the formation of an urban population in the Amazon region as revealed by mtDNA and Y-DNA. **Am J Phys Anthropol** 109(2):175-80.1999.

- BATZER, M.A.; STONEKING, M.; ALEGRIA-HARTMAN, M.; BAZAN, H.; KASS, D.H.; SHAIKH, T.H.; NOVICK, G.E.; IOANNOU, P.A.; SCHEER, W.D.; HERRERA, R.J. African origin of human-specific polymorphic alu insertions. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 6;91(25):12288-92. 1994.
- BEIGUELMAN, B. **Dinâmica dos Genes Nas Famílias e Nas Populações**. 2. ed. Ribeirão Preto: Editora da Sociedade Brasileira de Genética. 472 p. 1996.
- BISSO-MACHADO R, JOTA MS, RAMALLO V, PAIXÃO-CÔRTEZ VR, LACERDA DR, SALZANO FM, BONATTO SL, SANTOS FR, BORTOLINI MC. Distribution of Y-chromosome Q lineages in native americans. **Am J Hum Biol**. Jul-Aug;23(4):563-6. 2011.
- BITNER-GLINDZICZ, M. Hereditary deafness and phenotyping in humans. **Br Med Bulln**; 63: 73-94, 2002.
- BITTLES, A. H.; GRANT, J. C.; SHAMI, S. A. An evaluation of consanguinity as a determinant of reproductive behavior and mortality in Pakistan. **Int J Epidemiol**. 22, 463–467.1993.
- BITTLES, A.H. Consanguinity and its relevance to clinical genetics. **Clin Genet**. 60, 89–98. 2001.
- BITTLES, A.H.; BLACK, M.L. Consanguinity, human evolution and complex diseases. **Proc Natl Acad Sci USA**. 107:1779–86. 2010.
- BONATTO, S.L.; SALZANO, F.M. Diversity and age of the four major mtDNA haplogroups, and their implications for the peopling of the New World. **Am JHum Genet** 61(6):1413-23.1997a.
- BONATTO, S.L.; SALZANO. F.M. A single and early migration for the peopling of the Americas supported by mitochondrial DNA sequence data. **Proc Natl AcadSci U S A** 94(5):1866-71.1997b.
- BORGES-OSÓRIO, MR; ROBINSON, WM. **Genética Humana**. 2ª edição. Editora Artmed. 460p. 2001.
- BORS, A.; ANDRIKOVICS, H.; KALMA´R, L. et al. Frequencies of two common mutations (c.35delG and c.167delT) of the connexin 26 gene in different populations of Hungary. **Int J Mol Med** 14:1105–1108. 2004.
- BORTOLINI, M.C.; SILVA-JUNIOR, A.W.; WEIMER, T.A.; ZAGO, M.A.; CASTRO-DE-GUERRA; SCHNEIDER, M.P.; LAYRISSE, Z.; MENDEZ-CASTELLANO, H.; SALZANO, F.M.H. Protein and hypervariable tandem repeat diversity in eight African-derived South American populations. Inferred relationships do not coincide. **Hum Biol**. v. 70. n. 3. p. 443-461. 1998.

- BORTOLINI, M.C.; SALZANO, F.M.; BAU, C.H.; LAYRISSE, Z.; PETZL-ERLER, M.L.; TSUNETO, L.T.; HILL, K.; HURTADO, A.M.; CASTRO-DE-GUERRA, D.; BEDOYA, G.; RUIZ-LINARES, A. Y-chromosome biallelic polymorphisms and Native American population structure. **Ann Hum Genet.** Jul;66(Pt 4):255-9. 2002.
- BORTOLINI, M.C.; DA SILVA, W.A. JR; ZAGO, M.A.; ELION, J.; KRISHNAMOORTHY, R.; GONCALVES, V.F.; PENA, S.D. The phylogeography of mitochondrial dna haplogroup I3g in africa and the atlantic slave trade. **Am J Hum Genet.** SEP;75(3):522-4. 2004.
- BOWCOCK, A.M.; RUIZ-LINARES, A.; TOMFOHRDE, J.; MINCH, E.; KIDD, J.R.; CAVALLI-SFORZA, L.L. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. **Nature** 368(6470):455-7. 1994.
- BRAUN, A.; BICHLMAIER, R.; CLEVE, H. Molecular analysis of the gene for the human vitamin-D-binding protein (group-specific component): allelic differences of the common genetic GC types. **Hum Genet**, 89: 401-406, 1992.
- CALLEGARI-JACQUES, S.M. and SALZANO, FM. Brazilian Indian/non-Indian interactions and their effects. **Ciênc Cult** 51:166-174. 1999.
- CAMARGO, E.C.S.; MASSARO, A.R.; BACHESCHI, L.A.; D'AMICO, E.A.; VILLAÇA, P.R.; BASSITT, R.P.; GUALANDRO, S.F.; BENDIT, I.; SCAFF, M. Ethnic Differences in Cerebral Venous Thrombosis. **Cerebrovasc. Dis.**, v. 19, n. 3, p. 147-151, 2005.
- CARVALHO-SILVA, D.R.; SANTOS, F.R.; ROCHA, J.; PENA, S.D. The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. **Am J Hum Genet.** 68:281–286. 2001.
- CARVALHO T. Resultados Do Levantamento Epidemiológico Da Sociedade Brasileira De Triagem Neonatal (SBTN). **Rev Med Minas Gerais.** [ABSTRACT]. 13(2 SUPPL):S 109-35. 2003.
- CAVALLI-SFORZA, L.L.; BODMER, W.F. **The genetics of human populations.** W.H. Freeman and Company. 1971.
- CHAKRABORTY, R. Gene identity in racial hybrids and estimation of admixture rates. In Ahuja YR, Neel JV, editors. Genetic differentiation in human and others animal populations. **Ind Anthropol Assoc** 171-180. 1985.
- COON, C.S. **The living races of man.** Alfred A. Knopf. New York.1965.
- CORDEIRO-SILVA, M.F.; BARBOSA, A.; SANTIAGO, M.; PROVETTI, M.; DETTOGNI, R.S.; TOVAR, T.T; RABBI-BORTOLINI, E.; LOURO, I. D. Mutation analysis of GJB2 and GJB6 genes in Southeastern Brazilians with hereditary nonsyndromic deafness. **Mol Biol Rep.** 38:1309–1313. 2011.
- COSTA-MOTTA, F.M.; ACOSTA, A.X.; ABÉ-SANDES, K.; BENDER, F.; SCHWARTZ, I.V.D.; GIUGLIANI, R.; LEISTNER-SEGAL, S. Genetic Studies in a Cluster of

Mucopolysaccharidosis Type VI Patients In Northeast Brazil. **Mol Genet Metabol.** v. 104, p. 603-607. 2011.

COTRIM, N.H. **Variabilidade genética das inserções de Alu em remanescentes de Quilombos.** 2003. Dissertação de mestrado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Ribeirão Preto. SP.

CURTIN, P.D. **The Atlantic slave trade: a census.** University of Wisconsin Press, Madison. 1969.

DAWSON, D.M.; EPPENBERGER, H.M.; EPPENBERGER, M.E. Multiple molecular forms of creatine kinases. **Ann N Y Acad Sci** 151: 616-626, 1968.

DAWODU, A.; ABDULRAZZAQ, Y. M.; BENER, A.; KAPPEL, I.; LIDDLE, L.; VARGHESE, M. Biologic risk factors for low birth weight in Al Ain, United Arab Emirates. **Am J Hum Biol.** 8, 341–345.1996.

DE FELICE, M.; DI LAURO, R. Thyroid Development and Its Disorders: Genetics and Molecular Mechanisms. **Endoc Reviews.** 25: 722-746. 2004.

DEL CASTILLO, I.; VILLAMAR, M.; MORENO-PELAYO, M.A.; DEL CASTILLO, F.J.; ALVAREZ, A.; TELLERIA, D.; MENENDEZ, I.; MORENO, F. A deletion involving the connexin 30 gene in nonsyndromic hearing impairment. **N Engl J Med,** 346: 243-249, 2002.

DESVIAT, LR; PÉREZ, B; BÈLANGER-QUINTANA, A; CASTRO, M; AGUADO, C; SÁNCHEZ, A *et al.* Tetrahydrobiopterin responsiveness: results of the BH4 loading test in 31 Spanish PKU patients and correlation with their genotype. **Mol Genet Metabol.** 83 157-162. 1999.

DONAHUE, R.P.; BIAS, W.B.; RENWICK, J.H.; MCKUSICK, V.A. Probable assignment of the Duffy blood group locus to chromosome 1 in man. **Proc Nat Acad Sci.** 61: 949-955. 1968.

DOWNS, M.P. Universal newborn hearing screening—the Colorado story. **Int J Pediatr Otorhinolaryngol** 32:257–259. 1995.

DUPREZ, L.; PARMA, J.; VAN-SANDE, J.; RODIEN, P.; DUMONT, J.E.; VASSART, G.; ABRAMOWICZ, M. TSH Receptor Mutations and Thyroid Disease. **Elsevier.** 9: 133-140. 1998.

ESTIVILL, X.; FORTINA, P.; SURREY, S.; RABIONET, R.; MELCHIONDA, S.; D'AGRUMA, L. *et al.* Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. **Lancet.** 351:394–398.1998.

FELIX, G.E.S.; ABE-SANDES, K.; BONFIM, T.M.B; BENDICHO, M.T.; CISNEIROS, P.; GUEDES, R.; BRANDÃO, C. J.F.; TORRES, A. J. L.; BRITES, C.; NETTO, E.M.; MEYER, R.; FREIRE, S.M. Ancestry informative markers and complete blood count

parameters in Brazilian blood donors. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** 32(4):282-285. 2010.

FREIRE-MAIA, N. Coefficient of inbreeding in some Brazilian populations. **Atti IX Cong. Intern. Genet. Suppl.** 923-924. 1954.

FREIRE-MAIA, N. Inbreeding in Brazil. **Am. J. Hum. Genet.** 9:284-298. 1957.

FREIRE-MAIA, N. **Genética de populações humanas.** Universidade de São Paulo. São Paulo. 215p. 1974.

FORSTER, P.; HARDING, R.; TORRONI, A.; BANDELT, H.J. Origin and evolution of Native American mtDNA variation: a reappraisal. **Am J Hum Genet** 59(4):935-45.1996.

GASPARINI, P.; RABIONET, R.; BARBUJANI, G.; MELCHIONDA, S.; PETERSEN, M.; BRØNDUM-NIELSEN, K.; METSPALU, A.; OITMAA, E.; PISANO, M.; FORTINA, P.; ZELANTE, L.; ESTIVILL, X.; The genetic analysis consortium of gjb2 35delg. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. **Eur J Hum Genet.** 8, 19–23, 2000.

GE, D.; FELLAY, J.; THOMPSON, A.J. *et al.* Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. **Nature** 461:399-401. 2009.

GILES, R.E.; BLANC, H.; CANN, H.M.; WALLACE, D.C. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 77: 6715-6719. 1980.

GIOLO, S.R.; SOLER, J.M.; GREENWAY, S.C.; ALMEIDA, M.A.; DE ANDRADE, M.; SEIDMAN, J.G.; SEIDMAN, C.E.; KRIEGER, J.E.; PEREIRA, A.C. Brazilian urban population genetic structure reveals a high degree of admixture. **Eur J Hum Genet.** Jan;20(1):111-6. doi: 10.1038/ejhg.2011.144. 2012.

GREENBERG, J.H.; TURNER, C.G.; ZEGURA, S. The settlement of the American a comparison of the linguistic, dental and genetic evidence. **Curr Anthropol** 27:477-497. 1986.

GRIFA, A.; WAGNER, C.A.; D'AMBROSIO, L.; MELCHIONDA, S.; BERNARDI, F.; LOPEZ-BIGAS, N.; RABIONET, R.; ARBONES, M.; MONICA, M. D.; ESTIVILL, X.; ZELANTE, L.; LANG, F.; GASPARINI, P. Mutations in GJB6 cause nonsyndromic autosomal dominant deafness at DFNA3 locus. **Nature Genet.** 23: 16-18, 1999.

GUERREIRO-JUNIOR, V.; BISSO-MACHADO, R.; MARRERO, A.; HÜNEMEIER, T.; SALZANO, F.M.; BORTOLINI, M.C. Genetic signatures of parental contribution in black and white populations in Brazil. **Genet Mol Biol.** Jan;32(1):1-11. 2009.

HABER, M.; YOUHANNA, S.C.; BALANOVSKY, O.; SAADE, S.; MARTÍNEZ-CRUZ, B.; GHASSIBE-SABBAGH, M.; SHASHA, N.; OSMAN, R.; EL BAYEH, H.; KOSHEL, S.; ZAPOROZHCHENKO, V.; BALANOVSKA, E.; SORIA-HERNANZ, D.F.; PLATT, D.E.;

ZALLOUA, P.A. mtDNA Lineages Reveal Coronary Artery Disease-Associated Structures in the Lebanese Population. **Ann Hum Genet.** Oct 20. 2011.

HADLEY, T.J.; DAVID, P.H.; MCGINNISS, M.H.; MILLER, L.H. Identification of an erythrocyte component carrying the Duffy blood group Fy-a antigen. **Science.** 223: 597-599. 1984.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucl. Acids. Symp. Ser.** 41:95-98, 1999.

HARRIS, H.; HOPKINSON, D.A. Average heterozygosity per locus in man: an estimate based on the incidence of enzyme polymorphisms. **Ann Hum Genet** 36:9-20. 1972.

HORAI, S.; KONDO, R.; NAKAGAWA-HATORRI, Y.; HAYASHI, S.; SONODA, S.; TAJIMA, K. Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. **Mol Biol Evol.** 10 (1):23-47. 1993.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA - IBGE. **Brasil: 500 Anos de Povoamento.** Rio de Janeiro. 2000. Disponível em: < www.ibge.gov.br>.

JOBLING, M.A.; TYLER-SMITH, C. Fathers and sons: the Y chromosome and human evolution. **Trends Genet.** 11(11): 449-56. 1995.

JUSTO, W.R.; FERREIRA, R.A.; LIMA, C.F.; MARTINS, G.N. Migração intermunicipal no Brasil: a dinâmica dos fluxos migratórios municipais. **Rev Econ Desenvol.** 21:108-129. 2009.

KARAGEORGOS, L.; BROOKS, D.A.; POLLARD, A. et al., Mutational analysis of 105 mucopolysaccharidosis type VI patients. **Hum Mutations.** 28. 897–903. 2007.

KARAFET, T.M.; ZEGURA, S.L.; POSUKH, O.; OSIPOVA, L.; BERGEN, A.; LONG, J.; GOLDMAN, D.; KLITZ, W.; HARIHARA, S.; DE KNIJFF, P.; WIEBE, V.; GRIFFITHS, R.C.; TEMPLETON, A.R.; HAMMER, M.F. Ancestral Asian source(s) of new world Y-chromosome founder haplotypes. **Am J Hum Genet** 64(3):817-31.1999.

KARAFET, T. M.; MENDEZ, F. L; MEILERMAN, M. B; UNDERHILL, P. A; ZEGURA, S. L.; HAMMER, M. F. New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y chromosomal haplogroup tree. **Genome Res.** 18: 830-838. 2008.

KARATHANASIS, S,K.; ZANNIS, V.I.; BRESLOW, J.L. Characterization of the apolipoprotein A-I-C-III gene complex. **Methods Enzymol.**128:712-26. 1986.

KELSELL, D.P.; DUNLOP, J.; STEVENS, H.P.; LENCH, N.J.; LIANG, J.N.; PARRY, G.; MUELLER, R.F.; LEIGH, I.M. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. **Nature,** 387: 80-3, 1997.

KENNESON, A.; VAN NAARDEN, B.K.; BOYLE, C. GJB2 (Connexin26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: a HuGE review. **Genet Med**, 4: 258-74, 2002.

KERKENI, E.; MONASTIRI, K.; SAKET, B.; GUEDICHE, M. N.; BEN CHEIKH, H. Interplay of socio-economic factors, consanguinity, fertility, and offspring mortality in Monastir, Tunisia. **Croatian Med J.** 48, 701–707. 2007.

KHLAT, M.; KHOURY, M. Inbreeding and diseases: demographic, genetic, and epidemiologic perspectives. **Epidemiol Rev.** 13(1):28–41. 1991.

KITTLES, R.A.; CHEN, W.; PANGULURI, R.K.; AHAGHOTU, C.; JACKSON, A.; ADEBAMOWO, C.A.; GRIFFIN, R.; WILLIAMS, T.; UKOLI, F.; ADAMS-CAMPBELL, L.; KWAGYAN, J.; ISAACS, W.; FREEMAN, V.; DUNSTON, G.M. CYP3A4V and prostate cancer in African Americans: causal or confounding association because of population stratification? **Hum Genet.** 110:553-560. 2002.

LAFRANCHI, S. Congenital hypothyroidism: etiologies, diagnosis and management. **Thyroid.** 9: 735 – 740. 1999.

LEÃO LL, AGUIAR MJB. Triagem neonatal: o que os pediatras deveriam saber. **J Pediatr.** 84:S80-S90. 2008.

LIU, Y.; SAHA, N.; LOW, P.S.; TAY, J.S. Linkage disequilibrium between two loci (5' untranslated exon 1 and intron 5-Ddel) of the antithrombin III gene in three ethnic groups in Singapore. **Hum Hered.**45(4):192-8. Jul-Aug 1995.

LOPES- MACIEL, L.G.; RIBEIRO-RODRIGUES, E.M.; CARNEIRO-DOS-SANTOS, N.P.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, Â.; GUERREIRO, J.F.; SANTOS, S. Afro-derived Amazonian populations: inferring continental ancestry and population substructure. **Hum Biol.** Oct;83(5):627-36. 2011.

LUIZON, MR; MENDES-JUNIOR, CT; OLIVEIRA, SF; SIMÕES, AL. Ancestry Informative Markers in Amerindians from Brazilian Amazon. **Am J Hum Biol** 20:86–90. 2008.

MABE P, VALIENTE A, SOTO V, CORNEJO V, RAIMANN E. Evaluation of reliability for urine mucopolysaccharidosis screening by dimethylmethylene blue and Berry spot tests. **Clin Chim Acta.** Jul;345(1-2):135-40. 2004.

MACCHIA PE, LAPI P, KRUDE H, PIRRO MT, MISSERO C, CHIOVATO L, SOUABNI A, BASERGA M, TASSI V, PINCHERA A, FENZI G, GRÜTERS A, BUSSLINGER M, DI LAURO R. PAX8 mutations associated with congenital hypothyroidism caused by thyroid dysgenesis. **Nat Genet.** May;19(1):83-6. 1998.

MACEDO-SOUZA, M.I.; KOK, F.; SANTOS, S.; AMORIN, S.C.; STARLING, A.; NISHIMURA, A.; LEZIROVITZ, K.; LINO, A.M.M.; ZATZ, M. Spastic Paraplegia, Optic Atrophy and Neuropathy (SPOAN Syndrome) is linked to chromosome 11q13. **Ann Neurol.** 57:730-737. 2005.

- MACEDO-SOUZA, M.I.; KOK, F.; SANTOS, S.; LICINIO, L.; LEZIROVITZ, K.; CAVAÇANA, N.; BUENO, C.; AMORIN, S.; PESSOA, A.; GRACIANI, Z. *et al.* Spastic Paraplegia, Optic Atrophy and Neuropathy: New observations, locus refinement, and exclusion of candidate genes. **Ann Hum Genet.** 73:382-387. 2009.
- MAHDIEH, N.; RABBANI, B. Statistical study of 35delG mutation of GJB2 gene: a meta-analysis of carrier frequency. **Int J Audiol.** 48(6):363-70. 2009.
- MAHDI B, MAHESH PA, MYSORE RS, KUMAR P, JAYARAJ BS, RAMACHANDRA NB. Inheritance patterns, consanguinity & risk for asthma. **Indian J Med Res.** JUL;132:48-55. 2010.
- MANZOLI, G. N. **Bases Genéticas da Surdez Hereditária Não-Sindrômica em Salvador e em Monte Santo-Bahia.** 2010. Dissertação. Fundação Oswaldo Cruz.
- MARRERO AR, SILVA-JUNIOR WA, BRAVI CM, HUTZ MH, PETZL-ERLER ML, RUIZ-LINARES A, SALZANO FM, BORTOLINI MC. Demographic and evolutionary trajectories of the guarani and kaingang natives of brazil. **Am J Phys Anthropol.** Feb;132(2):301-10.2007.
- MARRERO, A.R.; BRAVI, C.; STUART, S.; LONG, J.C.; PEREIRA DAS NEVES LEITE, F.; KOMMERS, T.; CARVALHO, C.M.; PENA, S.D.; RUIZ-LINARES, A.; SALZANO, F.M.; BORTOLINI, C.M. Pre- And Post-Columbian gene and cultural continuity: The case of the Gaucho from southern Brazil. **Hum Hered.** 64(3):160-71. 2007.
- MEHL, A.L.; THOMSON, V. Newborn hearing screening: the great omission. **Pediatrics** 101:E4.23. 1998
- MEHL, A.L.; THOMSON, V. The Colorado newborn hearing screening project, 1992–1999: on the threshold of effective population-based universal newborn hearing screening. **Pediatrics** 109:E7.2002.
- MENDES-JUNIOR, CT; SIMÕES, AL. Mitochondrial DNA variability among eight tikuna villages: evidence for an intratribal genetic heterogeneity pattern. **Am J Phys Anthropol.** 140:526–531. 2009.
- MERRIWETHER, D.A.; ROTHHAMMER, F.; FERRELL, R.E. Distribution of the four founding lineage haplotypes in Native Americans suggests a single wave of migration for the New World. **Am J Phys Anthropol** 98(4):411-30.1995.
- MONTEIRO, J.M. As “Raças” Indígenas no Pensamento Brasileiro do Império. In: MAIO, MC & SANTOS, RV (orgs.), **Raça Ciência e Sociedade.** Rio de Janeiro, FIOCRUZ/CCBB, p.15-21. 1996.
- MORTON, N.E. Genetic epidemiology of hearing impairment. **Ann NY Acad Sci.**630:16-31. 1991.

- NAFISSI, S.; ANSARI-LARI, M.; SAADAT, M. Parental consanguineous marriages and age at onset of schizophrenia. **Schizophr Res.** Mar;126(1-3):298-9. 2011.
- NELSON J, CROWHURST J, CAREY B, GREED L. Incidence of the mucopolysaccharidoses in Western Australia. **Am J Med Genet A.**123:310-3. 2003
- NEUFELD, E.F.; MUENZER, J. The mucopolysaccharidosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. (eds.). **The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease**, 8th ed. McGraw-Hill, New York, pp. 3421-3452. 2001.
- NEVES, W.A.; MUNFORD, D.; ZANINI, M.C. Cranial morphological variation and the colonisation of the New World: Towards a for migration model. **Am J Phys Antrrop** Suppl 22, 176. 1996.
- NGUYEN GC, THULUVATH PJ. Racial disparity in liver disease: Biological, cultural, or socioeconomic factors. **Hepatology.** Mar;47(3):1058-66. 2008.
- NUNES AC, SILVA DA, TEIXEIRA MA, NUNES DD, LOPES CM, NETTO OR, GUSMÃO L, CARVALHO EF, MOURA MM. Y chromosome comparative analysis of rondônia with other brazilian populations. **Leg Med (Tokyo).** May;13(3):161-3. 2011.
- OBER, C.; HYSLOP, T.; HAUCK, W. W. Inbreeding effects on fertility in humans: evidence for reproductive compensation. **Am J Hum Genet.** 64, 225–231. 1999.
- OLIVEIRA, S.F.; PEDROSA, M.A.F.; SOUSA, S.M.B.; MINGRONI-NETTO, R.C.; ABÉ-SANDES, K.; FERRARI, Í.; BARBOSA, A.A.L.; AURICCHIO, M.T.B.M.; KLAUTAU-GUIMARÃES, M.N. Heterogeneous distribution of HbS and HbC alleles in Afro-derived Brazilian populations. **Int J Hum Genet** v.2, p.153 – 160. 2001.
- OLIVEIRA, C.A; ALEXANDRINO, F.; ABE-SANDES, K.; SILVA JR, W.A.; MACIELGUERRA, A.T.; MAGNA, L.A.; SARTORATO, E.L. Frequency of the 35delG Mutation in the GJB2 Gene in Samples of European, Asian, and African Brazilians. **Hum Biol.** Apr 2004.
- OLIVEIRA, C.A; ALEXANDRINO, F.; VITACHI CHRISTIANI THALITA, V. C.; CARLOS, E. S.; LUIZ, R. C. J.; MACIELGUERRA, A.T.; SARTORATO, E.L.. Molecular Genetics Study of Deafness in Brazil: 8-Year Experience. **Am J Med Genet Part A**, Volume 143A Issue 14, Pages 1574 – 1579, 2007.
- OLIVEIRA, T. L. **Caracterização clínica e molecular de pacientes com hipotireoidismo congênito em Monte Santo-BA.** 2010. Dissertação. Fundação Oswaldo Cruz.
- PARRA, E.J.; MARCINI, A.; AKEY, J.; MARTINSON, J.; BATZER, M.A.; COOPER, R.; FORRESTER, T.; ALLISON, D.B.; DEKA, R.; FERRELL, R.E.; SHRIVER, M.D. Estimating African American admixture proportions by use of population-specific alleles. **Am J Hum Genet.** Dec;63(6):1839-51. 1998.

- PARRA, E.J.; KITTLES, R.A.; ARGYROPOULOS, G.; PFAFF, C.L.; HIESTER, K.; BONILLA, C.; SYLVESTER, N.; PARRISH-GAUSE, D.; GARVEY, W.T.; JIN, L., MCKEIGUE, P.M.; KAMBOH, M.I.; FERRELL, R.E.; POLLITZER, W.S.; SHRIVER, M.D. Ancestral proportions and admixture dynamics in geographically defined African Americans living in South Carolina. **Am J Phys Anthropol** 114(1):18-29. 2001.
- PAULA, L.M.; MELO, N.S.; SILVA-GUERRA, E.N.; MESTRINHO, D.H.; ACEVEDO, A. C. Case report of a rare syndrome associating amelogenesis imperfecta and nephrocalcinosis in a consanguineous family. **Arch Oral Biol**. Feb;50(2):237-42. 2005.
- PASCHOALIN EL, MARTINS ACP, PASTORELLO M, SÂNDIS KA, MACIEL LMZ, SILVA JR WA, ZAGO MA, BESSA J JR. Racial influence on the prevalence of Prostate Carcinoma in Brazilian volunteers. **International Braz J Urol** . 29(4): 300-305. 2003.
- PENA, S.D.J. Razões para banir o conceito de raça da medicina brasileira. **História, Ciências, Saúde** – Manguinhos. v.12, n.1, p.321-46. 2005.
- PIATTO, V.B.; MANIGLIA, J.V. et al. Importância do Gene Conexina 26 na etiologia da deficiência auditiva sensorioneural não-sindrômica. **Acta Awho** 20(2):106–112. 2001.
- PIATTO, V.B.; OLIVEIRA, C.A.; ALEXANDRINO, F.; PIMPINATI, C.J.; SARTORATO, E.L. Perspectivas para triagem da deficiência auditiva genética: rastreamento da mutação 35delG em neonatos. **J Pediatria** - Vol. 81, Nº2, 2005.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics** 155:945-959. 2000.
- RABIONET, R.; GASPARINI, P.; ESTIVILL, X. Molecular genetics of hearing impairment due to mutations in gap junction genes encoding beta connexins. **Hum Mutat**. 16(3):190-202. 2000.
- RAFIEE, L.; SAADAT, M. Prevalence of consanguineous marriages among Iranian Georgians. **J. Biosoc. Sci.** 43, 47–50. 2010.
- RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **J Hered** 86:248-249. 1995.
- RAMOS, J.S.; Dos Males que Vêm com o Sangue: as Representações Raciais e a Categoria do Imigrante Indesejável nas Concepções sobre Imigração da Década de 20. In: MAIO, M.C. & SANTOS, R.V. (orgs.), **Raça Ciência e Sociedade** Rio de Janeiro, FIOCRUZ/CCBB. p. 59-82. 1996.
- REGO, FF; ALCANTARA, LC; MOURA NETO, JP; MIRANDA, AC; PEREIRA, OS; GONÇALVES, MS; GALVÃO-CASTRO, B. HTLV type 1 molecular study in Brazilian villages with African characteristics giving support to the post-Columbian introduction hypothesis. **AIDS Res Hum Retroviruses**. May;24(5):673-7. 2008.

- RIBEIRO, D. **O povo brasileiro: a formação e o sentido do Brasil**. São paulo: Companhia das Letras. 1995.
- RIBEIRO, E.M.; SILVA, G.B.; MOREIRA, P.L.M.; KARREL, A.; ALBUQUERQUE, A.K.S.; SILVA, A.A. Triagem neonatal no Hospital César Cals. **Rev Ped Ceará**. 3: 27-29. 2002.
- RIVERA, I; LEANDRO, P; LICHTER-KONECKI, U; TAVARES DE ALMEIDA, I; LECHNER, MC. Population genetics of hyperphenylalaninaemia resulting from phenylalanine hydroxylase deficiency in Portugal. **J. Med Genet**. 35:301-304,1998.
- ROTIMI, C. N. and JORDE, L. B. Ancestry and Disease in the Age of Genomic Medicine. **N Engl J Méd**. 363:1551-8. 2010.
- SAADAT, M. Epidemiology and mortality of hospitalized burn patients in Kohkiluyeh va Boyer-Ahmad province (Iran): 2002–2004. **Burns**. 31, 306–309. 2005.
- SAADAT, M.; ZENDEH-BOODI, Z. Correlation between incidences of self-inflicted burns and means of inbreeding coefficients, an ecological study. **Ann Epidemiol**. 16, 708–711. 2006.
- SAADAT, M. Consanguineous marriages in Iranian folktales. **Community Genet**. 10, 37–40. 2007.
- SAADAT, M. Consanguinity and national IQ. **J Epidemiol Community Health**. 62, 566–567. 2008a.
- SAADAT, M. Is consanguineous marriage historically encouraged? **J Biosoc Sci**. 40, 153–154. 2008b.
- SALZANO, F.M.; FREIRE-MAIA, N.F. **Problems in human biology: a study of Brazilian populations**. Detroit, Wayne State University Press. 1970.
- SÁNCHEZ-FERRERO, E; COTO, E; CORAO, AI; DÍAZ, M; GÁMEZ, J; ESTEBAN, J; GONZALO, JF; PASCUAL-PASCUAL, SI; DE MUNAÍN, AL; MORÍS, G; INFANTE, J; DEL CASTILLO, E; MÁRQUEZ, C; ALVAREZ, V. Mitochondrial DNA polymorphisms/haplogroups in hereditary spastic paraplegia. **J Neurol**. Jul 2. 2011.
- SANDFORD, A.J.; WEIR, T.D.; PARÉ, P.D. Genetic risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. **Eur Respir J** 10(6):1380-91. Jun 1997.
- SANTOS, F.R.; CARVALHO-SILVA, D.R.; PENA, S.D.J. PCR-based DNA profiling of human Y chromosomes. In: Epplen JT, Lubjuhn T (eds) DNA profiling and DNA fingerprinting. **Birkhäuser Verlag AG, Basel**, pp. 133 152.1999.
- SARTORATO, E.L.; GOTTARDI, E.; OLIVEIRA, C.A.; MAGNA, L.A.; ANNICHINO-BIZZACCHI, J.M.; SEIXAS, C.A. *et al*. Determination of the frequency of the 35delG allele in Brazilian neonates. **Clin Genet**. 58:339-40, 2000.

SCHLESINGER, D.; GRINBERG, L.T.; ALBA, J.G.; NASLAVSKY, M.S.; LICINIO, L.; FARFEL, J.M.; SUEMOTO, C.K.; DE LUCENA FERRETTI, R.E.; LEITE, R.E.; DE ANDRADE, M.P.; DOS SANTOS, A.C.; BRENTANI, H.; PASQUALUCCI, C.A.; NITRINI, R.; JACOB-FILHO, W.; ZATZ, M. African ancestry protects against Alzheimer's disease-related neuropathology. **Mol Psychiatry**. Nov 8. 2011.

SCRIVER, CR, KAUFMAN, S. Hyperphenylalaninemia: phenylalanine hydroxylase deficiency. In: Scriver CR, Beaudet A, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B, editors. **The metabolic and molecular bases of inherited disease**. New York: McGraw-Hill. pp 1667–1724, 2001.

SEYFERTH, G. Construindo a Nação: Hierarquias Raciais e o Papel do Racismo na Política de Imigração e Colonização. In: MAIO, M.C. & SANTOS, R.V. (orgs.), **Raça Ciência e Sociedade**. Rio de Janeiro, FIOCRUZ/CCBB. p. 41-58. 1996.

SHRIVER, M.D.; SMITH, M.W.; JIN, L.; MARCINI, A.; AKEY, J.M.; DEKA, R.; FERRELL, R.E. Ethnic-affiliation estimation by use of population-specific DNA markers. **Am J Hum Genet** 60(4):957-64. 1997.

SHRIVER, M.D.; PARRA, E.J.; DIOS S.; BONILLA, C.; NORTON, H.; JOVEL, C.; PFAFF, C.; JONES, C.; MASSAC, A.; CAMERON, N.; BARON, A.; JACKSON, T.; ARGYROPOULOS, G.; J.I.N, L.; HOGGART, C.J.; MCKEIGUE, P.M.; KITTLES, R.A. Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. **Hum Genets**. 112(4):387-99. 2003.

SHUSTER, R.C.; RUBENSTEIN, A.J.; WALLACE, D.C. Mitochondrial DNA in anucleate human blood cells. **Biochem Biophys Res Commun**. 30. 155(3): 1360-5. 1988.

SILVA, L.O.; DIAS, V.M.A.; SILVA, I.N.; CHAGAS, A.J. Hipotireoidismo Congênito Transitório: Perfil das Crianças Identificadas no Programa Estadual de Triagem Neonatal de Minas Gerais, Brasil. **Arq Bras Endoc Metaból**. 49: 521-528. 2005.

SILVA, W.A. JR.; BONATTO, S.L.; HOLANDA, A.J.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A.K.; PAIXAO, B.M.; GOLDMAN, G.H.; ABE-SANDES, K.; RODRIGUEZ-DELFIN L; BARBOSA, M.; PACO-LARSON, M.L.; PETZL-ERLER, M.L.; VALENTE, V.; SANTOS, S.E.; ZAGO, M.A. Mitochondrial genome diversity of native americans supports a single early entry of founder populations into America. **Am J Hum Genet** 71(1):187-92. 2002. Comment in: *Am J Hum Genet* 72(5):1341-6. May 2003.

SILVA, W.A.; BORTOLINI, M.C.; SCHNEIDER, M.P.; MARRERO, A.; ELION, J.; KRISHNAMOORTHY, R.; ZAGO, M.A. MtDNA haplogroup analysis of black Brazilian and sub-Saharan populations: implications for the Atlantic slave trade. **Hum Biol**. Feb;78(1):29-41. 2006.

SKVORAK G. A. B.; MORTON C. C. Genetic causes of nonsyndromic hearing loss. **Curr Opin Pediatr**, 11:5551-557, 1999.

STEPANOV, V.A.; LEMZA, S.V. PvuII restriction fragment length polymorphism of lipoprotein lipase in Russians. **Hum Hered** 43(6):388-90. Nov-Dec 1993.

STOLTENBERG, C.; MAGNUS, P.; SKRONDAL, A.; LIE, R.T. Consanguinity and recurrence risk of stillbirth and infant death. **Am J Public Health**. 89, 517–523. 1999.

STONE, A.C.; STONEKING, M. mtDNA analysis of a prehistoric Oneota population: implications for the peopling of the New World. **Am J Hum Genet** 62(5):1153-70.1998.

SOUSA, S.M.B. **Estrutura genética de uma comunidade Afro-brasileira, São Gonçalo (BA)**. 2001. 125f. Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Genética.) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

SOUZA, I.R.; CULPI, L Valongo, an isolated Brazilian black community. I. Structure of the population. **Braz J Genet** 15:439-447. 1992.

TADMOURI, G.O.; NAIR, P.; OBEID, T.; AL ALI, M.T.; AL KHAJA, N.; HAMAMY, H.A. Consanguinity and reproductive health among Arabs. **Reprod Health**. 6, 17. 2009.

THOMAS, A.J.; EBERLY, L.E.; SMITH, G.D.; NEATON, J.D.; STAMLER, J. Race/Ethnicity, Income, Major Risk Factors, and Cardiovascular Disease Mortality. **Am. J. Public. Health**, v.95, n. 8, p. 1417-1423, 2005.

TORRONI, A.; SCHURR, T.G.; CABELL, M.F.; BROWN, M.D.; NEEL, J.V.; LARSEN, M.; SMITH, D.G.; VULLO, C.M.; WALLACE, D.C. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. **Am J Hum Genet** 53(3):563-90. 1993.

TOURNAMILLE, C.; COLIN, Y.; CARTRON, J.P.; LE VAN KIM, C. Disruption of a GATA motif in the Duffy gene promoter abolishes erythroid gene expression in Duffy negative individuals. **Nature Genet**. 10: 224-228. 1995.

TUNCBILEK, E.; KOC, I. Consanguineous marriage in Turkey and its impact on fertility and mortality. **Ann Hum Genet**. 58, 321–329. 1994.

UNDERHILL, P.A.; JIN, L.; ZEMANS, R.; OEFNER, P.J.; CAVALLI-SFORZA, L.L. A pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history. **Proc Natl Acad Sci USA** 93(1):196-200.1996.

VALAYANNOPOULOS, V.; NICELY, H.; HARMATZ, P.; TURBEVILLE, S. Mucopolysaccharidosis VI. **Orphanet J. Rare Dis**. 5. 2010.

VAN LAER, L.; CRYNS, K.; SMITH, R. J.; VAN CAMP, G. Nonsyndromic hearing loss. **Ear Hear**, 24: 275-88, 2003.

VERGER P. **Fluxo e refluxo do tráfico de escravos entre o golfo do Benin e a Bahia de Todos os Santos do século XVIII a XIX**. 3ª Ed. São Paulo: Editora Corrupio; 1987.

VIANA FILHO L. **O negro na Bahia**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira.1988.

VILARINHO L, QUEIROS A, LEANDRO P, ALMEIDA IT, RIVEIRA I. Fenilcetonúria revisitada. **Arq Med** [online] [serial on the Internet] 20(5-6) 2006. Available from: 48 http://www.scielo.oces.mctes.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-34132006000400003&lng=pt&nrm=iso.

WATANABE, AM; PIANOVSKI, MA; ZANIS NETO, J; LICHTVAN, LC; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, EA; DOMINGOS, MT; WITTIG, EO. Prevalence of hemoglobin S in the State of Paraná, Brazil, based on neonatal screening. **Cad Saude Publica**. May;24(5) : 993-1000. 2008.

WATKINS, W.S.; RICKER, C.E.; BAMSHAD, M.J.; CARROLL, M.L.; NGUYEN, S.V.; BATZER, M.A.; HARPENDING, H.C.; ROGERS, A.R.; JORDE, L.B. Patterns of ancestral human diversity: an analysis of Alu-insertion and restriction-site polymorphisms. **Am J Hum Genet** 68(3):738-52. Mar 2001.

WILCOX, S.A.; SAUNDERS, K.; OSBORN, A.H.; ARNOLD, A.; WUNDERLICH, J.; KELLY, T. et al. High frequency hearing loss correlated with mutations in the GJB2 gene. **Hum Genet** 106:399–405. 2000.

WINPEPI – disponível em: <http://www.brixtonhealth.com/pepi4windows.html>

YANAGIHARA, R.; SAITOU, N.; NERURKAR, V.R.; SONG KJ; BASTIAN, I.; FRANCHINI, G.; GAJDUSEK, D.C. Molecular phylogeny and dissemination of human T-cell lymphotropic virus type I viewed within the context of primate evolution and human migration. **Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)**.41 Suppl 1:S145-61. 1995.

ZAGO, M.A.; SILVA-JR, W.A.; TAVELA, M.H.; SANTOS, S.E.B.; GUERREIRO, J.F.; FIGUEIREDO, M.S. Interpopulational and intrapopulational genetic diversity of Amerindians as revealed by six variable number of tandem repeats. **Hum Hered** v. 46, p. 274-289. 1996.

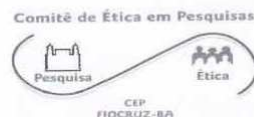
ZELANTE, L.; GASPARINI, P.; ESTIVILL, X.; MELCHIONDA, S.; D'AGRUMA, L.; GOVEA, N.; MILÁ, M.; DELLA-MONICA, M.; LUTFI, J.; SHOHAT, M.; MANSFIELD, E.; DELGROSSO, K.; RAPPAPORT, E.; SURREY, S.; FORTINA, P. Connexin 26 mutations associated with the most common form of non syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterranean. **Hum Mol Genet** 6:1605-1609. 1997.

6 ANEXOS

6.1 Parecer do comitê de ética



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
 Fundação Oswaldo Cruz
 Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz



Comitê de Ética em Pesquisa – CPqGM/FIOCRUZ

PARECER Nº 182/2008

Protocolo: 274

Projeto de Pesquisa: "Genética no Sertão: Ancestralidade e Bases Moleculares de Doenças Genéticas na Região de Monte Santo-BA".

Pesquisadora Responsável: Drª Angelina Xavier Acosta

Instituição ou Departamento: LASP/CPqGM-FIOCRUZ

Considerações:

Após análise ética do projeto e realização dos esclarecimentos solicitados ao responsável, o CEP considera que o projeto atende aos princípios éticos de autonomia, beneficência, não maleficência, equidade e justiça.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisas do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (CEP-CPqGM/FIOCRUZ), conforme atribuições conferidas pela CONEP/CNS/MS (Carta Doc.32-04/97), com base na Resolução 196/96 e suas complementares, julga **aprovado** o projeto supracitado.

O CEP/CPqGM-FIOCRUZ especifica, abaixo, o período de vigência, bem como, determina as datas para o envio dos relatórios semestral e final, referentes ao desenvolvimento do protocolo de pesquisa aprovado.

Vigência: 18/12/2008 a 18/06/2013.

Envio dos Relatórios Semestrais em: 18/06/2009 – 18/12/2009 – 18/06/2010 – 18/12/2010 – 18/06/2011 – 18/12/2011 – 18/06/2012 – 18/12/2012.

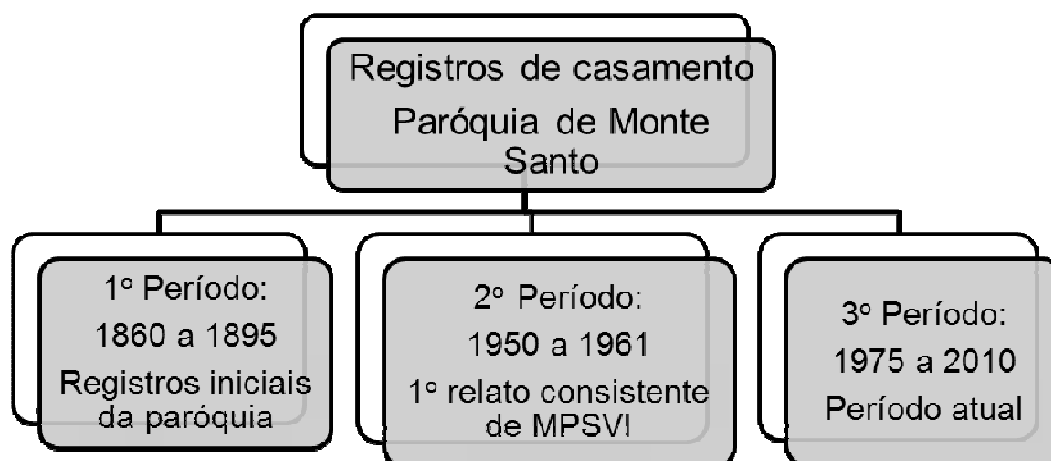
Relatório Final: 18/07/2013.

The present study, entitled "Genética no Sertão: Ancestralidade e Bases Moleculares de Doenças Genéticas na Região de Monte Santo-BA" (protocol number 274) has been approved by the Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz - FIOCRUZ (IORG00002090 / IRB000026120) in December 18th 2008 meeting. The protocol and procedures presented in the project are in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human subject (institutional) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000. In the present version, this project is licensed and valid until June 18th 2013.

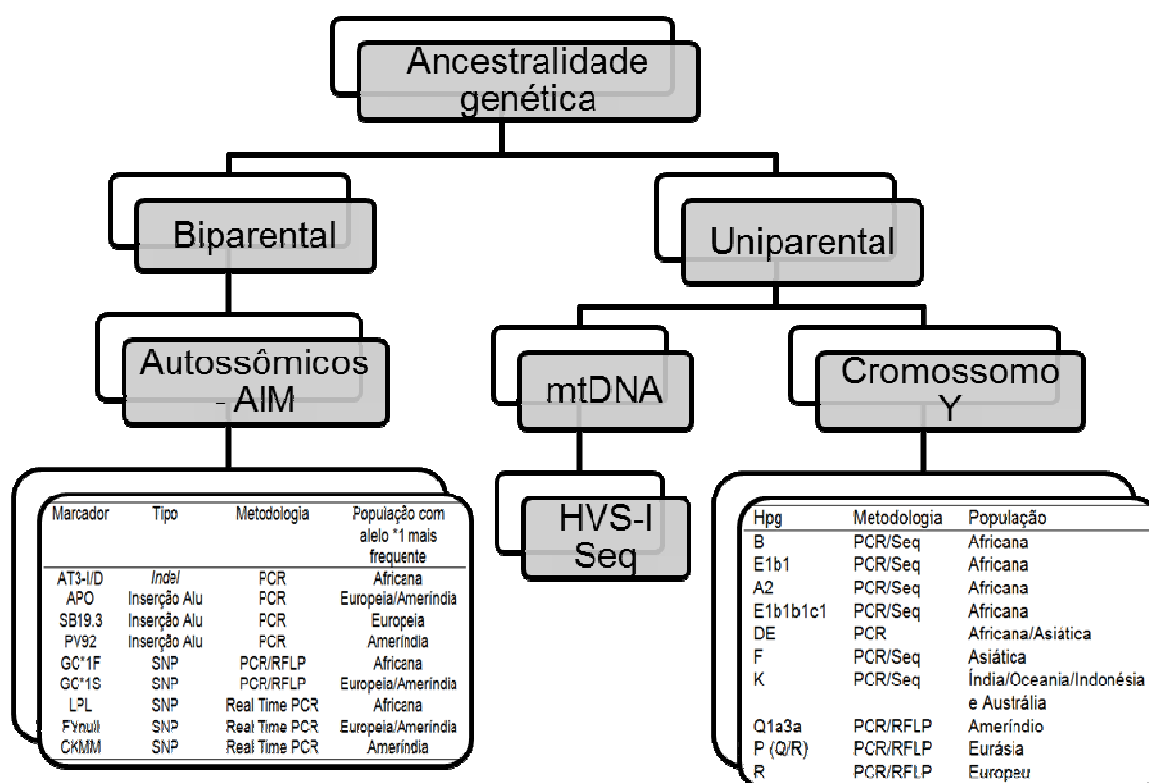
Salvador, 18 de dezembro de 2008.

Drª Maria Fernanda Rios Grassi
 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
 CPqGM/FIOCRUZ
 IORG-0002090 / IRB-00002612

7 APÊNDICES



Fluxograma 1. Análise do manuscrito 1



Fluxograma 2. Análise dos manuscritos 2 e 3