ANTÓNIO MANUEL AMORIM DOS SANTOS

CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA GENÉTICA HUMANA

Estudos de Genética Bioquímica, Formal e Populacional e de Ligação Factorial

PORTO
1983

ANTÓNIO MANUEL AMORIM DOS SANTOS

Assistente da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA GENÉTICA HUMANA

Estudos de Genética Bioquímica, Formal e Populacional e de Ligação Factorial

Dissertação de Doutoramento em Biologia apresentada à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

PORTO-1983

Publicação subsidiada pelo

Instituto Nacional de Investigação Científica

INIC

De acordo com o nº 2 do Artigo 8º do Decreto-lei nº 388/70, utilizaram-se neste trabalho resultados já publicados em colaboração, sob o nome de Antônio AMORIM, que adiante se discriminam:

AMORIM A, SIEBERT G, RITTER H, KÖMPF J (1980) Formal Genetics of Phosphoglycolate Phosphatase (PGP): Investigation on 272 Mother-Child Pairs. Hum. Genet. 53: 419-420.

SIEBERT G, AMORIM A, KÖMPF J (1980) Human Phosphoglycolate Phosphatase (PGP) E.C.3.1.3.18: Linkage Analysis. Hum. Genet. 53: 421-423.

AMORIM A, KÖMPF J, SCHUNTER F, RITTER H (1982) Aminolevulinate Dehydratase (E.C.4.2.1.24): Linkage Analysis. Hum. Genet. 61: 48-49.

No que diz respeito aos dois primeiros, o autor colaborou no desenvolvimento da técnica electroforética e realizou as determinações fenotípicas; no último, o desenvolvimento da técnica electroforética é da responsabilidade do autor, bem como as determinações fenotípicas. Nos dois últimos foram utilizados resultados em relação a outros sistemas polimórficos, bem como material familiar previamente colhidos no Institut für Anthropologie und Humangenetik de Tübingen (R.F.A.).

Em todos o autor participou na análise e discussão dos resultados, bem como na redacção da sua forma publicada, sendo no último o projecto de investigação de sua total responsabilidade.

AGRADECIMENTOS

A consecussão de um trabalho desta índole resulta, obviamente, da conjugação de um esforço pessoal com a cooperação e o auxílio de um largo número de pessoas e instituições, que seria extremamente difícil enumerar exaustivamente. Pedimos, pois, a compreensão daqueles cuja achega, não sendo desprezável, aqui não figurem expressamente; o nosso reconhecimento é maior que a nossa memória.

Ao Professor Doutor João Machado Cruz manifestamos o nosso mais vivo agradecimento; não apenas como orientador deste trabalho, mas porque a sua experiência e a sua amizade nos são inestimáveis.

Inestimáveis são igualmente a confiança nas nossas modestas qualidades e a disponibilidade pessoal que o Prof. Horst Ritter nos tem dedicado; muito pouco do trabalho aqui apresentado poderia ter sido realizado sem a sua colaboração e a do Instituto que dirige, o Institüt für Anthropologie und Humangenetik da Universidade de Tübingen (R.F.A.).

Do mesmo Instituto, queremos também deixar uma referência muito especial ao Dr. Jost Kömpf; a ele ficamos a dever não só a estrita aprendizagem técnica e científica que recebemos, como a amizade que ele e a sua família nos quiseram dedicar.

Merece-nos também a maior gratidão a desinteressada dedicação que recebemos do Professor Doutor Amândio Tavares, da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

Ao Professor Doutor Arsélio Pato de Carvalho, director do Instituto de Zoologia da Universidade de Coimbra, ao Professor D.F. Roberts, director do Department of Human Genetics da Universidade de Newcastle-upon-Tyne e ao Professor Jacques Ruffié, director do Centre d'Hémotypologie de Toulouse, também não podemos deixar de agradecer a forma como fomos acolhidos nas instituições que dirigem.

Aos Drs. Benvindo Justiça (Hospital Geral de Santo António) e Norberto Sá (Maternidade Júlio Dinis) expressamos o nosso reconhecimento pela importante colaboração nas colheitas de sangue.

Entre as instituições às quais o nosso reconhecimento é mais devido, contam-se as seguintes:

- O Conselho Científico da Faculdade de Ciências e em especial a sua Comissão do 3º grupo, 3ª Secção, que sempre nos facilitaram a obtenção da situação de equiparação a bolseiro;

- O Deutscher Akademischer Austauschdienst que subsidiou seis meses de deslocação e estadia no laboratório de Tübingen acima referido;

- O Instituto Nacional de Investigação Científica, entidade que custeou igualmente outras deslocações ao mesmo laboratório e permitiu a situação de equiparação a bolseiro

durante três anos lectivos.

- O Instituto de Antropologia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, nomeadamente à sua direcção e ao seu pessoal; sem a tolerância da primeira e o auxílio prestimoso dos segundos, o nosso trabalho seria bem menos fácil.

Finalmente, omitindo os reconhecimentos estritamente pessoais e familiares, agradecemos, de um modo geral, mas não menos profundo, os ensinamentos dos nossos Mestres, a camaradagem dos Colegas e a compreensão e o estímulo dos Alunos.

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO 1

II. MATERIAL E MÉTODOS 9

1. Obtenção, conservação e preparação das amostras 11

1.1. Preparação do soro ouplasma 12

1.2. Preparação do hemolisado 13

1.3. Preparação do leucolisado 14

2. Técnicas electroforéticas 14

3. Métodos de detecção 16

4. Grupos sanguíneos 23

5. Métodos de cálculo 24

III. RESULTADOS 25

A. Genética populacional 27

B. Genética formal 38

C. Ligação factorial 43

IV. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES 47

1. Genética populacional

1.1. Análise "locus" a "locus" 54

a. ABO (GRUPO SANGUÍNEO ABO) 54

b. ACP1 (FOSFATASE ÁCIDA 1) 59

c. ADA (DESAMINASE DA ADENOSINA) 60

d. AK1 (CINASE ADENÍLICA 1) 62

e. ALAD (DESIDRATASE AMINOLEVULÍNICA) 62

f. AMY2 (α-AMILASE 2) 64

g. BF (FACTOR B DA PROPERDINA) 65

h. C3 (3º COMPONENTE DO COMPLEMENTO) 67

i. DIA1 (DIAFORASE 1) 69

j. ESD (ESTERASE D) 70

k. GC (PROTEÍNA ESPECÍFICA DE GRUPO) 72

l. GLO (GLIOXALASE I) 75

m. GOT2 (TRANSAMINASE GLUTÂMICO-OXALOACÉTICA) 77

n. GPT (TRANSAMINASE GLUTÂMICO-PIRÚVICA) 79

o. HP (HAPTOGLOBINA) 81

p. ME2 (ENZIMA MÁLICA 2) 83

q. PGD (DESIDROGENASE DO FOSFOGLUCONATO) 85

r. PGM1 (FOSFOGLUCOMUTASE 1) 86

s. PGM2 (FOSFOGLUCOMUTASE 2) 90

t. PGP (FOSFATASE FOSFOGLICÓLICA) 90

u. Rh (GRUPO SANGUÍNEO RHESUS) 93

v. SOD1 (DISMUTASE DO SUPERÓXIDO) 93

w. TF (TRANSFERRINA) 95

x. UMPK (CINASE DO 5' MONOFOSFATO DE URIDINA) 96

1.2. Análise da associação entre sistemas genéticos (desequilíbrio gamético GLO/BF) 100

2. Genética formal

a. PGP (FOSFATASE FOSFOGLICÓLICA) 106

b. Subtipos de HP*1 (HAPTOGLOBINA) 107

c. ALAD (DESIDRATASE AMINOLEVULÍNICA) 109

3. Ligação factorial

a. PGP (FOSFATASE FOSFOGLICÓLICA) 112

b. ALAD (DESIDRATASE AMINOLEVULÍNICA) 113

4. Considerações finais 114

5. Conclusões 117

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 123

APÊNCICES

I. INTRODUÇÃO

O número de polimorfismos genéticos reconhecidos no Homem tem crescido continuamente, em especial desde a generalização do uso de técnicas electroforéticas para a sua detecção (CAVALLI-SFORZA e BODMER, 1971).

O mesmo acontece em relação ao número de "loci" com localização cromossómica conhecida, em particular pela combinação das técnicas referidas com as de hibridização celular inter específica (McKUSICK,1971).

A recente introdução do uso das enzimas de restrição na análise do genoma humano (DAVIES, 1981) permite legitimamente esperar um ritmo ainda mais rápido nos progressos citados.

Contudo, a maioria dos problemas teóricos e aplicados da genética humana continua a ser tratada quase invariavelmente de um modo "atomístico", ou seja, através de análises "locus" a "locus", excepto quando a pesquisa se dirige especificamente à detecção da ligação factorial (LEWONTIN,1970).

É evidente que o número de grupos de ligação conhecidos envolvendo, pelo menos, dois sistemas polimórficos com funções bioquímicas claramente distintas é presentemente muito reduzido. Entretanto, a situação tem-se modificado, talvez lentamente, mas de modo constante, no sentido do aumento do referido número (SHOWS e McALPINE, 1982). Torna-se dia a dia mais claro que o aumento do número de grupos de ligação descritos proporcionará um progresso considerável em muitos campos da genética humana. Podem prever-se, desde já, alguns desses progressos:

1. Reconhecimento da base genética de fenótipos complexos (BODMER,1981).

2. Reestruturação considerável da pesquisa em genética populacional teórica e aplicada (LEWONTIN,1974; SPIESS,1977).

3. Pormenorização dos conhecimentos sobre o cromossoma eucariótico como entidade organizada, tanto quanto ao padrão de distribuição de se-

quências significantes e das regras de expressão gênica(OHNO,1970; ZUCKERKANDL,1978; LIMA-DE-FARIA,1980; DAVIES,1981), como ainda, sob o ponto de vista da sua reorganização aquando da reprodução, ou seja, quanto à distribuição da probabilidade de sobrecruzamento (LIMA-DE-FARIA,1980; LAURIE et al.,1982).

Porém, admite-se geralmente que estes progressos só venham a verificar-se num futuro longínquo. Não obstante, um razoável conhecimento da transmissão de uma sequência genética linear — como se supõe ser o caso nos nossos cromossomas — requer apenas que disponhamos de marcadores polimórficos espalhados ao longo do material genético a intervalos tais que a ocorrência de recombinação seja sempre detectada (ELSTON, 1979; BOTSTEIN et al., 1980; DAVIES, 1981).

Por exemplo, para o nosso autossoma mais longo , com menos de 2 Morgan de comprimento (HULTÉN et al., 1982), exigir-se-iam aproximadamente 20 polimorfismos genéticos, mesmo assumindo 10 cM como distância máxima entre cada par deles de modo a tornar a probabilidade de ocorrência indetectada de sobrecruzamentos múltiplos virtualmente nula.

O mesmo cálculo, com mais alguns pressupostos simplificativos, aplicado ao nosso genoma completo, produz um resultado cuja ordem de grandeza é de 10^2. Logo, mesmo admitindo uma grande ineficácia na amostragem destes polimorfismos,

conduzindo a redundâncias informativas consideráveis, não é de esperar que tenhamos de investigar mais do décuplo daquele valor até obtermos o mapeamento desejado.

Assim sendo, e confiando apenas na ordem de grandeza destes valores, teremos de admitir não se tratar de um estado de conhecimento tão longínquo quanto era aparente, nem corresponder a uma complexidade inacessível. De facto, tratar-se-ia tão-sómente de um aumento de seis a dez vezes da actual capacidade de rotina de alguns centros de investigação.

Deste modo, pelo menos enquanto os métodos recentes de genética molecular não forem aplicáveis em larga escala, parece razoável e urgente continuar

1. a pesquisa de técnicas facilmente rotináveis, aplicáveis a amplas amostragens da diversidade genética humana, que sejam tão económicas quanto possível sem perda de poder discriminante e requerendo ao mesmo tempo o mínimo de trabalho preparativo das amostras biológicas, que devem ser facilmente obteníveis;

2. a investigação da genética formal das variações observadas;

3. a determinação das relações de ligação entre sistemas genéticos.

O trabalho que se segue é uma modesta contribuição para a consecussão destes objectivos.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Ao longo deste trabalho utilizou-se a nomenclatura e a terminologia recomendadas na última "Human Gene Mapping Conference" (SHOWS e McALPINE, 1982).

No Anexo 1 encontra-se a lista, ordenada alfabeticamente, dos símbolos utilizados para referir os "loci" estudados, bem como a tradução, em português, do respectivo nome recomendado.

1. OBTENÇÃO, CONSERVAÇÃO E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

O sangue foi o único tipo de amostra biológica utilizado neste trabalho, sendo colhido por punção venosa, normalmente antecubital, excepto no caso de recém-nascidos, em que foi usado o do cordão umbilical.

Como anticoagulante foi usado um soluto aquoso de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) dissódico a 10% (p/v), na proporção de 0,1 ml para 5 ml de sangue, embora tenham sido esporadicamente utilizadas amostras simplesmente desfibrinadas ou mesmo coaguladas.

As colheitas foram realizadas no Instituto de Antropologia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, no Hospital Geral de Santo António do Porto (dadores voluntários), na Maternidade de Júlio Dinis do Porto (recém-nascidos), no Hospital de Vila Nova de Gaia (idem), no Institut für Anthropologie und Humangenetik da Universidade de Tübingen (República Federal da Alemanha) e em alguns trabalhos de campo.

Foram registados o nome, a idade, a naturalidade e a residência dos dadores nas colheitas de campo e nas efectuadas nos dois primeiros locais acima referidos, de modo a eliminar possíveis repetições e a detectar parentescos próximos, bem como a possibilitar a análise da heterogeneidade amostral em estudos populacionais. Na secção "RESULTADOS" encontram-se discriminadas, para cada sistema genético, a natu

ralidade e a residência dos indivíduos de que provieram as amostras consideradas.

As amostras não coaguladas foram submetidas a um tratamento idêntico ao descrito por SIEBERT et al.(1979) para separação dos glóbulos brancos, dos glóbulos vermelhos e do plasma.

Os soros, plasmas e glóbulos brancos foram conservados sem aditivos e os glóbulos vermelhos sob a forma glicerolada, todos a $-20^{0}C$.

1.1. PREPARAÇÃO DO SORO OU PLASMA

Os soros ou plasmas foram utilizados directamente nas electroforeses para as determinações fenotípicas de C3, BF, AMY2 e TF.

Para as determinações dos fenótipos comuns de GC, utilizou-se uma mistura marcadora, descrita por WELCH et al. (1979), na proporção de 1 volume para 5 de soro ou plasma.

Para as determinações dos fenótipos comuns de HP, foi adicionado um volume de hemolisado, desestromatizado pelo método adiante descrito, a 10 volumes de soro ou plasma.

Para as determinações dos subtipos de HP procedeu-se à sua semi-purificação através de DEAE Sephacel (Pharmacia Fine Chemicals) por uma modificação do método cromato-

gráfico de SMITHIES et al.(1962), que a seguir se descreve.

A adsorção e a lavagem são feitas em tubo de ensaio em vez da coluna cromatográfica da descrição original.

A resina, comercializada sob a forma de suspensão, é previamente equilibrada, por duas lavagens sucessivas, com tampão acetato de sódio 10 mM, pH 4,6 na proporção de um volume de suspensão para quatro volumes de tampão.

A suspensão equilibrada e o soro ou plasma são misturados na proporção de 3 ml para 0,5 ml respectivamente, durante quinze minutos, com agitação. O sedimento obtido por centrifugação é lavado com o tampão acima referido e com tampao acetato de sódio 0,03M pH 4,6.

A recuperação da haptoglobina faz-se com acetato de amónio 0,125M, com agitação e também durante quinze minutos. O sobrenadante agora obtido, depois de congelado a -20°C é misturado com igual volume de acetona, sendo a mistura agitada de novo durante quinze minutos. O resíduo proteico obtido por centrifugação é seco, sendo-lhe adicionado, uma hora antes da electroforese, 0,1 ml de uma solução 8M ureia e 0,25M mercaptoetanol em tampão borato de sódio 0,2M, pH 9,0.

1.2. PREPARAÇÃO DO HEMOLISADO

No caso de glóbulos vermelhos não congelados, estes foram simplesmente lavados em soro fisiológico. Tratando-se de glóbulos glicerolados, a lavagem fez-se no mesmo meio usado para a con-

servação.

A hemólise foi feita por ultra-sons, seguida de tratamento por tolueno ou tetracloreto de carbono.

1.3. PREPARAÇÃO DO LEUCOLISADO

O leucolisado foi também obtido por ultra-sons, com a adição de uma solução a 10% (v/v) de Triton X-100 na proporção volumétrica de 1/1.

O produto obtido foi utilizado nas determinações de ME2 e GOT2.

2. TÉCNICAS ELECTROFORÉTICAS

As determinações fenotípicas foram feitas por electroforese de zonas, utilizando como suporte várias matrizes.

A poliacrilamida foi utilizada para o sistema GC, conforme WELCH et al.(1979).

Para os sistemas AMY2, BF (em alguns casos) e C3 usou-se o gel de agarose na concentração de 1% (p/v), contendo no primeiro caso 40% (p /v) de sacarose.

O gel de amido (Starch Hydrolysed, Connaught) foi empregado em todas as restantes determinações, na concentração de 15% (p/v).

Todas as electroforeses foram realizadas sobre placa de arrefecimento ($7^{o}C$) excepto no sistema GC, (sistema vertical, à temperatura ambiente).

Indicam-se, na Tabela 1, os sistemas de tampões utilizados, a duração da electroforese e o gradiente de potencial aplicado.

TABELA 1. Técnicas electroforéticas utilizadas.

	Tampão das pontes	Tampão do gel	Duração (horas)	Gradiente de potencial (V/cm)	Observações
1	Tris 0,083 M HCl 0,050 M pH = 7,6	Tampão das pontes diluído 1:1	5	18	modificado de KÖMPF et al. (1979)
2	Barbital 0,117 M Barbital sódico 0,021 M Lactato cálcico 0,005 M pH = 8,6	Tampão das pontes diluído 1:5	4	18	segundo TEISBERG (1970)
3	Tris 0,065 M Ácido bórico 0,031 M pH = 8,8	Tris 0,302 M HCl 0,048 M pH = 8,9	(1)	(2)	segundo WELCH et al.(1979)
4	Ácido bórico 0,194 M LiOH 0,042 M pH = 8,1	Tris 0,046 M ác.cítrico 0,007 M em tampão das pontes diluído 1:10 pH = 8,0	15	4	segundo POULIK (1957)
5	Ác.fórmico 0,556 M NaOH 0,280 M pH = 3,7	Ureia 8,000 M Mercaptoetanol 0,040 M Ác.fórmico 0,675 M NaOH 0,071 M pH = 2,7	15	7,5	modificado de SMITHIES et al. (1962)
6	Ác. cítrico 0,400 M NaOH 1,130 M pH = 6,0	His/HCl 0,020 M Na OH 0,010 M pH = 6,0	15	4	modificado de FILDES e HARRIS (1966)
7	Idem	Tampão do gel anterior diluído 1:3	15	4,5	Idem
8	Ác. cítrico 0,067 M Tris 0,250 M pH = 7,6	Tampão das pontes diluído 1:10	15	7,5 (ou 5, para GLO e ESD)	modificado de KÖMPF e RITTER (1979)
9	Ác. cítrico 0,086 M Tris 0,222 M HCl 0,042 M pH = 5,8	Tampão das pontes diluído 1:15	16	9	modificado de BISSBORT et al. (1978)
10	Glicina 0,959 M Tris 0,100 M pH = 8,3	Tris 0,259 M HCl 0,033 M pH = 8,3	14	1,5	KÖMPF, comunicação pessoal

(1) variável, de acordo com a migração do marcador

(2) não determinado (cf. nota anterior)

3. MÉTODOS DE DETECÇÃO

Excepto no caso da matriz do gel ser constituida por agarose, foram seccionadas várias "fatias" longitudinais, de acordo com o número de zimogramas diferentes pretendidos.

Todos os zimogramas foram obtidos pelo método de "sandwich", com papel de filtro Whatman 1 embebido na solução de coloração, à excepção da coloração geral de proteínas e dos sistemas AMY2 e HP.

Indicam-se adiante, para cada sistema genético, o método utilizado para a obtenção do zimograma, bem como a(s) técnica(s) electroforética(s) em que se pode(m) visualizar, identificadas numericamente de acordo com a Tabela 1.

Todas as incubações foram feitas à temperatura de 37°C, excepto quando indicado.

3.1. ACP1 (FOSFATASE ÁCIDA 1)

Tampão de incubação: ácido acético / acetato de sódio 1M, pH 4,8.

Solução de incubação A: fosfato de 4-metilumbeliferil 0,8mM.

Solução de incubação B: difosfato de fenolftaleína (sal sódico) 2mM.

Incubação: No caso da solução A, 5 minutos à temperatura ambiente, com inspecção à luz ultravioleta.

No caso da solução B, 45 minutos; visualização com adição de solução básica (amônia diluída).

Técnica electroforética: 7.

3.2. ADA (DESAMINASE DA ADENOSINA)

Tampão de incubação: tris 0,3M; KCl 0,1M; $MgCl_2$ 0,02M; His/HCl 0,2M; pH 7,8.

Solução de incubação: arsenato de sódio 5mM; adenosina 5mM; MTT (azul de tiazolil) 5mM; PMS (metosulfato de fenazina) 0,4mM; NP (fosforilase nucleosídica) 0,02U/ml; XOD (oxidase xantínica) 0,004U/ml.

Incubação: 30 minutos aproximadamente.

Técnica electroforética: 6.

3.3.AK1 (CINASE ADENÍLICA 1)

Tampão de incubação: O mesmo de 3.2.

Solução de incubação: monofosfato de citidina 5mM; ATP (trifosfato de adenosina) 2mM; NADH (nicotinamida-adenina dinucleotídeo; forma reduzida) 1mM; MTT 2mM; fosfoenolpiruvato 3mM, LDH (desidrogenase láctica) 17U/ml; PK (cinase pirúvica) 7U/ml.

Incubação: Até ser visível a defluorescência NADH--NAD; contracoloração com PMS (KÖMPF, 1972).

Técnica electroforética: 6.

3.4. ALAD (DESIDRATASE AMINOLEVULÍNICA)

Tampão de incubação: O mesmo de 3.16.

Solução de incubação: ácido aminolevulínico 10mM; ditiotreitol 5mM; acetato de zinco 10mM.

Incubação: 2,5 horas; contracoloração conforme BATTISTUZZI et al. (1981).

Técnica eletroforética: 6.

3.5. AMY2 (ALFA-AMILASE 2, PANCREÁTICA)

Conforme descrito por KÖMPF et al.(1979), excepto:

Técnica eletroforética: 1.

3.6. BF (FACTOR B DA PROPERDINA)

Para a visualização deste sistema utilizou-se a técnica de imunofixação, seguida de coloração geral de proteínas, como em 3.7.

Técnica eletroforética: 2. ou 10.

3.7. C3 (TERCEIRO COMPONENTE DO COMPLEMENTO)

O zimograma foi obtido por coloração geral de proteínas.

Solução de coloração: Coomassie Blue R 250 ou Kena cid Blue R (British Drug House) 0,1% (p/v) numa mistura contendo 1 parte (vol.) de etanol, 2 partes de água destilada e ácido sulfosalicílico 0,119M.

Solução de descoloração: 8 volumes de ácido acético, 25 de etanol e 67 de água destilada.

Técnica electroforética: 2.

3.8. DIA1 (DIAFORASE 1)

Tampão de incubação: Como em 3.2. ou 3.13.

Solução de incubação: Alternativamente como em 3.3., 3.13. ou 3.22.; ou ainda a descrita por HARRIS & HOPKINSON (1976).

Incubação: Variável conforme a solução de incubação (30 - 60 minutos).

Técnicas electroforéticas: 6. ou 8.

3.9. ESD (ESTERASE D)

Tampão de incubação: O mesmo de 3.1.

Solução de incubação: acetato (ou butirato) de 4-metilumbeliferil 0,9mM.

Incubação: 5 minutos, à temperatura ambiente.

Técnicas electroforéticas: 6., 7. ou 8.

3.10. GC (PROTEÍNA ESPECÍFICA DE GRUPO)

O zimograma foi obtido por coloração geral de proteínas, como em 3.7.

Técnica electroforética: 3.

3.11. GLO (GLIOXALASE 1)

Tampão de incubação: Usou-se o descrito por KOMPF

et al.(1975), mas adicionando-lhe $MgCl_2$ 0,01M e $CaCl_2$ 2mM.

Solução de incubação: Conforme descrito por KÖMPF et al.(1975).

Incubação: Idem.

Técnica electroforética: 8.

3.12. GOT2 (TRANSAMINASE GLUTÂMICO-OXALOACÉTICA 2)

Tampão de incubação: 0,5M Tris, 0,1M asparagina.

Solução de incubação: 2-oxoglutarato 40mM; NADH 2mM; MTT 3mM, MDH (desidrogenase málica) 15U/ml, fosfato de piridoxal 5mM.

Incubação: Como em 3.3.

Técnica electroforética: 8.

3.13. GPT (TRANSAMINASE GLUTÂMICO-PIRÚVICA)

Conforme descrito por KÖMPF (1972), excepto:

Tampão de incubação: Tampão das pontes da técnica electroforética 8.

Técnica electroforética: 8.

3.14. HP (HAPTOGLOBINA)

3.14.a. FENÓTIPOS COMUNS

Tampão de incubação: O mesmo de 3.1.

Solução de incubação: aminoetilcarbazol 1,6mM em uma mistura contendo um volume do tampão de incuba

ção, 2 volumes de água destilada; um volume de etanol e algumas gotas de uma solução a 10 volumes de H_2O_2.

Incubação: À temperatura ambiente, até as bandas ficarem bem visíveis (pelo menos 5 minutos).

Técnica electroforética: 4.

3.14.b. SUBTIPOS

O zimograma foi obtido por coloração geral de proteínas, conforme descrito em 3.7.

Técnica electroforética: 5.

3.15. ME2 (ENZIMA MÁLICA 2)

O zimograma foi obtido pelo método descrito por SIEBERT et al. (1979).

Técnica electroforética: 8.

3.16. PGD (DESIDROGENASE DO FOSFOGLUCONATO)

Tampão de incubação: Tris 0,1M; His/HCl 0,1M; Imidazol 0,01M; $MgCl_2$ 5mM, pH 7,4.

Solução de incubação: 6-fosfogluconato 1mM; NADP (fosfato de nicotinamida-adenina dinucleotídeo) 1mM; MTT 1mM; PMS 0,5mM.

Incubação: 5 a 10 minutos.

Técnica electroforética: 6.

3.17. PGM1 (FOSFOGLUCOMUTASE 1)

3.17.a. FENÓTIPOS COMUNS

Tampão de incubação: Como o de 3.16.

Solução de incubação: Descrita por SIEBERT et al. (1980), mas com PMS (0,5mM) em vez de "Meldola Blau".

Incubação: Idem.

Técnica electroforética: 8.

3.17.b. SUBTIPOS

O zimograma foi obtido de modo idêntico a 3.17.a., mas com o tampão de incubação de 3.2.

Técnica electroforética: 9.

3.18. PGM2 (FOSFOGLUCOMUTASE 2)

O método de visualização é idêntico ao de 3.17.a.

3.19. PGP (FOSFOGLICOLATO FOSFATASE)

O método utilizado foi o previamente descrito (AMORIM et al., 1980), mas utilizando também a

Técnica electroforética: 8.

3.20. SOD1 (DISMUTASE DO SUPERÓXIDO 1)

Tampão de incubação: Como em 3.2. ou 3. 16.

Solução de incubação: MTT 1mM, PMS 1mM, ou alternativamente, usando qualquer zimograma contendo estes dois reagentes.

Incubação: Exposição à luz até o fundo ser suficientemente azulado, seguido de incubação na estufa até aparecerem bandas;

alternativamente, incubação directa sob lâmpada de incandescência.

Técnicas electroforéticas: 6. ou 8.

3.21. TF (TRANSFERRINA)

Visualização através de coloração geral de proteínas, como em 3.7.

Técnicas electroforéticas: 2. ou 3.

3.22. UMPK (CINASE DO 5'MONOFOSFATO DE URIDINA)

Tampão de incubação:O mesmo de 3.2.

Solução de incubação: 5' monofosfato de uridina 9mM; ATP 2mM; fosfoenolpiruvato 3mM; NADH 1mM; MTT 2mM; LDH 17U/ml; PK 7U/ml.

Incubação: Como em 3.3.

Técnica electroforética:6.

4. GRUPOS SANGUÍNEOS

Foram determinados em sangue recém-colhido, com anti-soros comerciais, (anti-A; anti-B; e anti-D) pelo método convencional de placa.

5. METODOS DE CÁLCULO

Frequências Gênicas

Nos casos de codominância entre todos os alelos do sistema, estas foram calculadas por contagem de genes.

Usou-se o método de iteração descrito por ELANDT-JOHNSON (1971) para o sistema ABO.

Nos casos restantes, postulou-se a verificação do equlíbrio de HARDY-WEINBERG.

Ligação Factorial

Os valores de "lod score" foram obtidos segundo MAYNARD-SMITH et al. (1961).

III. RESULTADOS

Dado o número e a extensão das tabelas necessárias à descrição razoavelmente completa dos resultados obtidos, pareceu-nos preferível reunir nesta secção apenas a sua forma menos trabalhada (distribuições fenotípicas populacionais, familiares e em pares mãe-filho, bem como "lod scores"), apresentando-se no capítulo Discussão e Conclusões apenas a sua forma elaborada e condensada, quando necessário.

A. Genética populacional

Apresentam-se nas Tabelas 2 a 27, em relação a vinte e quatro sistemas genéticos, as distribuições fenotípicas encontradas em amostras populacionais do N. de Portugal.

Para alguns sistemas (ALAD, subtipos de HP e PGP), apresentam-se igualmente os resultados obtidos para amostras populacionais da região S.O. da República Federal da Alemanha.

Em alguns casos, foi possível obter amostras em número suficiente para considerar estratificações etárias e geográficas. Em relação ao distrito do Porto, e para alguns sistemas genéticos, discriminaram-se os indivíduos nascidos nesta região e nela habitando, dos simplesmente residentes, mas com diferente naturalidade.

Para as outras regiões geográficas, a amostragem considerada reporta-se unicamente à naturalidade dos indivíduos considerados, irrespectivamente do local de residência actual.

TABELA 2. Sistema ABO: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em algumas amostras do N. de Portugal.

Amostra estudada	N	Fenótipos A	B	AB	O	χ^2	n. g.l.	P
Distrito do Porto	2444	1194 (1189,53)	180 (174,57)	75 (80,41)	995 (999,50)	0,45	1	0,70-0,50
Distritos de Braga e Viana do Castelo	102	49 (48,9)	9 (8,87)	4 (4,13)	40 (40,10)	0,01	1	0,95-0,90
Distritos de Bragança e Vila Real	73	33 (31,15)	15 (12,98)	4 (6,24)	21 (22,62)	1,34	1	0,30-0,20
Distritos de Aveiro, Coimbra e Leiria	101	44 (46,11)	6 (8,37)	6 (3,52)	45 (43,00)	2,61	1	0,20-0,10
Distritos de Viseu, Guarda e Castelo Branco	151	62 (61,20)	15 (14,12)	4 (4,93)	70 (70,75)	0,25	1	0,70-0,50
Residentes no Distrito do Porto	2874	1396 (1390,02)	222 (215,54)	92 (98,96)	1164 (1169,48)	0,73	1	0,50-0,30

TABELA 3. Sistema ACP1: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em algumas amostras do N. de Portugal.

Amostra estudada	N	Fenótipos A	AB	AC	B	BC	C	AR	χ^2	n. g.l.	P
Distrito do Porto	772	59 (62,71)	291 (288,71)	31 (25,92)	336 (332,32)	50 (59,67)	5 (2,69)	-	4,8	3	0,20-0,10
Residentes no distrito do Porto	1127 (1126)	84 (88,98)	418 (419,39)	47 (35,70)	502 (494,21)	70 (84,15)	5 (3,53)	1 (-)	6,9	3	0,10-0,05
Distritos de Aveiro, Coimbra e Leiria	82	3 (4,64)	31 (27,58)	2 (2,14)	39 (41,02)	7 (6,37)	0 (0,25)	-	1,1	1	0,30-0,20

TABELA 4. Sistema ADA: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY - - WEINBERG em uma amostra do distrito do Porto.

N	Fenótipos 1	2-1	2	χ^2	n. g.l.	P
494	444	47	3	1,9	1	0,20-0,10
	(442,46)	(50,12)	(1,42)			

TABELA 5. Sistema AK1: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY - - WEINBERG em uma amostra de residentes no distrito do Porto.

N	Fenótipos 1	2-1	3-1
476	465	10	1

TABELA 6. Sistema ALAD: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY - - WEINBERG em uma amostra de residentes no distrito do Porto.

N	Fenótipos 1	2-1	2	χ^2	$n_{g.l.}$	P
456	374 (372,24)	76 (79,52)	6 (4,25)	0,8	1	0,70-0,50

TABELA 7. Sistema AMY2: Distribuição fenotípica em amostras do N. de Portugal.

Amostra estudada	N	Fenótipos 1	2-1	3-1
Distrito do Porto	862	800	61	1
Beira Interior	111	104	7	-

TABELA 8. Sistema BF: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em uma amostra de residentes no distrito do Porto.

N	Fenótipos							χ^2	n. g.l.	P
	F	FS	S	FFv	FSv	SSv	FvS			
225	25	80	108	2	3	5	2	2,78	1	0,10-0,05
(213)	(19,83)	(90,30)	(102,83)							

N.B. Os símbolos Fv e Sv foram utilizados para referir as variantes "rápidas" e "lentas" respectivamente.

TABELA 9. Sistema C3: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em amostras do distrito do Porto.

Amostra estudada	N	Fenótipos					χ^2	n. g.l.	P
		F	FS	S	Fs	Ss			
Distrito do Porto	308	9	72	224	0	3	1,1	1	0,30-0,20
		(6,57)	(76,40)	(222,01)	(3,01)				
Residentes no distrito do Porto	432	15	111	299	1	6	1,3	1	0,30-0,20
		(11,66)	(117,50)	(295,79)	(7,05)				

N.B. O símbolo s foi utilizado para referir uma variante "lenta".

TABELA 10. Sistema DIA1: Distribuição fenotípica em uma amostra do distrito do Porto.

N	Fenótipos	
	1	2-1
696	694	2

TABELA 11. Sistema ESD: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em algumas amostras do N. de Portugal.

Amostra estudada	N	Fenótipos 1	2-1	2	χ^2	n. g.l.	P
Distrito do Porto	1141	797 (794,39)	310 (315,32)	34 (31,29)	0,3	1	0,70-0,50
Residentes no distrito do Porto	1416	993 (988,45)	380 (389,23)	43 (38,32)	0,8	1	0,50-0,30
Minho	66	45 (44,18)	18 (19,63)	3 (2,18)	0,4	1	0,70-0,50
Beira Litoral	58	41 (39,73)	14 (16,55)	3 (1,72)	1,3	1	0,30-0,20
Trás-os-Montes	51	39 (38,82)	11 (11,35)	1 (0,83)	0,05	1	0,90-0,80
Beira Interior	123	89 (88,78)	31 (31,43)	3 (2,78)	0,02	1	0,90-0,80

TABELA 12. Sistema GC. Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em amostras do N. de Portugal.

Amostra estudada	N	Fenótipos 1	2-1	2	χ^2	n. g.l.	P
Distrito do Porto	228	110 (115,10)	104 (93,80)	14 (19,11)	2,7	1	0,20-0,10
Residentes no distrito do Porto	407	194 (202,40)	186 (169,23)	27 (35,37)	3,9	1	0,05-0,01
Beira Interior	58	20 (22,97)	33 (27,06)	5 (7,97)	2,7	1	0,10-0,05

TABELA 13. Sistema GLO: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em uma amostra do distrito do Porto.

N	Fenótipos 1	2-1	2	χ^2	n. g.l.	P
987	200 (187,62)	460 (485,41)	327 (313,96)	2,69	1	0,20-0,10

TABELA 14. Sistema GOT2: Distribuição fenotípica em uma amostra de residentes no distrito do Porto.

N	Fenótipos 1	2-1	3-1
543	518	23	2

TABELA 15. Sistema GPT: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em uma amostra do distrito do Porto.

N	Fenótipos 1	2-1	2	2-1M	3-2	χ^2	n. g.l.	P
796	197 (192,53)	382 (389,85)	208 (204,53)	7 (7,02)	2 (2,06)	0,3	1	0,70-0,50

TABELA 16. Sistema HP: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em algumas amostras do N. de Portugal.

Amostra estudada	N	Fenótipos 1	2-1	2	χ^2	n. g.l.	P
Distrito do Porto	1379	214 (224,96)	686 (664,05)	479 (490,01)	1,5	1	0,50-0,30
Beira Litoral	100	15 (16,40)	51 (48,20)	34 (35,40)	0,3	1	0,70-0,50
Minho	101	11 (16,64)	60 (48,71)	30 (35,36)	5,4	1	0,05-0,01
Trás-os-Montes	71	17 (17,26)	36 (35,49)	18 (18,25)	0,01	1	0,95-0,90
Beira Interior	150	17 (27,64)	93 (73,50)	40 (48,85)	10,8	1	< 0,001

TABELA 17. Subtipos de HP*1: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em amostras do distrito do Porto e S.O. da Alemanha.

Amostra estudada	N	Fenótipos 1F	1S	1FS	2-1F	2-1S	χ^2	n. g.l.	P
Distrito do Porto	223	7 (11,06)	22 (17,28)	27 (27,65)	83 (74,22)	84 (92,78)	4,66	2	0,10-0,05
SO. da Alemanha	418	17 (16,64)	45 (39,26)	45 (51,11)	128 (122,63)	183 (188,37)	1,97	2	0,30-0,20

TABELA 18. Sistema ME2: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em uma amostra do distrito do Porto.

N	Fenótipos 1	2-1	2	χ^2	n. g.l.	P
294	104 (107,75)	148 (140,43)	42 (45,75)	0,8	1	0,50-0,30

TABELA 19. Sistema PGD: Distribuição fenotípica em uma amostra do distrito do Porto.

N	Fenótipos	
	A	AB
857	851	6

TABELA 20. Sistema PGM1: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em amostras do distrito do Porto.

Amostra estudada	N	Fenótipos			χ^2	n. g.l.	P
		1	2-1	2			
Distrito do Porto	611	374 (373,03)	206 (207,98)	30 (28,99)	0,05	1	0,90-0,80
Residentes no distrito do Porto	996	596 (585,33)	335 (356,42)	65 (54,26)	3,6	1	0,10-0,05

TABELA 21. Subtipos de PGM1: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em uma amostra do distrito do Porto.

N	Fenótipos									
	1F	1FS	1S	1F2F	1F2S	1S2F	1S2S	2F	2FS	2S
202	12 (9,16)	45 (49,22)	67 (66,09)	8 (6,20)	9 (12,30)	17 (16,64)	35 (33,05)	1 (1,05)	4 (4,16)	6 (4,13)

$\chi^2 = 4,7$; n.g.l. = 6; 0,50>P>0,30

TABELA 22. Sistema PGM2: Distribuição fenotípica em uma amostra de residentes no distrito do Porto.

N	Fenótipos 1	2-1
996	995	1

TABELA 23. Sistema PGP: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em algumas amostras do distrito do Porto.

Amostra estudada	N	Fenótipos 1	2-1	3-1	2	3-2	3	χ^2	n. g.l.	P
Recém-nascidos	370	310	33	17	2	3	5	17,7	1	<0,001
		(303,31)	(36,25)	(27,13)	(-----3,31-----)					
Adultos	545	452	60	28	3	1	1	0,1	1	0,80-0,70
		(451,41)	(61,01)	(28,17)	(-----4,40-----)					
Distrito	915	762	93	45	5	4	6	9,0	1	0,01-0,001
		(754,72)	(97,23)	(55,34)	(-----7,72-----)					
Adultos residentes	678	556	78	37	4	1	2	0,1	1	0,80-0,70
		(555,18)	(78,18)	(38,04)	(-----6,41-----)					

TABELA 24. Sistema Rh (factor D): Distribuição fenotípica em algumas amostras do N. de Portugal.

Amostra estudada	N	Fenótipos D	d
Distrito do Porto	1280	1055	225
Distritos de Braga e V.do Castelo	96	83	13
Distritos de Aveiro, Coimbra e Leiria	97	76	21
Distritos de Vila Real e Bragança	71	62	9
Distritos de Viseu, Guarda e Castelo Branco	146	123	23

TABELA 25. Sistema SOD1: Distribuição fenotípica em uma amostra do distrito do Porto.

N	Fenótipos	
	1	2-1
1040	1038	2

TABELA 26. Sistema TF: Distribuição fenotípica em algumas amostras do distrito do Porto.

Amostra estudada	N	Fenótipos	
		C	BC
Distrito do Porto	347	345	2
Residentes no distrito do Porto	583	576	7

TABELA 27. Sistema UMPK: Distribuição fenotípica e acordo com os resultados esperados segundo a lei de HARDY-WEINBERG em uma amostra do distrito do Porto.

N	Fenótipos				χ^2	n. g.l.	P
	1	2-1	2	3-1			
446	405	38	2	1	1,1	1	0,30-0,20
(445)	(404,15)	(39,86)	(0,98)	-			

B. Genética formal

1. PGP (FOSFATASE FOSFOGLICÓLICA)

A distribuição fenotípica no sistema PGP encontrada em 272 pares mãe-filho do Sudoeste da República Federal da Alemanha encontra-se descrita na Tabela 28.

TABELA 28. Sistema PGP: Distribuição fenotípica em 272 pares mãe-filho.

Mãe \ Filho	Fenótipos 1	2-1	3-1	2	3-2	3	Σ
1	182 (179,1)	21 (20,6)	8 (6,2)	-	-	-	211
2-1	17 (20,6)	23 (22,9)	1 (0,7)	3 (2,4)	0 (0,7)	-	44
3-1	4 (6,2)	0 (0,7)	8 (6,9)	-	0 (0,7)	0 (0,2)	12
2	-	2 (2,4)	-	1 (0,3)	0 (0,1)	-	3
3-2	-	1 (0,7)	1 (0,7)	0 (0,1)	0 (0,1)	0 (0,02)	2
3	-	-	0 (0,2)	-	0 (0,02)	0 (0,01)	0
Σ	203	47	18	4	0	0	272

Na Tabela 29 apresenta-se a segregação fenotípica, no mesmo sistema, em relação a 101 famílias da mesma região.

Não se verificaram quaisquer exclusões mãe-filho.

TABELA 29. Sistema PGP: Segregação fenotípica em 101 famílias.

Tipo de cruzamento	Número de		Fenótipos da descendência				
	Famílias	Descendentes	1	2-1	2	3-1	3
1 X 1	53	169	169	-	-	-	-
1 X 2-1	18	55	30 (27,50)	25 (27,50)	-	-	-
1 X 2	3	6	-	6	-	-	-
1 X 3-1	8	21	14 (10,50)	-	-	7 (10,50)	-
2-1 X 2-1	2	5	0 (1,25)	4 (2,50)	1 (1,25)	-	-
3-1 X 3-1	2	3	2 (0,75)	-	-	1 (1,50)	0 (0,75)
Total	101	259	215	35	1	8	0

2. Subtipos de HP*1

A distribuição dos subtipos de HP*1 em 254 pares mãe-filho do Sudoeste da Rēpublica Federal da Alemanha apresenta-se na Tabela 30.

Não foi detectada qualquer exclusão mãe-filho.

TABELA 30. Subtipos de HP*1: Distribuição fenotípica em 254 pares mãe-filho.

Mãe \ Filho	Fenótipos						
	1F	1FS	1S	2-1F	2-1S	2	Σ
1F	3 (1,34)	2 (2,05)	-	4 (4,93)	-	-	9
1FS	0 (2,05)	7 (5,21)	3 (3,15)	5 (7,57)	6 (7,57)	-	21
1S	-	4 (3,15)	10 (4,85)	-	8 (11,63)	-	22
2-1F	5 (4,93)	6 (7,57)	-	27 (23,09)	7 (7,57)	16 (18,16)	61
2-1S	-	5 (7,57)	10 (11,63)	9 (7,57)	43 (39,52)	25 (27,90)	92
2	-	-	-	22 (18,16)	27 (27,90)	*	49
Σ	8	24	23	67	91	41	254

* não estudado.

3. ALAD (DESIDRATASE AMINOLEVULÍNICA)

Os resultados do estudo da segregação fenotípica no sistema ALAD em 60 famílias (com 250 descendentes) do Noroeste de Portugal estão patentes na Tabela 31.1.

Os resultados da mesma investigação em 185 famílias (543 descendentes) do Sudoeste da República Federal da Alemanha apresentam-se na Tabela 31.2.

Na Tabela 32 encontram-se os resultados combinados dos dois estudos.

Não se encontraram exclusões mãe-filho em ambas as pesquisas.

TABELA 31.1. Sistema ALAD: Segregação dos fenótipos em 60 famílias do N. de Portugal.

Tipo de cruzamento	Número de		Fenótipos da descendência		
	Famílias	Descendentes	1	2-1	1
1 X 1	40	185	185	-	-
1 X 2-1	13	48	26	22	-
1 X 2	2	4	-	4	-
2-1 X 2-1	5	13	4	7	2
TOTAL	60	250	215	33	2

TABELA 31.2. Sistema ALAD: Segregação dos fenótipos em 185 famílias do S.O.da Alemanha.

Tipo de cruzamento	Número de		Fenótipos da descendência		
	Famílias	Descendentes	1	2-1	2
Pai Mãe					
1 X 1	132	403	403	-	-
1 X 2-1	23	68	38	30	-
2-1 X 1	23	55	32	23	-
2-1 X 2-1	6	14	5	7	2
2 X 1	1	3	-	3	-
TOTAL	185	543	478	63	2

TABELA 32. Sistema ALAD: Segregação de fenótipos em 245 famílias (N. de Portugal e S.O. da Alemanha).

Tipo de cruzamento	Número de		Fenótipos da descendência		
	Famílias	Descendences	1	2-1	2
1 X 1	172	588	588	-	-
1 X 2-1	59	171	96 (85,5)	75 (85,5)	-
1 X 2	3	7	-	7	-
2-1 X 2-1	11	27	9 (6,75)	14 (13,50)	4 (6,75)
TOTAL	245	793	693	96	4

C. Ligação factorial

1.PGP (FOSFATASE FOSFOGLICÓLICA)

Estudaram-se as relações de ligação entre PGP e vinte e seis outros sistemas genéticos em cento e uma famílias do Sudoeste da República Federal da Alemanha.

Os resultados encontram-se sumariados na Tabela 33.

2. ALAD (DESIDRATASE AMINOLEVULÍNICA)

Investigaram-se cento e oitenta e cinco famílias do Sudoeste da República Federal da Alemanha quanto às relações de ligação entre ALAD e trinta e três outros sistemas genéticos.

A mesma pesquisa foi realizada em sessenta famílias do Noroeste de Portugal.

Na Tabela 34 encontram-se os "lod scores" combinados das duas investigações.

TABELA 33. Análise de ligação entre PGP e 26 outros sistemas genéticos.

Sistema	Número de		"lod scores" para θ				
genético	Famílias	Descenden.	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4
ABO	9	31	-4,352	-2,130	-0,459	0,019	0,048
MNSs	13	28	-0,528	0,229	0,530	0,356	0,111
K	1	3	0,533	0,465	0,318	0,170	0,049
Fy	9	25	-2,469	-1,053	-0,016	0,119	0,057
Jk	8	18	-0,873	-0,257	0,088	0,092	0,031
Rh	12	31	-1,655	-0,408	0,326	0,307	0,108
Gm	13	36	-3,786	-1,824	-0,012	0,377	0,238
Inv	3	14	-1,813	-0,840	-0,025	-0,059	0,039
HLA	15	43	-8,274	-4,673	-1,677	-0,570	-0,097
Gc	2	5	0,791	0,680	0,452	0,234	0,066
HP	9	23	-3,277	-1,769	-0,578	-0,158	-0,025
BF	5	15	-1,115	-0,437	0,004	0,071	0,029
ACP1	10	24	-4,994	-2,906	-1,154	-0,415	-0,092
AK	3	7	-2,163	-1,332	-0,582	-0,228	-0,054
ADA	3	14	-3,348	-2,004	-0,388	-0,314	-0,072
GALT	6	14	-1,140	-0,437	0,004	0,070	0,029
GPT	7	24	-4,257	-2,428	-0,906	-0,297	-0,041
GLO	14	38	-7,621	-4,467	-1,792	-0,654	-0,147
ESD	3	7	1,049	0,895	0,586	0,298	0,083
PGM1	10	30	-6,437	-3,793	-1,537	-0,567	-0,128
PGM3	12	29	-4,461	-2,442	-0,832	-0,246	-0,044
PGD	1	3	-0,721	-0,444	-0,194	-0,076	-0,018
GOT2	1	2	-0,721	-0,444	-0,194	-0,076	-0,018
CDA	3	8	-1,184	-0,673	-0,254	-0,088	-0,019
PEPA	1	2	-0,721	-0,444	-0,194	-0,076	-0,018
ME2	1	2	-0,721	-0,444	-0,194	-0,076	-0,018

TABELA 34. Análise de ligação entre ALAD e 33 outros sistemas genéticos: valores de "lod-scores".

"Locus"	informação de segregação*	Fracção de recombinação 0,05	0,10	0,20	0,30	0,40	Número de Famílias	Descend.
ABO	M	-3,554	-2,018	-0,762	-0,261	-0,055	4	18
	P	1,681	1,646	1,264	0,761	0,261	6	16
ACP1	M	-7,398	-4,415	-1,814	-0,663	-0,146	8	28
	P	-5,316	-2,657	-0,680	-0,084	0,018	12	38
ADA	M	0,258	0,215	0,134	0,064	0,017	1	2
	P	-1,185	-0,673	-0,254	-0,087	-0,019	3	7
AK	M	-2,164	-1,331	-0,581	-0,227	-0,053	2	7
	P	0,515	0,430	0,267	0,129	0,034	2	4
AMY2	M	-1,442	-0,887	-0,388	-0,151	-0,035	2	4
	P	-	-	-	-	-	-	-
BF	M	-2,833	-1,574	-0,568	-0,185	-0,038	6	17
	P	-4,276	-2,461	-0,956	-0,337	-0,073	7	20
C3	M	-2,742	-1,302	-0,260	0,015	0,026	6	22
	P	1,288	1,074	0,668	0,322	0,085	5	10
ESD	M	-0,855	-0,221	0,137	0,136	0,047	7	16
	P	-2,370	-1,345	-0,508	-0,174	-0,037	4	13
FUCA	M	-3,606	-2,218	-0,969	-0,379	-0,089	4	11
	P	-1,906	-1,116	-0,448	-0,163	-0,036	4	8
FXIIIA	M	-1,906	-1,116	-0,448	-0,163	-0,036	3	9
	P	-	-	-	-	-	-	-
FY	M	-1,339	-0,486	0,026	0,084	0,031	10	22
	P	-3,091	-1,789	-0,702	-0,250	-0,055	6	16
GC	M	-3,834	-1,698	-0,190	0,150	0,084	12	38
	P	-2,483	-1,083	-0,112	0,101	0,056	9	24
GLO	M	-3,535	-1,982	-0,711	-0,220	-0,040	8	19
	P	-4,172	-2,060	-0,543	-0,101	-0,006	15	37
GM	M	-2,370	-1,345	-0,508	-0,174	-0,037	6	14
	P	-0,670	-0,243	0,013	0,042	0,016	5	10
GOT2	M	-	-	-	-	-	-	-
	P	0,258	0,215	0,134	0,064	0,017	1	2
GPT	M	-2,174	-0,671	0,214	0,262	0,094	14	36
	P	-6,697	-4,007	-1,671	-0,628	-0,143	11	26
GALT	M	-0,927	-0,458	-0,121	-0,023	-0,001	4	9
	P	0,052	0,201	0,207	0,118	0,033	4	8

TABELA 34: (Continuação)

"Locus"	informação de segregação*	Fracção de recombinação 0,05	0,10	0,20	0,30	0,40	Número de Famílias	Descend.
HLA	M	-1,834	-0,880	-0,190	-0,004	0,012	7	17
	P	-4,687	-2,489	-0,810	-0,230	-0,040	12	33
HP	M	-5,926	-2,792	-0,514	0,082	0,079	17	54
	P	-0,855	-0,221	0,137	0,136	0,047	5	15
INV	M	-0,464	-0,229	-0,060	-0,011	-0,001	2	4
	P	-0,721	-0,444	-0,194	-0,076	-0,018	1	2
JK	M	-0,392	0,008	0,198	0,148	0,048	4	11
	P	-6,439	-3,792	-1,538	-0,564	-0,126	10	27
K	M	-0,721	-0,444	-0,194	-0,076	-0,018	1	3
	P	-1,442	-0,887	-0,388	-0,151	-0,035	1	5
ME2	M	-2,112	-1,130	-0,375	-0,110	-0,020	5	16
	P	-2,627	-1,560	-0,642	-0,238	-0,054	5	11
MNSs	M	-4,018	-2,247	-0,823	-0,272	-0,056	10	24
	P	-5,203	-2,919	-1,077	-0,359	-0,074	11	28
PEPA	M	-0,329	-0,045	0,391	0,223	0,066	4	10
	P	0,072	0,237	0,258	0,159	0,049	3	7
PGD	M	-0,721	-0,444	-0,194	-0,076	-0,018	1	3
	P	-	-	-	-	-	-	-
PGM1	M	-8,645	-4,625	-1,465	-0,357	-0,038	18	56
	P	-11,488	-6,898	-2,894	-1,094	-0,250	15	42
PGM3	M	-2,092	-1,095	-0,324	-0,068	-0,005	4	14
	P	-	-	-	-	-	-	-
PGP	M	-1,185	-0,673	-0,254	-0,037	-0,018	3	7
	P	-1,339	-0,486	0,026	0,084	0,031	10	20
PI	M	-2,576	-1,359	-0,435	-0,121	-0,021	9	21
	P	-4,533	-2,676	-1,090	-0,401	-0,090	9	19
Rh	M	-5,512	-3,335	-1,417	-0,541	-0,125	8	22
	P	-1,577	-0,665	-0,057	0,061	0,029	8	18
TF	M	-	-	-	-	-	-	-
	P	-0,464	-0,229	-0,060	-0,011	-0,001	2	4
UMPK	M	0,515	0,430	0,267	0,129	0,034	2	4
	P	0,515	0,430	0,267	0,129	0,034	2	4

* P = Paterna ; M = Materna.

IV. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

De acordo com o primeiro dos objectivos definidos para esta investigação, limitámos a nossa pesquisa a sistemas genéticos bioquímicos demonstráveis em amostras biológicas facilmente obtenîveis.

Assim, apenas foram estudados "loci" expressando-se no sangue humano; este material obedece claramente ao requisito acima: qualquer que seja a idade ou o sexo do dador, por simples punção venosa é simples obter um razoável volume amostral.

Estas características possibilitam a análise genética tradicional, nomeadamente estudos de genética formal e

de ligação factorial por via familiar, ao contrário dos "loci" descritos como geneticamente polimórficos, mas que apenas se expressam em tecidos de muito difícil colheita, ou mesmo limitados a um dos sexos.

Não se determinaram os fenótipos de sistemas plasmáticos nas amostras obtidas a partir do cordão umbilical.

Quanto à redução do trabalho preparativo sobre as mesmas amostras, anterior às determinações electroforéticas, é de referir que este ficou limitado a:

- separação da amostra em três componentes: plasma, glóbulos vermelhos e glóbulos brancos;
- lise celular dos dois últimos e remoção das membranas dos glóbulos vermelhos.

No que respeita aos sistemas plasmáticos, a fase preparativa foi, portanto, praticamente nula, à excepção da semi-purificação da haptoglobina, necessária para a determinação de subtipos; mesmo neste caso, procedeu-se —como adiante se refere— a uma considerável simplificação da técnica descrita originalmente.

Com o crescimento do número de sistemas genéticos mendelianos descritos na nossa espécie, a pesquisa simultânea de um razoável número deles torna-se uma tarefa também economicamente muito dispendiosa. Tendo por certo que a importância do estudo de um número ainda superior ao existente é

evidente, este factor, mantendo os actuais custos de fenotipagem, pode tornar-se limitante.

Assim sendo, outro objectivo deste trabalho foi, em relação aos polimorfismos genéticos previamente descritos, a minimização do peso económico das respectivas técnicas de fenotipagem.

Exceptuando os grupos sanguíneos clássicos ABO e Rh, a electroforese de zona foi a única técnica utilizada para a detecção da variação de base genética.

Esta escolha foi baseada no facto de presentemente nenhuma outra técnica combinar um poder resolvente razoável com um custo intrínseco relativamente baixo.

Eleito este método, o gel de amido foi usado sempre que possível, dado maximizar a possibilidade de estudo de vários sistemas genéticos em uma única electroforese. De facto, as suas propriedades mecânicas, na concentração por nós usada, são quase ideais para o seccionamento longitudinal do gel em várias fatias, sendo cada uma submetida a um método de detecção bioquímico específico. Este factor permite a utilização de uma única electroforese para a detecção de vários sistemas genéticos, mesmo que as respectivas mobilidades sejam coincidentes.

Deste modo, utilizaram-se outras matrizes somente quando o substrato da enzima em estudo era o próprio amido (AMY2) e quando não era possível visualizar mais de um sistema genético por técnica electroforética (C3,GC).

A selecção dos sistemas de tampões a ser usado nas electroforeses obedeceu ao mesmo princípio. Em alguns casos, tampões previamente descritos puderam ser usados sem alterações; muitas vezes, contudo, tiveram de ser modificados, substituindo componentes demasiado dispendiosos, mas mantendo a capacidade resolvente reportada inicialmente.

Finalmente, a detecção bioquímica de enzimas foi também severamente limitada pelos custos dos componentes das misturas de incubação necessárias à respectiva visualização.

Estabeleceu-se, assim, um compromisso entre o peso deste factor limitante e a quantidade de informação que um sistema genético forneceria, em função das respectivas frequências génicas esperadas em populações portuguesas.

Além da minimização dos custos intrínsecos (o preço dos produtos químicos usados) tentou também reduzir-se o número de electroforeses e de preparações de amostras. Por exemplo, para os sistemas eritrocitários, conseguiu-se com uma única preparação de cada amostra e com cinco técnicas electroforéticas, fenotipar catorze sistemas genéticos, onze dos quais polimórficos, incluindo a subtipagem do sistema PGM1.

A única excepção a estas limitações foi feita para a fenotipagem do sistema BF. Este polimorfismo foi estudado em virtude da contiguidade cromossómica GLO/BF. Sendo a

sua determinação fenotípica de preço para nós proibitivo, inicialmente procurou-se apenas fazê-la no Institut für Anthropologie und Humangenetik de Tübingen, sendo a fenotipagem GLO feita no Porto; com a amável oferta de anti-soro por aquele laboratório, foi possível igualmente proceder a algumas determinações no nosso laboratório.

O controlo de qualidade quanto às fenotipagens realizadas na nossa investigação foi feito através de análise familiar ou de pares mãe-filho e pela fenotipagem de amostras-padrão já classificadas em outro laboratório.

Pelo que acaba de ser exposto, é fácil compreender que, embora não constituisse um objectivo fundamental da nossa investigação, a genética populacional foi um produto lateral inevitável da aplicação em larga escala das técnicas electroforéticas.

Consequentemente, iniciaremos a discussão pormenorizada dos resultados ao nível populacional, discutindo-se posteriormente o grau de consecussão dos dois outros objectivos de investigação inicialmente propostos, a saber: a investigação sobre a genética formal das variações encontradas e a pesquisa de ligação factorial.

1. GENÉTICA POPULACIONAL

1.1. ANÁLISE "LOCUS" A "LOCUS"

Faremos inicialmente uma análise sobre cada um dos sistemas genéticos estudados, antes de esboçar uma tentativa de interpretação global dos mesmos, que basearemos, em parte, na análise do desequilíbrio gamético entre dois deles.

a. ABO (GRUPO SANGUÍNEO ABO)

Este sistema genético é o único dos estudados neste trabalho acerca do qual existe um razoável número de resultados publicados sobre diferentes regiões do país.

Na Tabela 35 encontram-se as estimativas de frequências génicas por nós coligidas, bem como as publicadas sobre várias zonas do Norte de Portugal e de regiões espanholas vizinhas.

Em todas as nossas amostras, as distribuições fenotípicas observadas não divergem significativamente das esperadas segundo a lei de Hardy-Weinberg.

As frequências génicas calculadas enquadram-se nas previamente descritas, excepto no caso dos distritos de Vila Real e Bragança, em que encontrámos uma frequência de I^B mais elevada e uma frequência de I^O mais baixa. Excluída esta, não existem heterogeneidades manifestas entre as diferentes amostras.

TABELA 35. Sistema ABO: Frequências gênicas.

Amostra	N	I^A	I^B	I^O	Referências
Distrito do Porto	2444	0,307 (±0,007)	0,054 (±0,003)	0,639 (±0,008)	esta investigação
Idem, recrutas	459	0,333	0,047	0,620	CUNHA (1926)
Cidade do Porto	641	0,317	0,057	0,626	FÂNZERES e MORAIS (1940)
Distrito	2166	0,325	0,061	0,614	Idem
Idem	263	0,300	0,043	0,657	TAMAGNINI (1939)
Douro Litoral	?	0,274	0,045	0,681	LESSA (1956)
Distrito do Porto	367	0,312	0,049	0,639	CUNHA e MORAIS (1959)
Dist.de Braga e V. do Castelo	102	0,307 (±0,036)	0,066 (±0,018)	0,627 (±0,039)	esta investigação

TABELA 35. (Continuação).

Idem	226	0,308	0,058	0,634	TAMAGNINI (1939)
Idem	?	0,312	0,068	0,628	LESSA (1956)
Idem	412	0,308	0,068	0,624	FÂNZERES e MORAIS (1940)
Idem	313	0,322	0,069	0,609	CUNHA e MORAIS (1959)
Vilarinho da Furna	118	0,345	0,052	0,603	MACHADO-CRUZ et al. (1973)
Dist.de Bragança e V.Real	73	0,301 (±0,043)	0,142 (±0,032)	0,557 (±0,049)	esta investigação
Idem	218	0,258	0,079	0,663	TAMAGNINI (1939)
Idem	?	0,320	0,060	0,605	LESSA (1956)
Idem	431	0,311	0,049	0,640	FÂNZERES e MORAIS (1940)

TABELA 35. (Continuação).

Idem	364	0,304	0,071	0,625	CUNHA e MORAIS (1959)
Dist.de Aveiro, Coimbra e Leiria	101	0,287 (±0,034)	0,061 (±0,014)	0,652 (±0,037)	esta investigação
Idem	643	0,302	0,065	0,633	TAMAGNINI (1939)
Idem	587	0,280	0,056	0,664	CUNHA e MORAIS (1959)
Dist.de Viseu, Guarda e C.Branco	151	0,250 (±0,027)	0,065 (±0,014)	0,685 (±0,029)	esta investigação
Idem	488	0,274	0,056	0,670	TAMAGNINI (1939)
Idem	471	0,282	0,068	0,650	CUNHA e MORAIS (1959)
Residentes no dist. do Porto	2874	0,306 (±0,007)	0,056 (±0,003)	0,638 (±0,007)	esta investigação
Galiza	252	0,301	0,059	0,639	GOEDDE et al. (1973)
Meseta Central	1000	0,292	0,065	0,643	Idem

TABELA 36. Sistema ACP1: Frequências génicas.

Amostra	N	ACP1*A	ACP1*B	ACP1*C	Referências
Distrito do Porto	772	0,285 (±0,011)	0,656 (±0,012)	0,059 (±0,006)	esta investigação
Residentes no dist. do Porto	1127	0,281 (±0,009)	0,662 (±0,009)	0,056 (±0,004)	Idem
Beira Litoral	82	0,238 (±0,003)	0,707 (±0,003)	0,055 (±0,01)	Idem
Vilarinho da Furna	116	0,358	0,522	0,121	MACHADO-CRUZ et al. (1973)
Ilha das Flores (Açores)	166	0,319	0,602	0,078	AMORIM et al. (1979)
Galiza	253	0,298	0,666	0,036	GOEDDE et al. (1972)
Meseta Central	190	0,324	0,624	0,053	Idem

Parece-nos de qualquer modo de salientar que, no contexto da Península Ibérica e da Europa em geral, os nossos resultados confirmam para o Noroeste de Portugal diminuição da frequência de I^B em relação às populações não Bascas,com claras similitudes com a região Galaica.

b. ACP1 (FOSFATASE ÁCIDA 1)

Neste sistema não dispomos de resultados publicados permitindo comparações regionais, e o tamanho das nossas amostras, à excepção do distrito do Porto, não é, de momento, suficiente.

Na Tabela 36 encontram-se as frequências génicas por nós verificadas em amostras de indivíduos naturais e residentes no distrito do Porto e de indivíduos naturais da Beira Litoral, comparadas com outros resultados publicados.

Nas amostras referidas as distribuições fenotípicas observadas não divergem significativamente das esperadas segundo a lei de Hardy-Weinberg.

Tal como no sistema ABO, o Noroeste de Portugal parece apresentar semelhanças nítidas com a Galiza ; quando comparadas com regiões europeias vizinhas, evidenciam frequências do alelo B mais elevadas, sendo inferiores as do gene A.

É importante sublinhar que o único indivíduo portador de um fenótipo diferente dos seis comuns detectados nesta amostragem, provável portador do alelo R (pela mobilidade

demonstrada pelo produto génico), era natural de África.

Não foi possível demonstrar a transmissão do referido produto génico, visto que apenas o pai do citado indivíduo (de fenótipo comum) foi acessível à amostragem.

c. ADA (DESAMINASE DE ADENOSINA)

Quanto a este polimorfismo, os únicos resultados publicados até à data sobre Portugal são sobre um pequeno isolado, actualmente inexistente, e sobre uma amostra heterogénea compreendendo colheitas efectuadas nas cidades de Lisboa e Faro.

A nossa amostra compreende apenas indivíduos residentes no distrito do Porto, sendo a distribuição fenotípica observada não significativamente divergente da esperada segundo a lei de Hardy-Weinberg.

Na Tabela 37 encontram-se as frequências génicas calculadas nesta amostra comparadas com as previamente publicadas sobre Portugal e regiões vizinhas de Espanha.

Dadas as limitações referidas não é possível concluir mais de que a região estudada apresenta frequências génicas idênticas às anteriormente descritas no continente Europeu, encontrando-se os valores verificados no distrito do Porto numa situação intermédia em relação aos publicados para a Galiza e para a Meseta Central, sendo praticamente coincidentes com os encontrados na referida amostra das regiões Centro e Sul de Portugal.

TABELA 37. Sistema ADA: Frequências gênicas.

Amostra	N	ADA*1	Referências
Distrito do Porto	494	0,964 (±0,007)	esta investigação
Vilarinho da Furna	119	0,929	MACHADO-CRUZ et al.(1973)
Lisboa + Faro	569	0,945	WEISSMANN et al.(1980)
Galiza	249	0,978	GOEDDE et al. (1972)
Meseta Central	160	0,966	Idem

TABELA 38. Sistema AK1:Frequências gênicas.

Amostra	N	AK1*1	AK1*2	AK1*3	Referências
Residentes no dist. do Porto	476	0,988 (±0,004)	0,011 (±0,003)	0,001 (±0,001)	esta investigação
Vilarinho da Furna	118	0,953	0,047	-	MACHADO-CRUZ et al. (1973)
Galiza	249	0,978	0,022	-	GOEDDE et al.(1972)
Meseta Central	203	0,961	0,039	-	Idem

d. AK1 (CINASE ADENÍLICA 1)

Os resultados publicados sobre este sistema genético são ainda mais escassos: desconhecemos qualquer publicação anterior sobre este polimorfismo em Portugal, além da já referida sobre o antigo isolado de Vilarinho da Furna.

As frequências génicas calculadas na nossa amostra, compreendendo residentes no distrito do Porto, comparadas com os resultados acima referidos e com os de duas regiões espanholas, encontram-se na Tabela 38.

Estes resultados, embora escassos, parecem substanciar a conclusão de que na Península Ibérica a frequência do alelo AK1*2 apresentará o seu valor mais baixo na região Noroeste, encontrando-se na nossa amostra mesmo no limite das proporções polimórficas (0,011±0,003), sendo um dos mais baixos descritos para a Europa (excluída a região da Península Escandinava).

Deve também sublinhar-se a presença de um produto génico de mobilidade idêntica à descrita para o alelo AK1*3 em um indivíduo heterozigótico, natural do distrito de Viana do Castelo.

e. ALAD (DESIDRATASE AMINOLEVULÍNICA, E.C.4.2.1.24)

As distribuições fenotípicas observadas nas amostras por nós estudadas estão de acordo com as esperadas segundo a lei de Hardy-Weinberg.

TABELA 39. Sistema ALAD: Frequências génicas.

Amostra	N	ALAD*1	Referências
Distrito do Porto	456	0,904 (±0,009)	esta investigação
Roma (Itália)	798	0,890 (±0,01)	BATTISTUZZI et al. (1981)
S.O. da Alemanha	370	0,919 (±0,010)	esta investigação

TABELA 40. Sistema AMY2: Frequências génicas.

Amostra	N	AMY2*1	AMY2*2	AMY2*3	Referências
Distrito do Porto	862	0,964 (±0,004)	0,035 (±0,004)	0,001 (±0,001)	esta investigação
Beira Interior	111	0,968 (±0,012)	0,032 (±0,012)	-	Idem
S.O. da Alemanha	2594	0,951	0,048	0,0006	KÖMPF et al.(1979)

As frequências génicas nelas calculadas, bem como as publicadas até ao momento , encontram-se na Tabela 39.

Dado o pequeno número de resultados até agora disponíveis, é ainda muito cedo para avaliar a importância genético-demográfica deste polimorfismo.

f. AMY2 (α-AMILASE 2 PANCREÁTICA)

Para as determinações fenotípicas neste sistema usou-se uma técnica permitindo distinguir os três fenótipos comuns descritos por KAMARÝT e LAXOVÁ (1965) e KÖMPF et al. (1979). Infelizmente, a maioria dos autores utiliza um método de fenotipagem diferente, em que se identificam apenas dois, sendo portanto a dominância o modo de transmissão aparente (HARRIS e HOPKINSON, 1976).

Deste modo, as frequências génicas encontradas na nossa pesquisa são comparadas apenas com as publicadas por KÖMPF et al. (1979) na Tabela 40.

Parece poder concluir-se que no distrito do Porto, e talvez de um modo geral no Norte de Portugal, o alelo 2 apresenta frequências génicas inferiores às verificadas no Sudoeste da Alemanha; de facto, em outra amostra dos distritos de Viseu, Guarda e Castelo Branco o valor da frequência de AMY2*2 é também de 0,03.

É de referir a ocorrência de um dos alelos raros descritos por KÖMPF et al. (1979)- AMY2*3 -, em um indivíduo

heterozigótico que o recebeu de sua mãe, também heterozigótica 3-1, ambos nascidos e residentes no Porto.

g. BF (FACTOR B DA PROPERDINA)

Neste sistema estudámos apenas, por razões atrás referidas, uma pequena amostra de residentes no distrito do

TABELA 41. Sistema BF: Frequências génicas.

Amostra	N	F	S	Fv	Sv	Referências
Residentes no distri. do Porto	225	0,300 (±0,021)	0,673 (±0,022)	0,009 (±0,004)	0,018 (±0,006)	esta investigação
Lisboa e Faro	456	0,2775	0,6535	0,0427	0,0263	WEISSMANN e REUTER (1981)
N. Itália	431	0,2049	0,7675	0,0139	0,0127	SCHERZ et al. (1982)
S. Itália	161	0,2360	0,7050	0,0217	0,0373	Idem
Madrid (Espanha)	330	0,266	0,658	0,052	0,022	RODRIGUEZ-CÓRDOBA et al.(1981)

Porto. A distribuição fenotípica encontrada não diverge significativamente da esperada segundo a lei de Hardy- Weinberg.

Na Tabela 41 encontram-se as frequências génicas calculadas nesta amostra, bem como em outras populações europeias.

Este polimorfismo apresenta em Portugal frequências génicas bem distintas das até agora descritas para o resto da Europa. De facto, na nossa amostra, BF*F tem a frequência mais elevada até agora descrita neste continente (0,30± ± 0,02). Este resultado confirma o anteriormente publicado sobre uma amostra heterogénea, composta por indivíduos do Centro e Sul do país, em que se revelaram também frequências de BF*F mais elevadas e de BF*S mais baixas do que nas populações europeias até agora estudadas. Assim, o aumento da frequência de BF*F não parece restringir-se às populações mediterrânicas, quando comparadas com o Norte da Europa; de facto, os resultados conhecidos sobre a Península Ibérica apresentam valores ainda mais elevados para aquela frequência alélica.

No que concerne aos alelos raros, pelo contrário, a nossa amostra não evidencia as elevadas frequências encontradas quer nas amostras mediterrânicas, quer nas da Península Ibérica, aproximando-se muito o seu valor dos encontrados nas restantes populações europeias; o número de indivíduos estudados é, porém, muito pequeno para podermos estabelecer este facto com suficiente generalidade.

h. C3 (3º COMPONENTE DO COMPLEMENTO)

As frequências génicas observadas nas nossas amostras estão comparadas com as publicadas sobre Portugal e Espanha na Tabela 42. As distribuições fenotípicas verificadas

TABELA 42. Sistema C3: Frequências génicas.

Amostra	N	C3*F	C3*S	C3*s	Referências
Distrito do Porto	308	0,146 (±0,014)	0,849 (±0,014)	0,005 (±0,003)	esta investigação
Residentes no distrito do Porto	432	0,164 (±0,013)	0,828 (±0,013)	0,008 (±0,003)	Idem
Faro e Lisboa	421	0,202	0,798	*	WEISSMANN e REUTER (1982)
Galiza	252	0,208	0,789	0,008	GOEDDE et al. (1973)
Meseta Central	219	0,224	0,772	0,002	Idem

* Os autores mencionam 5 variantes não especificadas

não divergem significativamente das esperadas segundo a lei de Hardy-Weinberg.

Os nossos resultados evidenciam uma muito baixa frequência do alelo F, quando comparada com os previamente publicados sobre a Península Ibérica e outras populações europeias. Por outro lado, a amostragem feita por WEISSMANN e REUTER (1982) em Lisboa e Faro demonstrou um acentuado desvio (χ^2=15,06) em relação às proporções esperadas, devido a uma deficiência de heterozigóticos.

Portanto, parece legítimo concluir que este polimorfismo terá para Portugal grande importância genético-demográfica, especialmente para análise de heterogeneidades regionais : quanto aos alelos comuns, F e S, a frequência do primeiro parece variar entre 0,15±0,01 no distrito do Porto e 0,20 no Centro/Sul do país. Importante é também sublinhar que, incluíndo na amostra do distrito do Porto todos os nele residentes, a frequência do alelo referido eleva-se para 0,16±0,01. Quanto às regiões vizinhas de Espanha, a Galiza apresenta também para este alelo uma frequência inferior (0,208) à verificada na Meseta Central (0,224), corroborando a tendência observada em Portugal.

No que respeita às variantes raras, encontrámos um produto génico de mobilidade inferior à do gene S, provavelmente idêntico ao mencionado por GOEDDE et al.(1973) como S0,5 na Galiza. Esta variante, cujo alelismo pôde ser confirmado em duas famílias, ocorreu em indivíduos nascidos nos

distritos do Porto (3 em 308), de Braga (3 em 22) e da Guarda (o único fenotipado com esta naturalidade). A frequência génica deste alelo está no limite das proporções polimórficas (0,008±0,003), o que , a confirmar-se em amostras de efectivo mais elevado, contribuirá também para a importância genético-demográfica deste polimorfismo.

i. DIA1 (DIAFORASE 1)

Ainda que não polimórfico, este sistema é aqui mencionado, uma vez que a sua visualização foi feita em qualquer dos métodos de detecção por coloração "negativa" (UMPK, AK, GPT) e, tendo-se verificado o aparecimento de uma variante, o seu registo fenotípico passou a fazer-se por rotina.

Na Tabela 43 compara-se a frequência génica encontrada com as verificadas no Sudoeste da R.F.A..

TABELA 43. Sistema DIA1: Frequências génicas.

Amostra	N	DIA1*2	DIA1*3	Referências
Distrito do Porto	696	0,001 (±0,001)	-	esta investigação
S.O.da Alemanha	725	0,002	0,001	TARIVERDIAN et al. (1970)

Os nossos resultados são idênticos aos verificados nesta última amostra, e estão, portanto, em desacordo com a afirmação de HARRIS e HOPKINSON (1976) de que "a frequência total de heterozigóticos situa-se na região de 1% na maioria das populações estudadas até à data".

A variação electroforética neste sistema é, por conseguinte, de magnitude e importância muito reduzidas, parecendo resultar de fenómenos mutacionais recentes, sem impacto populacional apreciável.

j. ESD (ESTERASE D)

As frequências génicas calculadas na nossa amostra encontram-se na Tabela 44, onde são comparadas com outros resultados publicados sobre a Península Ibérica (Galiza).

Os desvios entre os valores fenotípicos observados nas amostras por nós estudadas e os esperados são insignificantes.

O facto mais notável a referir quanto à genética populacional deste polimorfismo em Portugal é a elevada frequência do alelo 2, em todas as amostras estudadas, contando-se entre as mais elevadas até agora descritas em populações europeias.

O tamanho das amostras analisadas fora do distrito do Porto não permite, por enquanto, a extracção de conclusões definitivas, mas os resultados disponíveis parecem indi

TABELA 44. Sistema ESD: Frequências gênicas.

Amostra	N	ESD*2	Referências
Distrito do Porto	1141	0,166 (±0,008)	esta investigação
Residentes no distrito do Porto	1416	0,165 (±0,006)	Idem
Minho	66	0,182 (±0,034)	Idem
Beira Litoral	58	0,172 (±0,035)	Idem
Trás-os-Montes	51	0,128 (±0,033)	Idem
Beira Litoral	123	0,150 (±0,023)	Idem
Galiza	543	0,109	CAEIRO et al.(1982)

car que, de um modo geral, todo o Norte de Portugal apresenta para o alelo 2 frequências muito elevadas.

Este facto é relativamente surpreendente, tanto mais que na amostra estudada por CAEIRO et al.(1982) na Galiza, se verifica um valor muito inferior. Deste modo, este polimorfismo parece merecer um estudo mais aprofundado a fim de confirmar o seu poder informativo na genética populacional do Noroeste da Península Ibérica.

k. GC (PROTEÍNA ESPECÍFICA DE GRUPO)

As frequências génicas resultantes deste estudo encontram-se na Tabela 45 onde se comparam com outras publicadas sobre a Península Ibérica.

A distribuição fenotípica observada em uma amostra de indivíduos residentes no distrito do Porto mostrou divergir significativamente em relação à esperada segundo a lei de Hardy-Weinberg.

Inicialmente procurou-se atribuir este desvio a factores de ordem técnica conducentes a uma deficiente fenotipagem.

O estudo da segregação fenotípica em cinquenta e cinco famílias nucleares, com cento e cinquenta e dois descendentes não demonstrou, contudo, desvios significativos em relação às proporções esperadas.

Também a utilização de uma técnica distinta - focagem isoeléctrica em gel de poliacrilamida (PAG plates,LKB)

TABELA 45. Sistema GC: Frequências gênicas.

Amostra	N	GC*1	Referências
Distrito do Porto	228	0,711 (±0,02)	esta investigação
Residentes no distrito do Porto	407	0,705 (±0,01)	Idem
Beira Interior	58	0,629 (±0,04)	Idem
N.de Portugal	1500	0,712	TORRINHA (1969)
Vilarinho da Furna	112	0,772	MACHADO-CRUZ et al. (1973)
Faro e Lisboa	1000	0,715	WEISSMANN e REUTER (1982)
Galiza	241	0,641	GOEDDE et al.(1973)
Meseta Central	187	0,775	Idem
Galiza	500	0,695 (±0,15)	CAEIRO (1982)

nas condições recomendadas pelo fabricante - revelou o mesmo desequilíbrio. Os resultados correspondentes a estas duas investigações encontram-se no Apêndice 2.

Consequentemente, pareceu-nos legítimo não basear a explicação dos desvios acima mencionados em factores de ordem técnica, mas na própria estrutura genética da população de que retirámos aquela amostra.

A heterogeneidade genética parece confirmar-se como hipótese explicativa, visto que, quando considerados apenas os indivíduos nascidos e residentes no distrito do Porto, a distribuição fenotípica resultante não se mostrava já significativamente divergente da esperada. Por outro lado, não só uma pequena amostra da região da Beira Interior evidencia frequências génicas muito distintas como, no único resultado publicado previamente sobre o distrito do Porto, se verifica também um considerável desvio em relação às proporções esperadas em equilíbrio. Neste trabalho (TORRINHA, 1969), as frequências génicas verificadas são praticamente as mesmas que as encontradas no nosso estudo; o autor não procedeu à verificação do acordo dos resultados observados com os esperados, mas, baseando-nos nos resultados fornecidos (tamanho da amostra e frequência de cada fenótipo), foi possível realizar o cálculo de $\chi^2=29,41$ (1 grau de liberdade, $P<0,001$).

A heterogeneidade genético-demográfica da Península Ibérica quanto a este polimorfismo pode ainda ser comprovada pelos factos seguintes:

i. encontram-se publicados dois estudos sobre a população galega: o de GOEDDE et al.(1973) e o de CAEIRO(1982); no primeiro verificam-se, tal como no nosso estudo e no de TORRINHA (1969), desvios significativos entre as distribuições fenotípicas observadas e esperadas ($0,01>P>0,05$); no segundo, em que o autor amostrou apenas indivíduos galegos e com antepassados também autóctones até pelo menos duas gerações, o acordo é satisfatório ($0,70<P<0,80$).

ii. As frequências génicas até agora descritas em várias populações da Península Ibérica são bastante divergentes: GC*1 varia entre 0,62 na Andaluzia e 0,78 na Meseta Central.

Em consequência, parece-nos fortuito o aparente acordo com as condições de equilíbrio verificado por WEISSMANN e REUTER (1982) em uma amostra compreendendo indivíduos das regiões Centro e Sul do país (Lisboa e Faro).

Os problemas levantados pela heterogeneidade geográfica evidenciada neste polimorfismo reclamam claramente uma extensão do espaço amostral, mas supomos que a subtipagem recentemente introduzida neste sistema permitirá interpretar melhor as diferenças observadas.

1. GLO (GLIOXALASE I)

A distribuição fenotípica observada em uma amostra de indivíduos residentes no distrito do Porto não diverge si-

TABELA 46. Sistema GLO: Frequências génicas.

Amostra	N	GLO*1	Referências
Distrito do Porto	987	0,436 (±0,01)	esta investigação
Lisboa e Faro	1000	0,463	WEISSMANN e PRIBILLA (1981)
Espanha	100	0,416	LOPEZ-LARREA et al. (1981)
Idem	97	0,448	BUSI et al. (1979)

gnificativamente da esperada. As frequências génicas calculadas encontram-se na Tabela 46, onde se comparam com outros resultados publicados sobre Portugal e Espanha.

As frequências génicas encontradas nesta amostra (GLO*1=0,44±0,01) situam-se no intervalo de variação definido pelos únicos resultados divulgados até à data sobre Portugal (0,46) e sobre Espanha (0,42 e 0,45) bem como, de uma maneira geral, sobre a Europa.

m. GOT2 (TRANSAMINASE GLUTÂMICO-OXALOACÉTICA 2)

As frequências génicas calculadas em uma amostra de residentes no distrito do Porto encontram-se na Tabela 47, comparando-se-lhes as referidas em publicações anteriores.

Dada a inexistência de trabalhos publicados sobre a genética populacional deste polimorfismo na Península Ibérica os nossos resultados não podem ser comparados com os de qualquer outra população geograficamente vizinha, sendo contudo de assinalar que, à semelhança das restantes populações europeias, se confirma a relativa raridade do alelo 2 (0,021± ±0,004).

Em dois indivíduos sem parentesco próximo e naturais dos distritos do Porto e de Vila Real, encontrou-se uma variante catodal em relação ao produto do alelo 1. A transmissão genética desta variante não pôde ser confirmada por estudos familiares.

Sendo este produto génico o mesmo encontrado em proporções polimórficas em populações africanas (GOT2*3) por HACKEL et al.(1972) a sua ocorrência traduziria, portanto, influência africana na região estudada.

Temos, contudo, de sublinhar que, mesmo assumindo esta identidade, a sua raridade (frequência génica 0,002± ±0,001) não permite avaliar, desde já, a importância daquela influência nem a antiguidade da sua eventual introdução no país.

Só o alargamento amostral e geográfico da pesqui

TABELA 47. Sistema GOT2: Frequências gênicas.

Amostra	N	GOT2*1	GOT2*2	GOT2*3	Referências
Residentes no distrito do Porto	543	0,977 (±0,004)	0,021 (±0,004)	0,002 (±0,001)	esta investigação
SO da Alemanha	640	0,981 (±0,003)	0,019 (±0,003)	-	RITTER e KÖMPF (1979)
"Europeus"	-	0,98	0,02	-	HARRIS e HOPKINSON (1976)
"Africanos"	-	0,92	0,01	0,07	Idem

TABELA 48. Sistema GPT: Frequências gênicas.

Amostra	N	GPT*1	GPT*2	GPT*1M	GPT*3	Referências
Distrito do Porto	796	0,483 (±0,01)	0,507 (±0,01)	0,009 (±0,002)	0,001 (±0,0009)	esta investigação
Espanha	184	0,505	0,495	-	-	BRINKMANN et al. (1977)
SO da Alemanha	1139	0,499	0,469	0,022	0,002	KÖMPF e RITTER (1979)

sa no nosso país e em Espanha permitirão responder com segurança a esta questão.

n. GPT (TRANSAMINASE GLUTÂMICO-PIRÚVICA)

Estudou-se quanto a este polimorfismo uma amostra constituída por indivíduos nascidos no distrito do Porto; a distribuição fenotípica nela observada mostrou razoável acordo com a esperada segundo a lei de Hardy-Weinberg.

As frequências génicas correspondentes encontram-se na Tabela 48, juntamente com os resultados de outras pesquisas populacionais previamente publicados.

O facto mais saliente a extrair da análise da referida tabela é a alta frequência do alelo 2 no distrito do Porto - uma das mais elevadas descritas até hoje. Contrariamente ao que se verifica na maioria das populações europeias, GPT*2 é mais comum que o seu alelo GPT*1.

Verifica-se assim, quanto a este sistema, uma situação inversa da sugerida pelo "locus" anterior (GOT2): a possível influência africana produziria exactamente o efeito oposto, dado que, nas populações deste continente estudadas até à data, GPT*1 é ainda mais frequente que na Europa. Este aumento da frequência de GPT*2 em relação aos valores europeus mais comuns não será exclusivo sequer desta região de Portugal, uma vez que o único resultado publicado sobre Espanha de que temos conhecimento, também é demonstrativo do mesmo aumento relativo.

Estas conclusões devem, contudo, ser emitidas sob certa reserva, visto que a capacidade de detecção do produto génico 1M é variável com o método de visualização utilizado, sendo o mais comummente referido na literatura nitidamente inferior ao utilizado por KÖMPF e RITTER (1979). De facto, o chamado alelo Marburg, diferindo apenas do alelo 1 "normal" quanto à sua actividade, é unicamente identificável sem ambiguidade por métodos não quantitativos, em indivíduos heterozigóticos para este alelo e para outro, cujo produto génico tenha diferente mobilidade.

Na nossa pesquisa confirmámos a ocorrência deste alelo em proporções pelo menos quase polimórficas (0,009 ±0,002), tal como foi assinalado pelos referidos autores no Sudoeste da R.F.A..

Além destes, foi ainda encontrado um outro gene, GPT*3, em dois indivíduos heterozigóticos do distrito do Porto. O seu alelismo em relação aos genes comuns pôde ser investigado na família de um deles, observando-se a sua transmissão a um dos descendentes.

Por outro lado, dada a apreciável variação da actividade enzimática dos indivíduos de fenótipo 1, o alelo GPT*0 deve ocorrer também nesta população, mas não tendo sido detectada até ao momento nenhuma exclusão mãe-filho por homozigotia oposta é impossível, por enquanto, apresentar uma estimativa da sua frequência.

o. HP (HAPTOGLOBINA)

Neste sistema foi possível estudar, quanto à distribuição dos fenótipos comuns, várias regiões do Norte de Portugal; exceptuando os casos das pequenas amostras relativas à Beira Interior e ao Minho, os resultados observados são muito próximos dos esperados de acordo com a lei de Hardy-Weinberg.

As frequências génicas correspondentes, bem como as publicadas prèviamente sobre as mesmas ou vizinhas regiões geográficas, encontram-se na Tabela 49.

Quanto à amostragem efectuada no distrito do Porto, as frequencias génicas encontradas sao pràticamente as mesmas que TORRINHA (1 9 6 7) publicou como representativas do Norte de Portugal (HP*1=0,40). Porém, as nossas estimativas correspondentes a regiões do Interior do país são claramente divergentes, aproximando-se dos valores publicados para o Centro e Sul do país e para o Noroeste de Espanha, em que HP*1 oscila entre 0,42 e 0,45.

Como em outros polimorfismos atrás referidos, parece existir apreciável heterogeneidade na distribuição das frequências génicas no nosso país, mas os efectivos das amostras até agora estudadas não permitem garantir inequivocamente esta conclusão e muito menos são suficientes para que se esboce um mapa regional genético-demográfico com precisão.

As mesmas limitações aplicam-se, infelizmente, ain

TABELA 49. Sistema HP: Frequências génicas.

Amostra	N	HP*1	Referências
Distrito do Porto	1379	0,404 (±0,009)	esta investigação
Beira Litoral	100	0,405 (±0,03)	Idem
Minho	101	0,406 (±0,03)	Idem
Beira Interior	150	0,423 (±0,02)	Idem
Trás-os-Montes	71	0,493 (±0,04)	Idem
N. de Portugal	1000	0,394	TORRINHA (1967)
Vilarinho da Furna	117	0,295	MACHADO-CRUZ et al. (1973)
Lisboa e Faro	1000	0,430	WEISSMANN e REUTER (1982)
Galiza	500	0,451	CAEIRO (1982)
Idem	231	0,429	GOEDDE et al.(1973)

da com maior premência, à análise da distribuição dos subtipos de HP*1.

Neste caso não conhecemos mais nenhum estudo publicado sobre a Península Ibérica e, por conseguinte, a única comparação que efectuámos em relação às frequências génicas verificadas no distrito do Porto foi feita com outra amostra que investigámos no Sudoeste da R.F.A. (Tabela 50).

Em ambos os casos, os valores observados não divergem significativamente dos esperados. Embora tivéssemos observado uma maior proporção HP*1F/HP*1 nos residentes no distrito do Porto (0,44) quando comparados com o Sudoeste da R.F.A. (0,42), o efectivo das amostras estudadas leva-nos a considerar ser prematuro dar por estabelecida esta diferença; por outro lado, os problemas de subtipagem - que referiremos na secção deste capítulo dedicada à genética formal dos subtipos de HP*1 - impõe-nos ainda maior prudência na análise destes resultados.

p. ME2 (ENZIMA MÁLICA 2 MITOCONDRIAL)

A distribuição fenotípica encontrada para este polimorfismo, numa amostra de naturais e residentes no distrito do Porto, não difere significativamente da esperada segundo a lei de Hardy-Weinberg.

As frequências génicas calculadas nesta amostra encontram-se na Tabela 51, onde são comparadas com resultados prèviamente publicados sobre o Sudoeste da R.F.A..

Este sistema genético foi, por enquanto, submeti

TABELA 50. Subtipos de HP*1: Frequências gênicas.

Amostra	N	HP*1F	HP*1S	HP*1F:HP*1	Referências
Distrito do Porto	223	0,179 (±0,02)	0,224 (±0,02)	0,444	esta investigação
SO da Alemanha	418			0,416	Idem

TABELA 51. Sistema ME2: Frequências gênicas.

Amostra	N	ME2*1	Referências
Distrito do Porto	294	0,605 (±0,02)	esta investigação
SO da Alemanha	184	0,67	SIEBERT et al.(1979)

TABELA 52. Sistema PGD: Frequências gênicas.

Amostra	N	PGD*A	Referências
Distrito do Porto	857	0,996 (±0,001)	esta investigação
Galiza	240	0,975	GOEDDE et al. (1972)
Meseta Central	188	0,984	Idem
Andaluzia	202	0,983	Idem
Bascos	287	0,988	Idem

do a um muito escasso número de pesquisas populacionais. SIEBERT et al. (1979) referem os trabalhos publicados até à data da sua investigação e, desde então, não temos conhecimento de que se tenham efectuado mais pesquisas genético-demográficas.

A principal dificuldade subjacente à fenotipagem deste sistema reside no problema da obtenção de tecidos apropriados onde o correspondente "locus" se manifeste; esta dificuldade, embora tenha sido removida por aqueles autores - o que é confirmado neste estudo: ME2 é fàcilmente detectável nos glóbulos brancos -, parece ter desencorajado os respectivos estudos populacionais.

Assim sendo, é difícil avaliar o significado do facto de a frequência de ME2*1 verificada na nossa amostra ser a mais baixa até hoje descrita. De qualquer modo, o estudo feito em negros dos EUA (COHEN e OMENN, 1972) permite-nos supôr que este facto não é devido a influência africana, visto que naquela amostra, a frequência de ME2*1 é ainda mais elevada.

q. PGD (DESIDROGENASE DO FOSFOGLUCONATO)

As frequências génicas que resultaram desta investigação encontram-se na Tabela 52, onde são comparadas com outras anteriormente publicadas sobre Espanha.

Os resultados já conhecidos sobre o país vizinho haviam demonstrado grande heterogeneidade regional, considerada mesmo "surpreendente" (ANANTAKRISNAN, 1980). As frequên

cias génicas encontradas na amostra populacional do distrito do Porto reforçam ainda mais esta conclusão.

Com efeito, o alelo comum (PGD*A) é nesta amostra tão frequente que lhe corresponde o valor mais elevado descrito, até hoje, para populações europeias, e não permite considerar o "locus" PGD como polimórfico na população estudada ; além disso o fenómeno parece ser generalizado no nosso país, uma vez que em mais 97 amostras de indivíduos nascidos e residentes fora do distrito do Porto não foram detectadas quaisquer variantes.

Será, evidentemente, necessário prosseguir este estudo em amostras de efectivo mais elevado e provindas de outras regiões do país, mas podemos desde já concluir que este sistema apresentará em Portugal bastante interesse na caracterização das heterogeneidades genético-demográficas referidas, ainda que pelo lado, de certo modo negativo, da raridade das suas variantes.

r. PGM1 (FOSFOGLUCOMUTASE 1)

As distribuições fenotípicas observadas, quer na amostra de naturais e residentes do distrito do Porto, quer na de residentes no mesmo distrito, não divergem significativamente das esperadas.

Contudo, nesta última, o acordo com os resultados calculados segundo o formalismo de Hardy-Weinberg é muito fraco ($0,10 > P > 0,05$) enquanto que na primeira esse acordo é mui

to mais aceitável ($0,90 > P > 0,80$). Este facto faz supôr, portanto, uma considerável heterogeneidade genético-demográfica quanto a este polimorfismo no nosso país.

No que respeita às frequências génicas calculadas - que se descrevem na Tabela 53, em comparação com outros resultados publicados sobre a Península Ibérica - situam-se no intervalo definido pelas encontradas anteriormente sobre esta região e na Europa em geral. Exceptuando o valor encontrado por GOEDDE et al.(1972) na Galiza (0,798), que contrasta com o valor descrito por CARRACEDO e CONCHEIRO (1982) para a mesma região (0,735), a frequência do alelo PGM1*1 é na nossa amostra a mais elevada encontrada na Península Ibérica.

Também em relação a este polimorfismo parece existir uma grande heterogeneidade genético-demográfica na Península Ibérica, de componentes não só puramente geográficas, mas também devidas às complexas estruturas genéticas das populações, como parece poder inferir-se da disparidade de valores das frequências génicas encontradas na mesma região geográfica, conforme o tipo de amostragem efectuado. Estas diferenças foram já referidas nas amostras por nós estudadas, e, quanto à região galaica, relembramos que o estudo de CARRACEDO e CONCHEIRO (1982) resulta de uma amostragem muito restritiva em relação à efectuada por GOEDDE et al.(1972), visto que só foram estudados indivíduos cujos quatro avós fossem naturais da Galiza.

Além dos fenótipos comuns, encontrou-se ainda, em

TABELA 53. Sistema PGM1: Frequências gênicas.

Amostra	N	PGM1*1	Referências
Distrito do Porto	611	0,781 (±0,01)	esta investigação
Residentes no distrito do Porto	996	0,766 (±0,009)	Idem
Vilarinho da Furna	119	0,643	MACHADO-CRUZ et al. (1973)
Galiza	1086	0,735	CARRACEDO e CONCHEIRO (1982)
Idem	233	0,798	GOEDDE et al.(1972)
Meseta Central	213	0,754	Idem

TABELA 54. Sistema PGM1 (subtipos): Frequências gênicas.

Amostra	N	1F	1S	2F	2S	Referências
Distrito do Porto	202	0,213 (±0,02)	0,572 (±0,02)	0,072 (±0,01)	0,143 (±0,02)	esta investigação
Galiza	1086	0,114	0,621	0,054	0,211	CARRACEDO e CONCHEIRO (1982)
S.O. da Alemanha	329	0,175	0,650	0,052	0,123	BISSBORT et al. (1978)

um indivíduo natural de Lisboa, uma variante de mobilidade idêntica à descrita para o produto génico PGM1*7 por HARRIS e HOPKINSON (1976).

Quanto aos subtipos, foi possível apenas fazer a sua determinação em um reduzido número de indivíduos (n=202), pelo que as frequências génicas calculadas - apresentadas e comparadas na Tabela 54 - estão ainda sujeitas a um largo erro amostral, embora a distribuição fenotípica observada não divirja significativamente da esperada.

O estudo comparativo das frequencias génicas no Noroeste da Peninsula Ibérica, tendo por referência o estudo realizado no Sudoeste da R.F.A., revela que os alelos 1F e 2F apresentam na nossa amostra frequências bastante elevadas, ao contrário do que se verifica na população galega em que o alelo 1F é menos comum e o alelo 2S muito frequente.

Deve, entretanto, sublinhar-se que neste mesmo estudo se apresentam, em relação à frequência do alelo 1F, variações distritais consideráveis, com valores endre 0,07 e 0,16.

Assim, os resultados em relação aos subtipos de PGM1 confirmam e reforçam as conclusões já emitidas a propósito dos fenótipos comuns quanto à variabilidade regional das frequências génicas deste polimorfismo na Península Ibérica.

s. PGM2 (FOSFOGLUCOMUTASE 2)

Apenas uma variante foi observada neste sistema genético, em um indivíduo heterozigótico do distrito do Porto.

Em consequência, a estimativa da frequência génica correspondente (0,0005) está de acordo com a raridade das variantes deste "locus" nas populações europeias, nomeadamente as verificadas por HARRIS e HOPKINSON (1976) em Inglaterra.

t. PGP (FOSFATASE FOSFOGLICÓLICA)

As frequências génicas verificadas nas amostras estudadas são descritas e comparadas com resultados previamente publicados na Tabela 55.

A distribuição fenotípica observada em amostras de indivíduos residentes e naturais do distrito do Porto evidenciou desvios significativos em relação à esperada.

A explicação para este desvio parece encontrar-se nas diferenças verificadas entre as amostragens feitas em recém-nascidos e a restante amostra, bem como no desequilíbrio verificado entre os primeiros. Estes factos levam-nos a supôr um recente influxo génico, a partir de populações com frequências génicas significativamente distintas das prevalentes na população inicial, provavelmente devido à recente migração proveniente das ex-colónias portuguesas.

TABELA 55. Sistema PGP: Frequências génicas.

Amostra	N	PGP*1	PGP*2	PGP*3	Referências
Recém-nascidos no distrito do Porto	370	0,905 (±0,01)	0,054 (±0,08)	0,041 (±0,007)	esta investigação
Adultos do distrito do Porto	545	0,910 (±0,008)	0,062 (±0,007)	0,028 (±0,005)	Idem
Distrito do Porto	915	0,908 (±0,006)	0,059 (±0,005)	0,033 (±0,004)	Idem
Adultos residentes no distrito do Porto	678	0,905 (±0,007)	0,064 (±0,006)	0,031 (±0,005)	Idem
SO da Alemanha	554	0,87	0,10	0,03	Idem
"Europeus"	656	0,826	0,129	0,045	BARKER e HOPKINSON (1978)

A escassez de resultados sobre a genética populacional deste sistema e a sua total ausência sobre a África não mediterrânica impedem-nos de confirmar indirectamente esta hipótese.

TABELA 56. Sistema Rh (factor D): Frequências gênicas.

Amostra	N	D	Referências
Distrito do Porto	1280	0,581 (±0,01)	esta investigação
Idem	?	0,588	LESSA (1956)
N. de Portugal	4095	0,590	SÁ (1962)
Minho	96	0,632 (±0,04)	esta investigação
Idem	?	0,728	LESSA (1956)
Vilarinho da Furna	116	0,560	MACHADO-CRUZ et al. (1973)
Beira Litoral	97	0,535 (±0,04)	esta investigação
Coimbra	529	0,614	CUNHA e MORAIS (1959)
Trás-os-Montes	?	0,774	LESSA (1956)
Idem	71	0,644 (±0,05)	esta investigação
Beira Interior	146	0,603 (±0,03)	Idem

Pode, no entanto, desde já assinalar-se a baixa frequência do alelo PGP*2 verificada no distrito do Porto , quando comparada com a descrita por BARKER e HOPKINSON (1978) e mesmo com a verificada no Sudoeste da R.F.A..

u. Rh (factor D) (GRUPO SANGUÍNEO RHESUS)

As frequências génicas calculadas na nossa investigação encontram-se na Tabela 56, onde são comparadas com as obtidas em anteriores estudos sobre populações portuguesas.

Os nossos resultados confirmam a alta frequência do alelo d no distrito do Porto, e, de um modo geral, em todo o litoral Norte. As diferenças observadas entre as regiões estudadas neste trabalho são coincidentes com as previamente publicadas, merecendo especial referência o facto de o valor mais baixo para a referida frequência génica ter sido observada na região Nordeste do país, tanto na nossa investigação como na de LESSA (1956).

v. SOD1 (DISMUTASE DO SUPERÓXIDO 1)

Este sistema genético, apesar de monomórfico, foi estudado pelas razões já referidas a propósito de DIA1.

As estimativas das frequências génicas por nós calculadas encontram-se na Tabela 57, onde são comparadas com outros resultados obtidos em populações europeias.

TABELA 57. Sistema SOD1: Frequências gênicas.

Amostra	N	SOD1*2	Referências
Distrito do Porto	1040	0,001 (±0,0006)	esta investigação
Lisboa e Faro	571	0,000	WEISSMANN et al. (1980)
SO da Alemanha	4100	0,0007	RITTER e WENDT (1971)

TABELA 58. Sistema TF: Frequências gênicas.

Amostra	N	TF*C	Referências
Distrito do Porto	347	0,997 (±0,002)	esta investigação
Residentes no distrito do Porto	667	0,995 (±0,002)	Idem
Lisboa e Faro	1000	1,000	WEISSMANN e REUTER (1982)
Vilarinho da Furna	?	1,000	MACHADO-CRUZ et al. (1973)
Galiza	500	0,990 (±0,003)	CAEIRO (1982)
Idem	251	0,990	GOEDDE et al. (1973)

Ao contrário da ausência de variantes reportada por WEISSMANN et al.(1980) em uma amostra do Centro e Sul do país, detectaram-se dois indivíduos heterozigóticos 2-1 na nossa investigação, ambos naturais do distrito do Porto, mas sem parentesco próximo A transmissão genética desta variante pôde ser confirmada em um dos casos, verificando-se que o indivíduo em causa recebera o gene SOD1*2 de sua mãe também natural do mesmo distrito, apresentando o pai o fenótipo comum.

A frequência génica encontrada (0,001±0,0006)não diverge da descrita para outras populações europeias, nomeadamente por RITTER e WENDT (1971) em relação ao Sudoeste da R.F.A..

w. TF (TRANSFERRINA)

Este sistema genético, embora monomórfico com o método de fenotipagem utilizado, é também citado, uma vez que foi visualizado sem qualquer técnica especial de detecção, aquando das determinações fenotípicas de C3 ou GC.

As frequências génicas verificadas nesta investigação apresentam-se na Tabela 58, onde são comparadas com outros resultados publicados previamente.

As variantes encontradas - todas do tipo B e em heterozigotia - foram-no em indivíduos dos distritos de Aveiro (1 em 36), do Porto (2 em 347), de Vila Real (1 em 16) ,

de Viseu (1 em 23), bem como em um natural da ilha da Madeira (em 2 com a mesma naturalidade) e em um indivíduo de naturalidade indeterminada (de 44 nas mesmas condições).

Estes factos fazem situar a nossa estimativa da frequência do grupo alélico B no distrito do Porto em uma situação intermédia em relação às previamente publicadas sobre populações portuguesas - em que não foram detectadas variantes - e as verificadas na Galiza, onde tal frequência atinge proporções polimórficas(0,01).

A informação genético-demográfica relativa a este sistema poderá, entretanto, ser substancialmente aumentada com a possibilidade de subtipagem, de que não dispomos presentemente.

x. UMPK (CINASE DO 5' MONOFOSFATO DE URIDINA)

A distribuição fenotípica observada neste polimorfismo está de acordo com os resultados esperados segundo a lei de Hardy-Weinberg.

As frequências génicas calculadas na amostra estudada encontram-se descritas e comparadas com outras anteriormente publicadas na Tabela 59.

Não foram publicados até à data quaisquer resultados de estudos populacionais neste sistema genético em relação à Península Ibérica. Em consequência, da análise da tabela referida, apenas podemos concluir que as frequências génicas encontradas apresentam valores muito próximos dos des-

TABELA 59. Sistema UMPK: Frequências génicas.

Amostra	N	UMPK*2	UMPK*3	Referências
Distrito do Porto	446	0,047 (±0,007)	0,001 (±0,001)	esta investigação
Itália	915	0,028	-	RANZANI et al.(1977)
SO da Alemanha	351	0,051	-	KUHN et al.(1975)

critos para o Sudoeste da R.F.A., e que o alelo UMPK*2 é mais frequente do que na população mediterrânica estudada por RANZANI et al.(1977).

Foi detectado um fenótipo distinto dos comuns, com as mesmas características electroforéticas do referido por GIBLETT et al.(1974) como 3-1, em um indivíduo natural do distrito do Porto. Mesmo admitindo a identidade alélica referida, a sua ocorrência pode ser considerada esporádica e sem interesse genético-demográfico.

A tentativa de análise genético-demográfica, esboçada a partir dos resultados obtidos em cada um dos "loci" estudados isoladamente, foi limitada pela escassez de publicações disponíveis sobre populações vizinhas e pelo reduzido efectivo de algumas amostras investigadas.

Contudo, pensamos que algumas considerações gerais podem, ainda assim, ser formuladas.

Em primeiro lugar, é flagrante a insignificância ou mesmo ausência de vestígios da influência de elementos genéticos não europeus. Esta asserção é difícil de conciliar com a miscigenação, tradicionalmente admitida, que teria ocorrido desde o século XVI, entre a população indígena e escravos africanos. Se esta miscigenação ocorreu em outras regiões do país, nomeadamente no Sul, não teve dimensão apreciável naquela que estudámos. Por outro lado, sabe-se que a ocupação árabe a Norte do Douro foi historicamente insignificante.

Nem sequer uma clara afinidade mediterrânica se torna evidente nos estudos efectuados, e a proximidade genética com a Galiza resulta não ser tão pronunciada quanto as evidentes semelhanças culturais legitimavam esperar. Pelo contrário, os resultados obtidos em alguns polimorfismos parecem em contradição com os evidenciados em outros, de tal modo que se nos afigura mais plausível interpretar as características genéticas apontadas como correspondendo às de uma população europeia marginal, submetida durante a sua história a consideráveis derivas génicas e achegas migratórias, mas possuin-

do ainda muitos traços arcaicos.

Esta análise é, entretanto, muito superficial e simplista. Não devemos esquecer que o parâmetro mais difícil de controlar em grupos humanos de efectivo considerável - e aquele mais frequentemente esquecido ou desprezado - é a estrutura genética populacional: a lei de Hardy-Weinberg não pode ser entendida senão como uma aproximação grosseira da estrutura genética real de, pelo menos, a maior parte das populações humanas.

Face ao exposto, a discussão mais importante que estes resultados proporcionam não deve ser situada no campo das comparações entre populações, às vezes genética e/ou geograficamente muito distantes, mas no ambito das heterogeneidades verificadas na amostra investigada.

A quase constante melhoria verificada quanto ao acordo entre resultados observados e esperados segundo a lei de Hardy-Weinberg, sempre que o critério geográfico não era o único utilizado para estabelecer a homogeneidade da amostra, leva-nos inevitavelmente a concluir que a heterogeneidade genética (ou desequilíbrio, na terminologia corrente) detectada na área estudada é considerável e, talvez, sem paralelo na maioria dos países europeus.

Para a interpretação destes resultados é necessário ter presente que, de uma maneira geral, a urbanização em Portugal é um fenómeno relativamente recente; o distrito do Porto, bem como outras áreas industrializadas do nosso país,

viu a sua população aumentar aproximadamente 20% entre 1950 e 1960 e outro tanto na década seguinte, sendo este aumento aparentemente feito à custa do progressivo despovoamento do interior (GUICHARD,1982).

Em consequência, desde que algumas heterogeneidades genéticas de base geográfica existissem previamente, não é surpreendente a detecção de desequilíbrios genéticos na população residente no distrito do Porto.

A verificar-se esta hipótese, seria esperado encontrar para além dos desequilíbrios "locus" a "locus", ainda maiores desequilíbrios gaméticos ("linkage disequilibria"), especialmente entre "loci" fortemente ligados.

É à verificação desta hipótese, para um par de "loci" nestas condições, que dedicamos a secção seguinte.

1.2. ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO ENTRE SISTEMAS GENÉTICOS (DESEQUILÍBRIO GAMÉTICO GLO/BF)

Como se sabe, estabelecidas as condições de panmixia, atingem-se as proporções de equilíbrio quanto a um "locus" em apenas uma geração; tal não se verifica se a análise incidir simultaneamente sobre as distribuições genotípicas de mais de um "locus", sendo a aproximação das proporções de equilíbrio tanto mais lenta quanto mais ligados e/ou sujeitos a interações selectivas se encontrarem os referidos "loci".

É, pois, possível obter mais informação sobre o grau de divergência em relação ao equilíbrio de panmixia através do estudo do desequilíbrio gamético entre "loci" consabidamente ligados.

Uma vez que a maioria dos "loci" investigados não têm entre si vizinhança cromossómica suficiente ou a sua localização é mesmo desconhecida e as nossas possibilidades de tratamento automático dos resultados muito limitadas, apenas se procedeu à análise fenotípica simultânea quanto a um par de "loci" cuja localização cromossómica, já conhecida, era suficientemente próxima para que, em uma amostra de efectivo relativamente pequeno, tais desvios, existindo, fossem detectáveis: GLO (Glioxalase) e BF (Factor B da Properdina).

Estes dois sistemas genéticos encontram-se em condições praticamente ideais quanto ao fim em vista: sendo ambos polimórficos na população em análise, com elevado grau de heterozigotia, a sua localização cromossómica está bem estabelecida (WEITKAMP e LAMM, 1982).

Foi possível determinar, simultâneamente, quanto aos dois "loci", os fenótipos de 208 indivíduos do distrito do Porto; os resultados obtidos encontram-se na Tabela 60.

Separadamente, as distribuições fenotípicas observadas quanto a BF e GLO não se afastam significativamente dos valores esperados: para GLO, $\chi^2=3,2$, com um grau de liberdade, $0,10 > P > 0,05$ e para BF $\chi^2= 3,3$, com um grau de liberdade $0,10 > P > 0,05$.

TABELA 60. Distribuição fenotípica de GLO e BF no distrito do Porto: Os valores esperados encontram-se entre parêncesis; os assinalados com * foram combinados para o cálculo de χ^2.

Fenótipos	Fenótipos de GLO			
BF	1	2-1	2	TOTAL
F	7	12	6	25
	(3,9)*	(9,6)	(5,9)*	(19,4)
FS	9	39	29	77
	(17,6)	(43,6)	(27,0)	(88,2)
S	32	39	35	106
	(20,1)	(49,7)	(30,7)	(100,4)
TOTAL	48	90	70	208
	(41,6)	(102,8)	(63,6)	

TABELA 61. Frequências gaméticas GLO/BF no distrito do Porto.

	BF*F	BF*S	
GLO*1	0,109±0,020	0,338±0,027	0,447
GLO*2	0,196±0,023	0,357±0,027	0,553
	0,305	0,695	1,000

D = 0,027

Porém, quando considerados simultâneamente, a distribuição fenotípica afasta-se significativamente da esperada, supondo as condições de panmixia e equilíbrio gamético (χ^2=16,5; 4 graus de liberdade; 0,01>P>0,001).

O cálculo das frequências gaméticas foi feito pelo método de De GROOT e LI (1960) e o resultado apresenta-se na Tabela 61.

Estes resultados confirmam uma elevada associação entre não-alelos, sendo o valor do determinante gamético(0,027) superior a 20% de Dmax (0,136).

O desequilíbrio gamético verificado contrasta com a não associação descrita em outras populações europeias para o mesmo par de "loci" (MAUFF et al., 1978; NORTH et al.,1981). É, pois, mais plausível interpretar o presente desequilíbrio em termos de heterogeneidade populacional do que baseá-lo em um mecanismo selectivo.

A mistura de diferentes "pools" genéticos parece portanto mais verosímil, até porque as frequências génicas para o sistema BF na população estudada são bem distintas das verificadas no resto da Europa.

Embora esta análise de "loci" ligados reforce a possibilidade da interpretação já produzida acerca dos resultados contraditórios obtidos na investigação feita "locus" a "locus", o problema requer um estudo mais aprofundado, em termos do número de amostras e "loci" investigados.

Também nos parece importante salientar a mudança

de rumo de investigação que é necessário operar se a genética populacional quiser integrar o conhecimento das relações de ligação já estabelecidas entre "loci", bem como as que se venham a estabelecer no futuro. Efectivamente, não só pelo aumento intrínseco de informação que pode ser elaborada, como pelo conservantismo evolutivo dos grupos de ligação, a análise genética populacional em termos de frequências gaméticas (ou haplótipos) em vez da tradicional análise "locus" a "locus" deve ser vigorosamente estimulada.

Para cumprir estes objectivos as actuais rotinas de investigação populacional devem ser ajustadas aos requisitos seguintes:

- aumento da capacidade de fenotipagens efectuadas nos *mesmos* indivíduos quanto ao maior número possível de "loci", incluindo a reorganização da colheita e conservação das amostras biológicas de modo a permitir a sua utilização em futuras fenotipagens;

- aumento da capacidade de armazenamento, tratamento e comunicação dos resultados obtidos, em particular através do tratamento informático automatizado.

Não devemos esquecer, finalmente, que estes argumentos não devem ser entendidos como sendo de ordem puramente utilitária: eles reportam-se à organização *real* do genoma, em

grupos de ligação - os cromossomas. Com o aumento do número de "loci" conhecidos no homem, o postulado da independência genética entre não alelos é e será cada vez menos verificável na generalidade.

A título de contra-exemplo, poderemos citar um dos estudos globais mais ambiciosos de genética populacional humana, sobre a distribuição das frequências génicas na Europa (MENOZZI et al., 1978). A informação disponível sobre 10 "loci"e 38 alelos *considerados independentes* foi utilizada para a construção de "mapas sintéticos das frequências génicas em 'Europeus'". Entre os "loci" considerados independentes contavam-se HLA*A e HLA*B, sendo portanto a sua sintenia ignorada, simultaneamente como fonte de informação e como factor de correlação entre não alelos.

Os referidos mapas sintéticos são-no, por conseguinte, não só no sentido de condensarem informação de diversos "loci" mas também por serem "artificiais", visto ignorarem as relações de ligação entre, pelo menos, alguns dos "loci" considerados.

2. GENÉTICA FORMAL

A confirmação do modelo genético explicativo das variações observadas foi apenas investigada em relação a polimorfismos cuja genética formal não pudesse considerar-se estabelecida à data de início da nossa investigação, quer por a sua descoberta ser muito recente, quer por dificuldades técnicas na respectiva fenotipagem.

PGP, ALAD e subtipos de HP*1 encontravam-se nas condições acima referidas.

a. PGP (FOSFATASE FOSFOGLICÓLICA)

BARKER e HOPKINSON (1978), ao descreverem o polimorfismo electroforético da PGP, propuseram a hipótese formal de os respectivos fenótipos serem determinados por três alelos codominantes (PGP*1, PGP*2 e PGP*3) em um "locus" autossómico. Os mesmos autores basearam a confirmação desta hipótese no estudo da respectiva distribuição fenotípica em 89 famílias, com 223 descendentes.

A nossa investigação incidiu sobre 272 pares mãe-filho e 101 famílias do Sudoeste da R.F.A. Os resultados obtidos estão de acordo com os esperados segundo a referida hipótese: no caso da estatística dos pares mãe-filho, $\chi^2=0,69$; $0,70<P<0,80$ com dois graus de liberdade.

Posteriormente, BRINK et al.(1981) estudaram a se-

gregação fenotípica da PGP em 26 famílias, com 72 descendentes e em 12 pares mãe-filho, sendo os resultados também confirmativos da hipótese acima.

Assim, parece legítimo concluir que a genética formal deste sistema pode presentemente considerar-se bem estabelecida, confirmando-se a hipótese proposta por BARKER e HOPKINSON (1978).

É importante referir complementarmente não ter sido descrito qualquer caso de exclusão mãe-filho.

b. Subtipos de HP*1

Os trabalhos publicados sobre a genética formal dos subtipos de HP*1 são ainda escassos, embora os mesmos tenham sido descritos já em 1962 (SMITHIES et al.). RITTER et al. (1980), em artigo de revisão sobre este sistema referem não terem sido estudadas senão 110 famílias com 208 descendentes, em toda a literatura pesquisada.

Existem, quanto a nós, duas ordens de razões explicativas da referida insuficiência de estudos de genética formal.

Em primeiro lugar, o método original de semi-purificação (SMITHIES et al.,1962) era pouco apropriado à aplicação a um largo número de amostras, devido principalmente à delicadeza, pouca rotinabilidade e excessivo tempo consumido no processo. É ilustrativa, sob este aspecto, a expressão dos

próprios autores: "with practice (it can) be performed by one person, on 24 samples in a working day".

Por outro lado, a fase crucial de todo o processo de purificação corresponde à absorção da proteína por uma resina trocadora de iões; ora, segundo a nossa experiência, é muito difícil, em condições normais, não estéreis, manter mais do que alguns dias as propriedades de ligação iniciais da resina. Tanto no nosso laboratório, como nas investigações realizadas no Institut für Anthropologie und Humangenetik de Tübingen, as quantidades de proteína semipurificada diminuiam rapidamente com a idade da suspensão da resina e, mais grave ainda, cada vez mais proteínas "parasitas" eram detectadas após electroforese, obscurecendo a leitura das bandas de HP.

Não sabemos se esta experiência é compartilhada por outras equipas de pesquisa, uma vez que nunca foi referida na literatura; contudo, a provar-se ser esta a verdadeira causa principal das descontinuidades verificadas no rendimento do método de purificação, a dificuldade é facilmente ultrapassável.

O método por nós utilizado permite ainda, além da substâncial redução do trabalho de semipurificação, a utilização de um menor volume de amostra: 100µl de soro ou de plasma são suficientes para, pelo menos, dois ensaios electroforéticos.

Apesar disso, não tivemos a oportunidade de sub-
- fenotipar mais do que 254 pares mãe-filho, seleccionados en

tre os que, previamente determinado o fenótipo comum, eram informativos, ou seja, não constituídos por indivíduos de fenótipo 2.

Os nossos resultados estão de acordo com os previstos segundo a hipótese formal proposta por SMITHIES et al.(1962): três alelos, HP*1F, HP*1S e HP*2 em um "locus" autossómico; a distribuição fenotípica observada é simétrica e, à excepção de um excesso significativo de pares 1S/1S, as diferenças entre resultados verificados e esperados em condições de equilíbrio são atribuíveis ao acaso.

Apesar deste acordo e do já verificado nos estudos de genética formal anteriormente publicados, entendemos ser ainda prematuro considerar a referida hipótese como estabelecida. Ainda que tendo contribuido para o aumento do espaço amostral, bem como para a simplificação da técnica de semi-purificação, cremos ser indispensável, para este efeito, que esteja mais generalizado o uso de técnicas de subfenotipagem em diferentes laboratórios.

De facto, RITTER et al.(1980) sublinharam as discrepâncias verificadas entre os resultados obtidos por diferentes autores nas mesmas populações e ainda mais recentemente SHIBATA et al.(1982) admitiram que os seus próprios resultados anteriormente obtidos "should be checked again".

c. ALAD (DESIDRATASE AMINOLEVULÍNICA)

Baseados no estudo da segregação fenotípica observada em 125 famílias com 175 descendentes, BATTISTUZZI et al. (1981) estabeleceram a hipótese formal da variação electroforética verificada neste sistema ser determinada por dois ale

los codominantes em um "locus" autossómico.

Não tendo sido publicados, entretanto, outros resultados sobre a genética formal deste polimorfismo, procedemos ao estudo de famílias do Norte de Portugal e do Sudoeste da R.F.A., num total de 245 famílias, com 793 descendentes.

Os resultados observados nesta investigação estão de acordo com as proporções mendelianas esperadas segundo aquela hipótese.

Embora não tenhamos detectado, tal como os autores citados, qualquer prova da existência de um "silent gene", é de referir que publicações anteriores (BIRD et al.,1979 ; BRANDT e DOSS,1981) referem casos de deficiência desta enzima genèticamente determinada.

Estes resultados devem, contudo, ser interpretados sob reserva, uma vez que ALAD é fortemente inibida por poluentes comuns, como o chumbo (THOMASINO et al., 1977). Além disso, não confirmamos na nossa investigação a inibição por EDTA, mencionada por BATTISTUZZI et al.(1981), citando CALISSANO et al.(1966). Tanto no nosso laboratório como no Institut für Anthropologie und Humangenetik de Tübingen, foram usadas amostras obtidas com este anticoagulante, não se tendo observado qualquer diminuição de actividade detectável nos respectivos padrões electroforéticos, quando comparados com os de amostras não tratadas.

Pelo contrário, entendemos que parte da diminuição da actividade enzimática deve ser atribuída a um poluen-

te metálico, provavelmente chumbo; uma prova indirecta desta hipótese resulta do facto de Zn^{2+} ser um componente essencial da solução de incubação em Tübingen, sem o qual a quase totalidade das amostras não demonstra actividade detectável, enquanto que no Porto tal componente não é indispensável.

Outro facto importante a sublinhar nos resultados obtidos é que, de novo em contradição com BATTISTUZZI et al. (1981), ALAD é fenotipável em glóbulos vermelhos conservados durante vários anos, em meio de glicerol a -20°C, sem qualquer tratamento especial, inclusive por agentes redutores, sendo os padrões electroforéticos quantitativa e qualitativamente indistinguíveis dos obtidos em amostras recém-colhidas dos mesmos indivíduos.

Em conclusão, podemos afirmar que, além de havermos identificado as razões dos problemas técnicos descritos para a fenotipagem deste sistema, permitindo portanto a sua análise em amostras colhidas e conservadas normalmente, contribuímos para a confirmação do modelo formal explicativo das variações genéticas observadas. Assim, dado o número de análises já efectuado, pensamos que se pode considerar aquele modelo como estabelecido, ainda que sob a reserva das observações referidas no que diz respeito aos problemas técnicos de fenotipagem.

3. LIGAÇÃO FACTORIAL

Procedeu-se a este tipo de análise apenas em relação a polimorfismos cuja genética formal estivesse bem estabelecida e cujas relações de ligação fossem indeterminadas aquando do início da investigação.

Dois dos "loci" estudados também sob o ponto de vista populacional obedeciam a estas condições: PGP e ALAD.

a. PGP (FOSFATASE FOSFOGLICÓLICA)

WEIL et al. (1979), POVEY et al. (1980) e DONALD et al. (1980) em investigações independentes, por técnicas de hibridização celular, demonstraram situar-se este "locus" no cromossoma 16.

Actualmente, estão assinalados neste autossoma os seguintes "loci" polimórficos: PGP, GOT2 e HP (JEREMIAH et al. 1982).

Contudo, os "lod scores" obtidos em relação a PGP/HP na nossa análise familiar foram todos negativos e excluíram ligação com $\theta \leq 10\%$. Os nossos resultados estão portanto em concordância com a opinião dos últimos autores, que afirmam dever ser impossível, dada a distância entre estes "loci", detectar directamente ligação entre HP e PGP em ambos os sexos.

Quanto a GOT2, devido à sua baixa heterozigotia, o reduzido número de famílias informativas não nos permite con

firmar a sequência génica proposta por JEREMIAH et al.(1982): PGP-GOT2-HP.

É de salientar que, dado o tamanho do cromossoma em causa, se torna altamente provável que qualquer "locus" polimórfico nele situado que venha a ser descrito apresente relações de ligação detectáveis em estudos familiares com, pelo menos, um dos três "loci" referidos.

b. ALAD (DESIDRATASE AMINOLEVULÍNICA)

Não conhecemos quaisquer outros estudos publicados sobre as relações de ligação factorial deste polimorfismo; assim os "lod scores" disponíveis quanto às suas relações de ligação são os apresentados neste trabalho.

Foi possível excluir a ligação factorial, com $\theta \leqslant 0,10$, em relação aos seguintes sistemas genéticos: BF, ME2, FUCA, FY, GC, GLO, GPT, HLA, HP, JK, MNSs, PI e Rh, bem como, com $\theta \leqslant 0,05$, em relação aos seguintes: ESD, GM, K, PGM3, PGP e com $\theta \leqslant 0,20$ em relação a ACP1 e PGM1.

Os valores positivos obtidos não permitem, de momento, sugerir ligação com qualquer dos "loci" estudados.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como já havia sido referido e se torna agora mais aparente face ao volume de resultados apresentados, a utilização exaustiva da informação genética colhida laboratorialmente requer, cada vez mais, o recurso ao tratamento automático da informação coligida.

No caso do nosso trabalho, todos os cálculos relativos à análise de ligação (exceptuando a extensão das Tabelas de MAYNARD-SMITH et al., 1961, a famílias mais numerosas), genética formal e desequilíbrio gamético entre BF e GLO foram feitos por processos tradicionais não automatizados.

Tais métodos resultariam demasiado laboriosos se aplicados ao campo da genética populacional; sem o auxílio de uma automação rudimentar, as estratificações verificadas nas amostras seriam muito dificilmente detectáveis.

Assim, os resultados foram arquivados sob a forma matricial, juntando-se a informação relativa à naturalidade, residência, sexo, idade e parentescos próximos reconhecidos aos resultados fenotípicos determinados em cada indivíduo.

Devido à limitada capacidade do microcomputador disponível, foi organizado separadamente um arquivo ordenado alfabeticamente segundo os nomes dos indivíduos amostrados.

Deste modo, foi possível detectar parentescos próximos não declarados, bem como obter os resultados parciais de acordo com cada uma das características mencionadas, escla

recendo-se rapidamente a possível origem de algumas das heterogeneidades verificadas na amostra.

Se pensarmos que tanto o número de "loci" conhecidos, como o número de fenótipos identificáveis em cada "locus" continuam a aumentar, e que este aumento torna cada vez mais possível e necessário o estudo de interacções genéticas envolvendo mais do que dois "loci", então é inevitável concluir que o recurso a métodos computacionais mais sofisticados se torna indispensável em cada laboratório de Genética Humana.

Além disso, esta necessidade não deve ser entendida simplesmente na base elementar da diminuição do tempo de manipulação dos resultados por uma unidade de investigação.

Na realidade, o problema tem uma dimensão que ultrapassa os limites de cada laboratório. No seu artigo de revisão sobre o uso de computadores neste domínio, EDWARDS (1982) comentou-o no âmbito da investigação da ligação factorial da seguinte forma: "What is needed is an administrative frame - work within which raw data can be exchanged between investigators without loss of the incentive created by being the first to reap the rewards of one's own labor. The loss of information, and the wasteful diversion of skills is so great through uncoordinate work that the inadequacy of present computer methods to handle these new data must be emphasized."

Estes comentários são generalizáveis a outros domínios da Genética Humana, nomeadamente à genética populacional. Neste campo torna-se em particular mais premente o estu

do coordenado de polimorfismos cuja localização cromossómica não permita a sua transmissão independente.

Nesta perspectiva, torna-se indispensável que os resultados sejam obtidos e armazenados de maneira a possibilitar o estudo, não apenas dos genótipos em cada "locus" isoladamente, mas também do seu arranjo cromossómico, haplotípico. Infelizmente, tal não se verifica na maioria das pesquisas, de tal forma que depararemos frequentemente com a impossibilidade de re-utilização de resultados, não só ao nível da forma publicada dos mesmos, como até pelo próprio centro de investigação que os produziu.

Será, portanto, desejável a generalização a outras àreas da Genética Humana, do que existe, ainda que sob uma forma primitiva, no âmbito da investigação da ligação factorial por via de análise familiar.

Neste domínio, a condensação de informação materializada em "lod scores" não impede que estes valores sejam usados aditivamente por outros grupos de pesquisa, constituindo ao mesmo tempo resultados "publicáveis", de tal modo que investigações de per si inconclusivas, podem, por simples adição, tornar-se suficientes quanto ao fim em vista. Devemos referir, contudo, que os "lod scores" são somente utilizáveis como medida da interacção de primeira ordem entre um dado carácter genético e cada um de entre um número variável de outros, não sendo reaproveitáveis noutro contexto.

Infelizmente, a consecussão do objectivo propos

to enfrenta um certo número de dificuldades, das quais as de ordem essencialmente genética ou informática serão facilmente ultrapassáveis. Eventuais problemas de ordem administrativa e jurídica poderão, entretanto, embaraçar mais gravemente a materialização das soluções a encontrar.

Acreditamos, no entanto, que sem um passo de considerável magnitude na direcção da integração de resultados entre e dentro dos diferentes laboratórios, a maior parte dos progressos recentes nesta área permanecerá subaproveitada, senão inútil, para além de a sua acumulação desordenada produzir um cada vez maior volume de resultados "em bruto" difíceis de manusear e de quase impossível re-utilização.

Em resumo, e sublinhando que este trabalho, além de outras limitações que nos foram despercebidas, ainda enferma parcialmente das que aqui foram apontadas, pensamos poder formular as seguintes

5. CONCLUSÕES

5.1. Genética Formal

a. PGP (Fosfatase fosfoglicólica)

Os resultados obtidos nesta investigação, em conjunto com os entretanto produzidos em pesquisas efectuadas independentemente, são conducentes à confirmação do modelo genético: três alelos (PGM*1, PGM*2 e PGM*3) em um "locus" au-

tossómico.

A genética formal deste sistema pode, em conformidade, considerar-se estabelecida.

b. HP (Haptoglobina)

Quanto ao modelo formal explicativo dos subtipos de HP*1, os nossos resultados não se afastam dos previstos segundo a hipótese de um "locus" autossómico com três alelos codominantes: 1F, 1S e 2. Contudo, os problemas de reprodutibilidade detectados, bem como a escassez de resultados obtidos independentemente em outros laboratórios, aconselham o prosseguimento do seu estudo, até que possamos considerar o referido modelo como estabelecido.

c. ALAD (Desidratase aminolevulínica)

Confirmou-se na nossa investigação a hipótese formal explicativa da variação electroforética: dois alelos, ALAD*1 e ALAD*2, em um "locus" autossómico. Com os resultados agora obtidos pode considerar-se o referido modelo satisfatoriamente estabelecido.

5.2. Análise de Ligação Factorial

a. PGP (Fosfatase fosfoglicólica)

A investigação realizada não permite o estabelecimento de relações de ligação próxima entre este sistema genético e qualquer outro dos vinte e seis polimorfismos estu

dados.

Esta conclusão está de acordo com o resultado de investigações independentes, entretanto realizadas, estabelecendo a sintenia PGP-HP, no cromossoma 16, mas a uma distância não detectável directamente em estudos familiares.

Assim, para qualquer outro polimorfismo que venha a ser descrito como dependente de um "locus" situado neste cromossoma, existe já uma alta probabilidade de que a ligação com os previamente assinalados seja mensurável por via familiar.

c.ALAD (Desidratase aminolevulínica)

Não resultaram desta investigação, indícios seguros de ligação entre este novo sistema genético e qualquer outro dos trinta e três polimorfismos estudados.

Apesar de os resultados aqui apresentados serem os únicos publicados sobre as relações de ligação de ALAD, eles permitem-nos concluir que uma apreciável proporção do nosso genoma autossómico (pelo menos 10%) está, desde já, excluída da possibilidade de conter o "locus" em questão.

Assim, e tal como no caso da PGP, dada a ausência de ligação próxima com qualquer dos polimorfismos comummente estudados, este sistema genético poderá revelar-se de grande utilidade para fins gerais de cartografia genética.

5.3. Genética Populacional

De vinte e quatro sistemas genéticos estudados em populações do Norte de Portugal — ABO, ACP1, ADA, AK1, ALAD, AMY2, BF, C3, DIA1, ESD, GC, GLO, GOT2, GPT, HP, ME2, PGD, PGM1, PGM2, PGP, Rh(D), SOD1, TF e UMPK — cinco revelaram-se monomórficos com os métodos de fenotipagem utilizados: DIA1, PGD, PGM2, SOD1 e TF.

A maior parte das frequências génicas calculadas situa-se no intervalo de variação verificado anteriormente em outras populações europeias e as raras excepções não parecem ser devidas a miscigenação com populações africanas.

Significativos desvios em relação às proporções fenotípicas esperadas em panmixia, encontrados em alguns casos, parecem ser atribuíveis a heterogeneidades geográficas preexistentes. Neste particular, o desequilíbrio gamético GLO/BF verificado torna-se bastante sugestivo.

Esta interpretação, embora deva ser confirmada em posteriores estudos, leva a encarar com especial cuidado o uso destes resultados em Genética Humana aplicada.

5.4. Genética Bioquímica

a. Subtipos de HP*1 (Haptoglobina)

Estabelece-se nesta investigação uma técnica de semi-purificação de haptoglobina que, sem perda de qualidade resolvente, é mais simples e rápida que a originalmente

descrita. Consequentemente, é facilitado o estudo de amostras populacionais de efectivo elevado.

Foi identificada a provável causa das dificuldades verificadas na reprodutibilidade dos resultados obtidos com os métodos de semi-purificação baseados na adsorção selectiva por resinas trocadoras de iões e indica-se a forma técnica de as superar.

b. ALAD (Desidratase aminolevulínica)

A investigação realizada demonstrou a exequibilidade da fenotipagem de ALAD em amostras colhidas e conservadas conforme os métodos usuais, sem as restrições reportadas na literatura.

c. Redução dos custos de fenotipagem

As modificações introduzidas nas técnicas electroforéticas nesta investigação permitem, de um modo geral, sem perda de poder resolvente, uma substancial redução dos custos médios de fenotipagem; nomeadamente para a determinação dos subtipos de PGM1, a nova técnica electroforética apresentada é significativamente menos onerosa que as anteriormente publicadas.

5.5. Integração dos resultados genéticos monofactoriais

Entende-se como altamente recomendável, para optimizar a utilização dos resultados laboratoriais, a reorga-

nização dos métodos actualmente seguidos na colheita, tratamento e intercâmbio dos mesmos. A existência de um "banco" internacional de dados seria, para este efeito, se não indispensável, pelo menos extremamente recompensadora.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AMORIM A, FARIA MASN, PEREIRA EL (1979) Red cell acid phosphatase polymorphism in Flores Island (Azores). Trab. Inst. Antrop. Porto 35.

AMORIM A, KÖMPF J, SCHUNTER F, RITTER H (1982) Aminolevulinate dehydratase (E.C.4.2.1.24): linkage analysis. Hum. Genet. 61: 48-49:

AMORIM A, SIEBERT G, RITTER H, KÖMPF J (1980) Formal genetics of phosphoglycolate phosphatase (PGP): investigation on 272 mother - child pairs. Hum. Genet. 53: 419-420.

ANANTHAKRISHNAN R (1980) 6- fosfogluconatodehidrogenasa. In BECKER P.E. (ed.) Genetica Humana (tomo 1/3):558-570. Ed. Toray SA. Barcelona.

BARKER RF, HOPKINSON DA, (1978) Genetic polymorphism of human phosphoglycolate phosphatase (PGP). Ann. Hum. Genet. 42: 143-151.

BATTISTUZZI G, PETRUCCI R, SILVAGNI L, URBANI FR, CAIOLA S (1981) δ-aminolevulinate dehydrase: a new genetic polymorphism in man. Ann. Hum. Genet. 45: 223-229.

BIRD TD, HAMERNYK P, NUTTER JY, LABBE RF (1979) Inherited deficiency of δ-aminolevulinic acid dehydratase. Am. J. Hum. Genet. 31: 662-668.

BISSBORT S, RITTER H, KÖMPF J (1978) PGM1 subtyping by means of acid starch gel electrophoresis. Hum.Genet. 45: 175-177.

BODMER WF (1981) Gene clusters, genome organization and complex phenotypes. When the sequence is known, what will it mean? Am. J. Hum. Genet. 33: 664-682.

BOTSTEIN D, WHITE RL, SKOLNICK M, DAVIS RW (1980) Construction of a genetic linkage map using restriction fragment lenght polymorphisms. Am. J. Hum. Genet. 32: 314-331.

BRANDT A, DOSS M (1981) Hereditary porphobilinogen synthase deficiency in human associated with acute hepatic porphyria. Hum. Genet. 58: 194-197.

BRINK W, BAUR MP, RITTNER C (1981) Population, formal genetics and linkage relations of the phosphoglycolate phosphatase (PGP) - E.C.3. 1.3.18 Hum. Genet. 59: 386-388.

BRINKMANN B, REITER J, KRÜGER O (1977) Gene frequencies of some Enzyme polymorphisms in Mediterranean countries. J. Hum. Evol. 6: 131-133.

BUSI BR, WELLS LJ, VOLKERS WS, EBELI-STRUISK AC, MEERA-KHAN P (1979) Distribution of glyoxalase I (GLO) variants in Western Europe and the Indian subcontinent. Hum. Genet. 49: 105-113.

CAEIRO JLB (1982) Estudio del polimorfismo genético de proteínas plasmáticas en una muestra de la poblacion gallega. Tese apresentada à Fac. de Biologia da Universidade de Santiago de Compostela.

CAEIRO B, REY D, VARELA TA (1982) Esterase D polymorphism in Galicia (North-West of Spain). Hum. Hered. 32:147-148.

CALISSANO DL, CARTASEGNA C, MATTENI M (1966) The purification and properties of ALA dehydrase from human erytrocytes . Ital. J. Biochem. 15:18-29.

CARRACEDO A, CONCHEIRO L (1982) PGM1 subtypes in Galicia (NW. Spain). Hum. Hered. 32:133-135.

CAVALLI-SFORZA LL, BODMER WF (1971) The genetics of human populations. W.H. Freeman and Company, San Francisco.

COHEN PTW, OMENN GS (1972) Human malic enzyme: high frequency polymorphism of the mithocondrial form. Biochem. Genet. 7:303-311.

CUNHA AS (1926) Grupos sanguíneos nos portugueses. Tese de doutoramento apresentada à Faculdade de Medicina do Porto.

CUNHA AX, MORAIS MX (1959) Os grupos sanguíneos dos portugueses. Distribuição regional dos sistemas A_1A_2BO e MN. Contribuições para o Estudo da Antropologia Portuguesa 7 (2): 17-36.

CUNHA AX, MORAIS MHX (1960) Os genótipos Rh em portugueses. Contribuições para o Estudo da Antropologia Portuguesa 7 (4): 54-58.

DAVIES KE (1981) The application of DNA recombinant technology to the analysis of the human genome and genetic disease. Hum. Genet. 58: 351-357.

De GROOT MH, LI CC (1960) Simplified method of estimating the MNS gene frequencies. Ann. Hum. Genet. 24:109-115

DONALD LJ, WANG HS, HAMERTON JL (1980) Human phosphoglycolate phosphatase is coded by a gene on chromosome 16. Cytogenet. Cell Genet. 27: 184-186.

EDWARDS JH (1982) The use of computers. Cytogenet. Cell Genet. 32: 43-51.

ELANDT-JOHNSON R (1971) Probability models and statistical methods in genetics. John Wiley & Sons, Inc. New York.

ELSTON RC (1979) Major locus analysis for quantitative traits. Am. J. Hum. Genet. 31: 655-661.

FÂNZERES A, MORAIS E (1940) Grupos sanguíneos nos portugueses do Norte. Actas 1º Congresso Nacional Ciências População: 605-625.

FILDES RA, HARRIS H (1966) Genetically determined variation of adenylate kinase in man. Nature 209: 261-263.

GIBLETT ER, ANDERSON JE, CHEN S-H, TENG Y-S, COHEN F (1974) Uridine monophosphate kinase: a new genetic polymorphisms with possible clinical implications. Am. J. Hum. Genet. 26: 627-635.

GOEDDE HW, HIRTH L, BENKMANN H-G, PELLICER A, PELLICER T, STAHN M, SINGH S (1972) Population genetic studies of red cell enzyme polymorphisms in four Spanish populations. Hum.Hered. 22:552-560.

GOEDDE HW, HIRTH L, BENKMANN HG, PELLICER A, PELLICER T, STAHN M, SINGH S (1973) Population genetic studies of serum protein polymorphisms in four Spanish populations. Hum. Hered. 23: 135-146.

GUICHARD F (1982) Atlas demográfico de Portugal. Livros Horizonte, Lisboa.

HACKEL E, HOPKINSON DA, HARRIS H (1972) Population studies on mitochondrial glutamate-oxaloacetate transaminase. Ann. Hum. Genet. 35: 491-496.

HARRIS H, HOPKINSON DA (1976) Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. North-Holland Publish.Co, Amsterdam.

HULTÉN MA, PALMER RW, LAURIE DA (1982) Chiasma derived genetic maps and recombination fractions: chromosome 1. Ann. Hum. Genet. 46:167-175.

JEREMIAH SJ, POVEY S, BURLEY MW, KIELTY C, LEE M, SPOWART G, CORNEY G, COOK PJL (1982) Mapping studies on human mitochondrial glutamate oxaloacetate transaminase. Ann. Hum. Genet. 46: 145-152.

KAMARÝT J, LAXOVÁ R (1965) Amylase heterogeneity; some genetic and clinical aspects. Hum. Genet. 1: 579-586.

KÖMPF J (1972) Zytoplasmatische glutamat-pyruvat-transaminase (E.C.: 2.6.1.2): Bestimmungstechnik. Ärztl. Lab. 18: 25-26.

KÖMPF J, BISSBORT S (1975) Population genetics of red cell glyoxalase I (E.C.:4.4.1.5). Gene frequencies in South Western Germany. Hum. Genet. 28: 175-176.

KÖMPF J, BISSBORT S, GUSSMANN S, RITTER H (1975) Polymorphism of red cell glyoxalase I (E.C.:4.4.1.5). A new genetic marker in man. Hum. Genet. 27: 141-143.

KÖMPF J, RITTER H (1979) Polymorphism of alanine aminotransferase (E.C.2.7.6.1): common and rare alleles. Hum.Genet. 51: 287-292.

KÖMPF J, SIEBERT G, RITTER H (1979) Human pancreatic amylase polymorphism: formal genetics and population genetics. Hum. Genet. 51: 217-220.

KUHN B, BISSBORT S, KÖMPF J, RITTER M (1975) Red cell uridine 5-monophosphate kinase (UMPK).Formal genetics, linkage analysis and population genetics from S.W.Germany. Hum. Genet. 28: 255-258.

LAURIE DA, PALMER RW, HULTÉN MA (1982) Chiasma derived genetic lenghts and recombination fractions : chromosomes 2 and 9. Ann. Hum. Genet. 46:233-244.

LESSA A (1956) A individualidade biológica do sangue. Tese de doutoramento apresentada à Fac. de Medicina do Porto.

LEWONTIN RC (1970) On the irrelevance of genes. In WADDINGTON CH (ed.) Towards a Theoretical Biology (Vol.3): 63-72. Aldine Publish. Co., Chicago.

LEWONTIN RC (1974) The genetic basis of evolutionary change. Columbia Univ. Press, New York.

LIMA-DE-FARIA A (1980) Classification of genes, rearrangements and chromosomes according to the chromosome field. Hereditas. 93:1-46

LOPEZ-LARREA C, BOOTELLO A, ARNAIZ-VILLENA A (1981) Linkage of GLO with HLA in a sample of the Spanish population. Hum. Genet. 57:317-320.

MACHADO-CRUZ JM, BENDER K, BURCKHARDT K, KÜPPERS F, BENKMANN H-G, GOEDDE HW (1973) Genetic studies of some red cell and serum protein polymorphisms in the population of Vilarinho da Furna (Portugal). Trab. Inst. Antrop. Porto. 15

MAUFF G, WACHAUF P, SCHAAL KP, PULVERER G (1978) GLO I and BF phenotype distribution in a West German population sample. Hum. Hered. 28:431-434.

MAYNARD-SMITH S, PENROSE LS, SMITH CAB (1961) Mathematical tables for research workers in human genetics. J. A. Churchil Ltd., London.

McKUSICK VA (1971) Mendelian inheritance in man. Catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive, and X-linked phenotypes. The Johns Hopkins Press, Baltimore and London.

MENOZZI P, PIAZZA A, CAVALLI-SFORZA L (1978) Synthetic maps of human gene frequencies in Europeans. Science 201: 786-792.

NORTH ML, AMANN I, TONGIO MM, HAUPTMANN G, KLEIN J, MAYER S (1981) Red cell glyoxalase I polymorphism in Alsace, France. Linkage of GLO with BF. Hum. Hered. 31: 39-41.

OHNO S (1970) Evolution by gene duplication. Springer, Berlin.

PETRUCCI R, LEONARDI A, BATTISTUZZI G (1982) The genetic polymorphism of δ-aminolevulinate dehydrase in Italy. Hum. Genet. 60: 289-290.

POULIK MD (1957) Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. Nature, 180: 1477-1479.

POVEY S, JEREMIAH SJ, BARKER RF, HOPKINSON DA, ROBSON EB, COOK PJL (1980) Assignment of the human locus determining phosphoglycolate phopsphatase (PGP) to chromosome 16. Ann. Hum. Genet. 43: 241-248.

RANZANI G, BERTOLOTTI E, SANTACHIARA-BENERECETTI AS (1977) The polymorphism of red cell uridine monophosphate kinase in two samples of the Italian population. Hum. Hered. 27: 332-335.

RITTER H, JÖRGENSEN G, VÖGEL F (1980) Polimorfismo de la haptoglobina. In BECKER, P.E. (ed.) Genética Humana (tomo 1/3): 55-111. Ed. Toray SA, Barcelona.

RITTER H, KÖMPF J (1979) Human mitochondrial glutamic-oxaloacetic-transaminase, GOT_M: formal genetics. Hum. Genet. 51: 327-329.

RITTER H, WENDT GG (1971) Indophenol oxidase variability. Hum. Genet. 14: 72.

RODRIGUEZ-CÓRDOBA S, BOOTELLO A, ARNAIZ-VILLENA A (1981) BF polymorphism and its relationship with HLA antigens in a sample of the Spanish polulation: high BF F1 frequencies. Tissue Antigens, 17: 231-237.

SÃ N (1962) Frequencies of the genes of the Rh-system in Portugal. Vox Sang, 7: 502-503.

SCHERZ R, PFLUGSHAUPT R, BÜTLER R, PEYRETTI F (1982) Genetic polymorphism of glycine-rich-β-glycoprotein in the Italian population. Hum. Hered. 32: 11-14.

SHIBATA K, CONSTANS J, VIAU M, MATSUMOTO H (1982) Polymorphism of the haptoglobin peptides by isoelectric focusing electrophoresis and isoelectric point determinations. Hum. Genet. 61: 210-214.

SHOWS TB, McALPINE PJ (1982) The 1981 catalogue of assigned genetic markers and report of nomenclature committee. Cytogenet. Cell Genet. 32: 221-245.

SIEBERT G, RITTER H, KÖMPF J (1979) Mitochondrial malic enzyme(E.C.1.1.1.40) in human leukocytes: formal genetics and population genetics. Hum. Genet. 51: 319-322.

SIEBERT G, RITTER H, KÖMPF J (1980) Substrate affinity in PGM1, PGM2 and PGM3 isozymes. Hum. Genet. 56: 213-215.

SMITHIES O, CONNELL GE, DIXON GM (1962) Inheritance of haptoglobin subtypes. Am. J. Hum. Genet.14: 14-21.

SPIESS EB (1977) Genes in populations. John Wiley & Sons, New York.

TAMAGNINI E (1939) Os grupos sanguíneos dos portugueses. Rev. Fac. Ciências Univ. Coimbra, 8: 184-257.

TARIVERDIAN G, RITTER H, WENDT GG (1970) Genetisch kontrollierte varianten der NADH diaphorase. Hum. Genet. 11: 75-77.

TEISBERG P (1970) High voltage agarose gel electrophoresis in the study of C3 polymorphism. Vox Sang 19: 47-56

THOMASINO JA, ZUROWESTE E, BROOKS SM, PETERING HG, LERNER SI, FINELLI VN (1977) Lead, zinc and erythrocyte δ--aminolevulinic acid dehydratase: relationships in lead toxicity. Arch. Environ Health, 35: 244-247.

TORRINHA JAF (1967) Haptoglobin frequencies in the North of Portugal. Acta Genet. Basel, 17: 74-76.

TORRINHA JAF (1969) Frequência dos genótipos do sistema GC nos portugueses. Médico, 51: 719-720.

WEIL D, VAN CONG N, FINAZ C, GROSS M-S, COCHET Ch, de GROUCH J, FRÉZAL J (1979) Localization du gène phosphoglycolate phosphatase (PGP) sur le chromosome 16 par l'hybridation cellulaire interspecifique. Hum. Genet. 51: 139-

WEISSMANN J, PRIBILLA O (1981) Glyoxalase I polymorphismus: phänotypenverteilung und genfrequenzen in Portugal. Z. Rechtsmed. 82: 205-211.

WEISSMANN J, REUTER W (1981) Properdin factor B polymorphism in Portugal. Hum. Hered. 31: 370-372.

WEISSMANN J, REUTER W (1982) Serummerkmale in Portugal: C3 GC, Hp und Tf. Anthrop. Anz. 40: 133-136.

WEISSMANN J, VOLLMER M, PRIBILLA O (1980) Populationsgenetische studie in Portugal:ADA- und - SOD - polymorphysms. Nachweis der phänotypen ADA 5-1 und ADA 5-2. Ärztl. Lab. 26: 338-340.

WEITKAMP LR, LAMM LU (1982) Report of the commitee on the genetic constitution of chromosome 6. Cytogenet.Cell Genet. 32: 130-143.

WELCH SG, SWINDLEHURST CA, McGREGOR IA, WILLIAMS K (1979) Serum protein polymorphisms in a village community from the Gambia, West Africa (Hp, BF and GC). Hum. Genet. 48: 81-84.

ZUCKERKANDL E (1978) Multilocus enzymes, gene regulation, and genetic sufficiency. J. Mol. Evol . 12: 57-89.

APÊNDICES

A P Ê N D I C E 1

Símbolos utilizados para referir "loci", seguidos da tradução, em português, do respectivo nome recomendado (segundo SHOWS e McALPINE, 1982).

ABO	Grupo sanguíneo ABO
ACP1	Fosfatase ácida 1
ADA	Desaminase da adenosina
AK1	Cinase adenílica 1
ALAD	Desidratase aminolevulínica, E.C.4.2.1.24 *
AMY2	α-amilase 2 (pancreática)
BF	Factor B da Properdina
C3	3º componente do complemento
DIA1	Diaforase 1 (NADH)
ESD	Esterase D
GC	Proteína específica de grupo
GLO	Glioxalase I
GOT2	Transaminase glutâmico-oxaloacética 2 (mitocondrial)
GPT	Transaminase glutâmico-pirúvica
HP	Haptoglobina
ME2	Enzima málica 2 (mitocondrial), E.C.1.1.1.40 *
PGD	Desidrogenase do fosfogluconato
PGM1	Fosfoglucomutase 1
PGM2	Fosfoglucomutase 2

PGP	Fosfatase fosfoglicólica
Rh	Grupo sanguíneo Rhesus
SOD1	Dismutase do superóxido 1 (solúvel)
TF	Transferrina
UMPK	Cinase do 5'monofosfato de uridina

Os "loci" não consignados na referência citada encontram-se assinalados com *.

A P Ê N D I C E 2

Distribuição dos fenótipos de GC em 55 famílias do distrito do Porto.

Tipo de cruzamento	Número de famílias	Número de descendentes	Fenótipos 1	Fenótipos 2-1	Fenótipos 2
1 X 1	8	21	21	-	-
1 X 2-1	23	62	29 (31,0)	33 (31,0)	-
2-1 X 2-1	22	60	13 (15,0)	31 (30,0)	16 (15,0)
1 X 2	2	9	-	9	-
TOTAL	55	152	63	73	16

Distribuição dos fenótipos de GC em uma amostra de indivíduos residentes no distrito do Porto, determinados por focagem isoeléctrica.

N	Fenótipos 1	Fenótipos 2-1	Fenótipos 2	χ^2	g.l.	P
174	76 (82,76)	88 (74,48)	10 (16,76)	5,7	1	0,02 - 0,01

A P Ê N D I C E 3

DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA

As fotografias que se seguem pretendem apenas representar zimogramas obtidos, por rotina, com as técnicas descritas na Cap. II. Não se efectuaram electroforeses especialmente para este efeito, nem as provas fotográficas foram, obviamente, retocadas, sendo muitas delas obtidas em condições precárias.

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 1

FIGURA 1

Fenótipos comuns de AMY2.

Escala: a inserção de cada amostra tem 0,8 cm de comprimento.

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 2.

FIGURA 2

Fenótipos comuns de C3

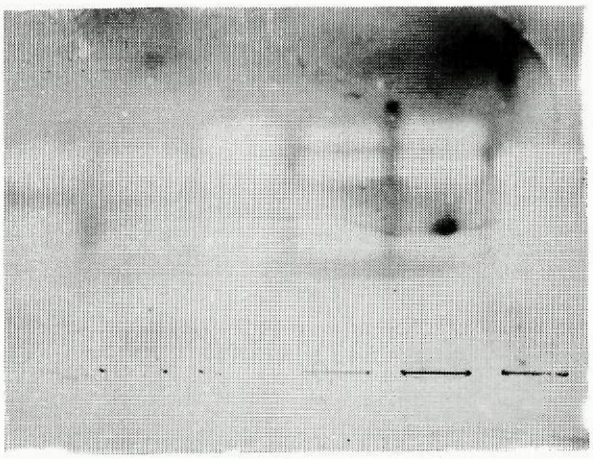
Escala: como na figura anterior.

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 2.

FIGURA 2A

C3: Fenótipo raro, com variante "lenta" (Fs), comparada com o fenótipo S comum.

Escala: como na figura anterior.



−

← AMY2*2
← AMY2*1
| AMY1

← O

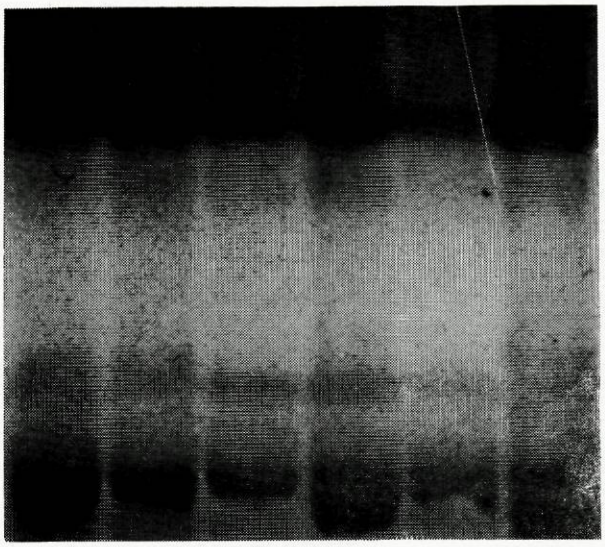
1 1 2-1 2-1 2-1 1

+

TF →

C3*F →
C3*S →

O →

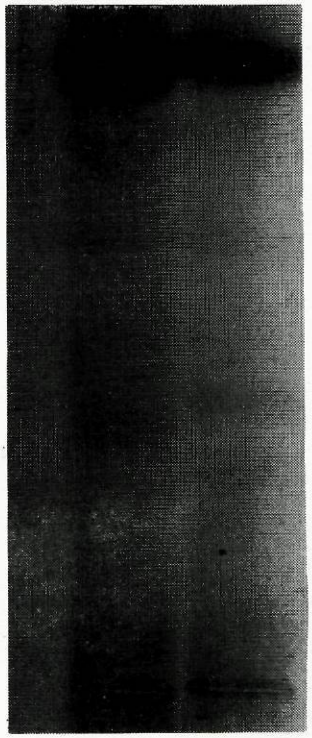


FS FS S S S FS

+

S →

O →



← F

← V

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 3.

FIGURA 3

Fenótipos comuns de GC

Escala: a inserção de cada amostra tem 0,4cm de comprimento.

FIGURA 3A

Fenótipos comuns de GC determinados por focagem isoeléctrica

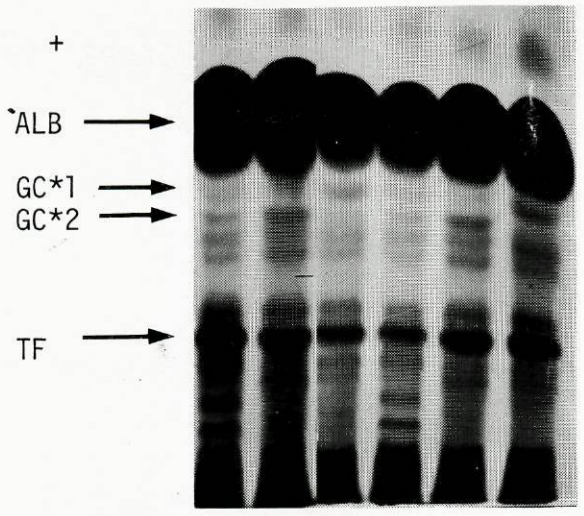
Escala: como na figura anterior.

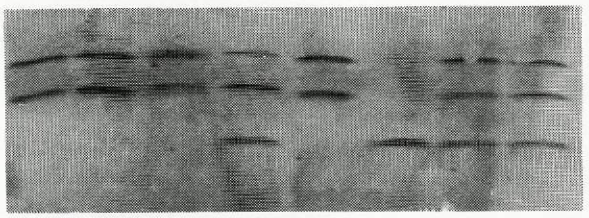
TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 4.

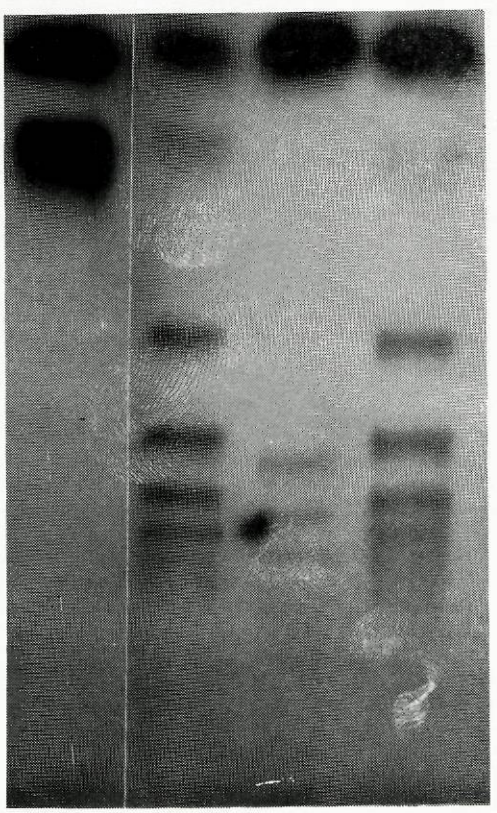
FIGURA 4

Fenótipos comuns de HP

Escala: a inserção de cada amostra tem 1cm de comprimento


+
ALB
GC*1
GC*2
TF
2-1 2 1 2-1 2 1


GC*1
GC*2
1 1 1 2-1 1 2 2-1 2-1


+
HB
HP*1
Origem
1 2-1 2 2-1

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 5.

FIGURA 5

Subtipos de HP*1

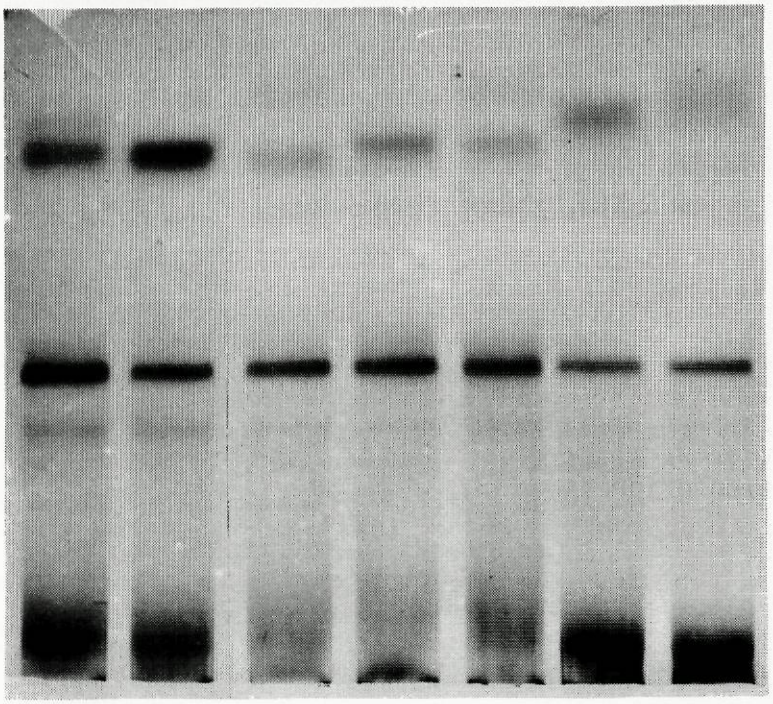
Escala: a mesma da figura anterior.

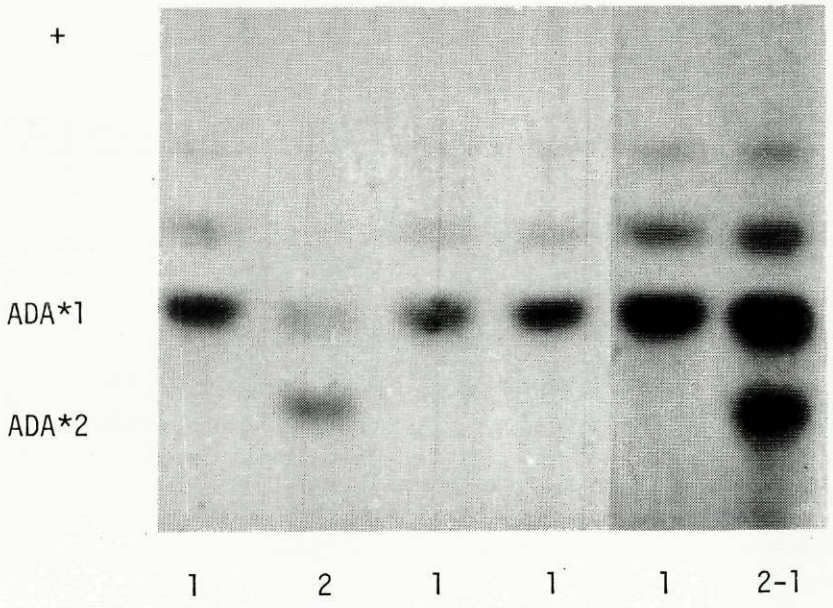
TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 6.

FIGURA 6

Fenótipos comuns de ADA

Escala: a mesma da figura anterior.


—
HP*1F
HP*1S
HP*2
Origem
2-1S
2
2-1F
2
2-1F
1S
1FS


+
ADA*1
ADA*2
1
2
1
1
1
2-1

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 6.

FIGURA 7

Fenótipos de AK1

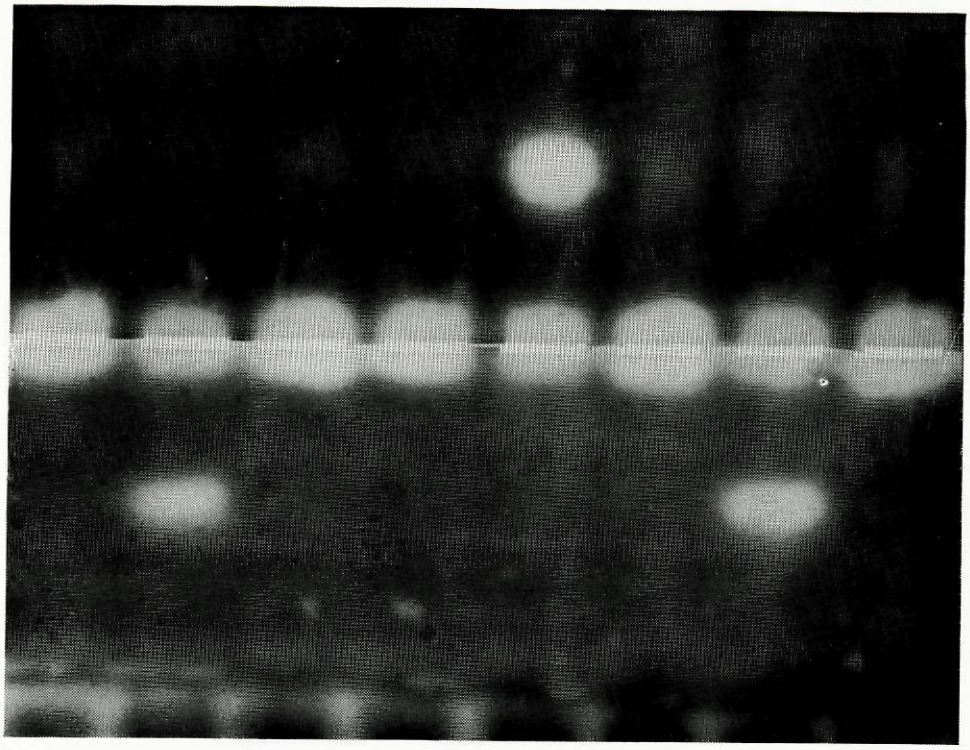
Escala: a mesma da figura anterior.

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 6.

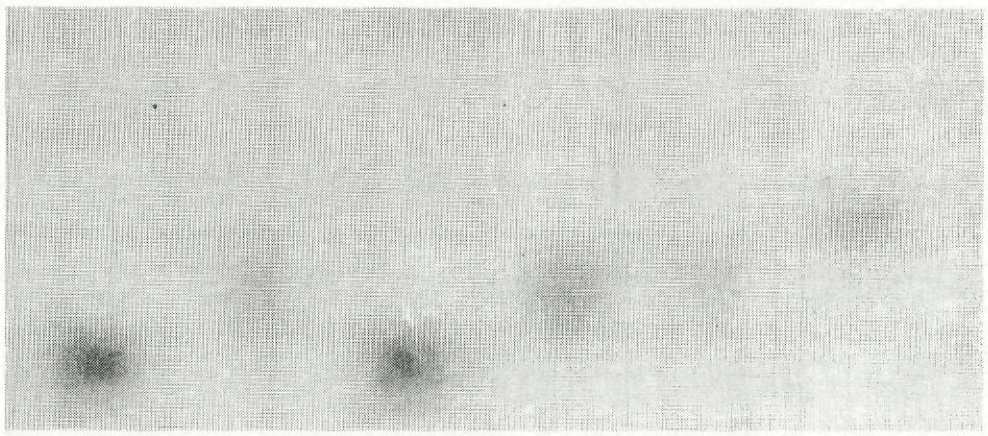
FIGURA 8

Fenótipos comuns de ALAD

Escala: a mesma da figura anterior



1 2-1 1 1 3-1 1 2-1 1



1 2-1 1 2-1 2-1 2

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 6.

FIGURA 9

Variante rara de DIA1 (2-1) comparada com o fenótipo comum

Escala: a inserção de cada amostra tem 0,4cm de compri.

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 6.

FIGURA 10

PGD: fenótipo comum e variante AB

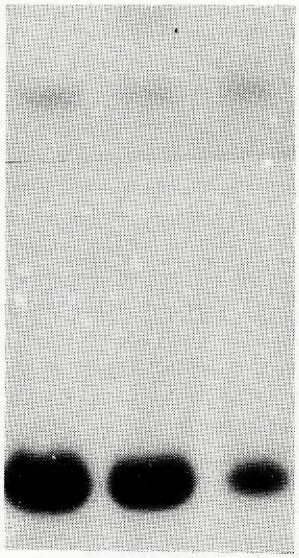
Escala: a inserção de cada amostra tem 1cm de comprimento.

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 6.

FIGURA 11

SOD1: fenótipo comum e variante (2-1)

Escala: a mesma da figura 9.



DIA1*2

DIA1*1

\+

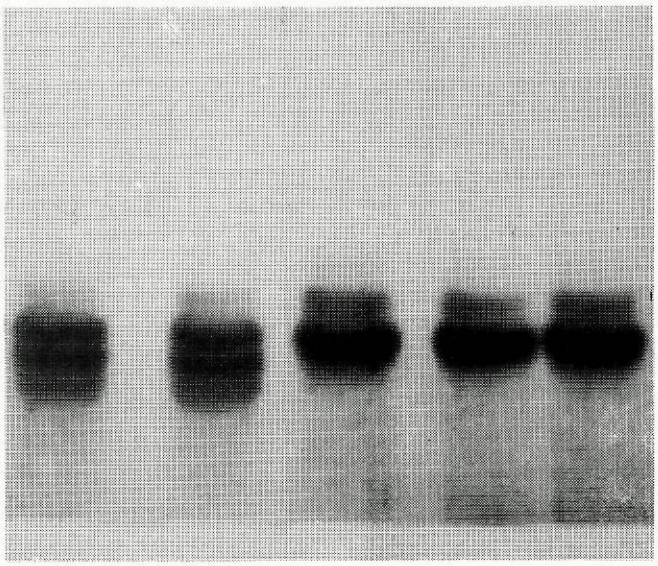
Origem

\-

HB

1 2-1 1

\+



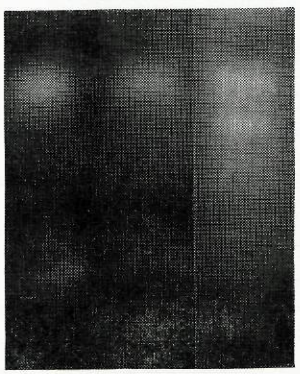
PGD*A

PGD*B

Origem

AB AB A A A

\+



SOD1*1

SOD1*2

1 1 2-1

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 6.

FIGURA 12

Fenótipos comuns de UMPK

Escala: a inserção de cada amostra tem 1cm de comprimento.

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 7.

FIGURA 13

Fenótipos comuns de ACP1

Escala: a mesma da figura anterior.

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 8.

FIGURA 14

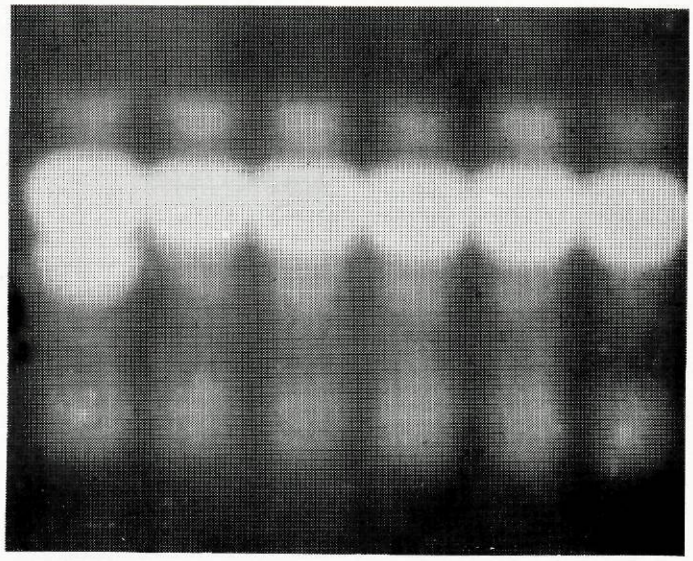
Fenótipos comuns de ESD

Escala: a inserção de cada amostra tem 0,4cm de comprimento

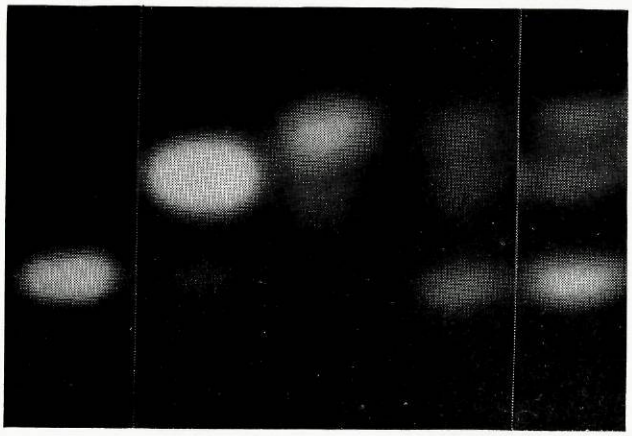
+

UMPK*1

UMPK*2



2-1 1 1 1 1 1



+

ACP1

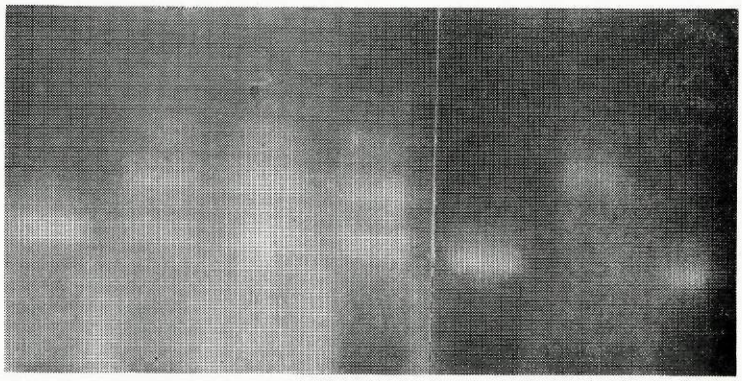
Origem

BC B A AB AC

+

ESD*2

ESD*1



1 2-1 2-1 2-1 1 2 1

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 8.

FIGURA 15

Fenótipos comuns de GLO

Escala: a inserção de cada amostra tem 1cm de comprimento.

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 8.

FIGURA 16

Fenótipos comuns de GOT2

Escala: a mesma da figura anterior.

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 8.

FIGURA 17

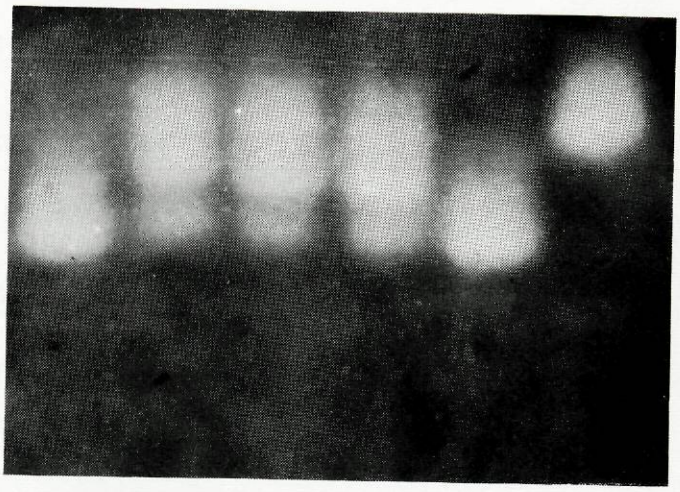
Fenótipos comuns de GPT

Escala: a mesma da figura anterior

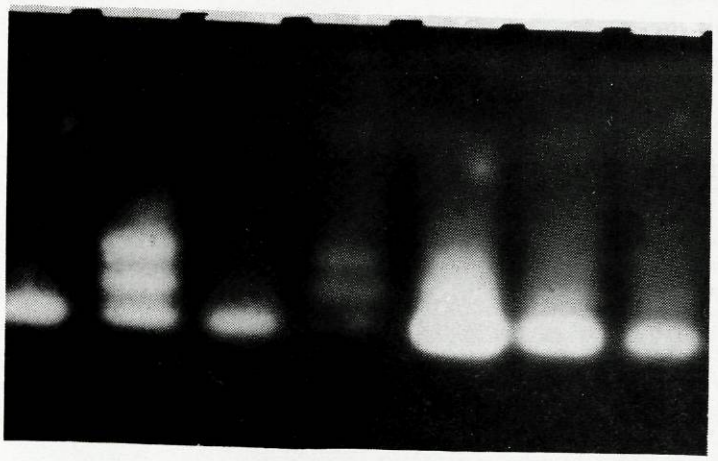
+

GLO*2

GLO*1



1 2-1 2-1 2-1 1 2



Origem

GOT2*2

GOT2*1

—

1 2-1 1 2-1 1 1 1

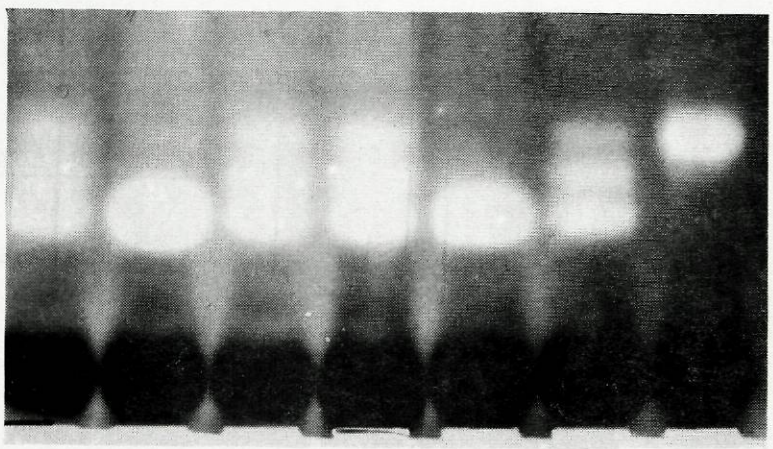
+

GPT*2

GPT*1

HB

Origem



2-1 1 2-1 2-1 1 2-1 2

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 8.

FIGURA 17A

GPT: fenótipo raro 3-2 comparado com os fenótipos comuns

Escala:a inserção de cada amostra tem 0,4cm de comprimento.

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 8.

FIGURA 17B

GPT: fenótipo 2-1M comparado com os fenótipos comuns

Escala: a inserção de cada amostra tem 1cm de comprimento.

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 8.

FIGURA 18

Fenótipos comuns de ME2

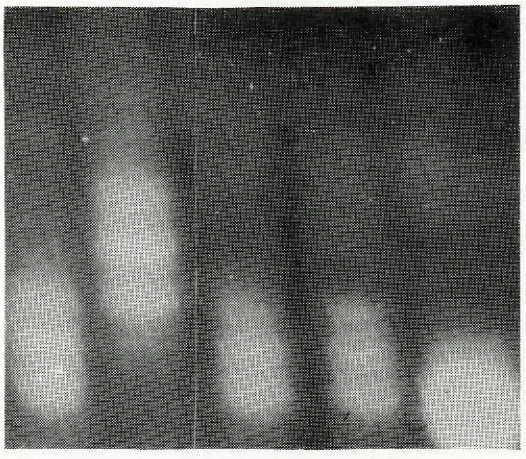
Escala: a mesma da figura anterior.

+

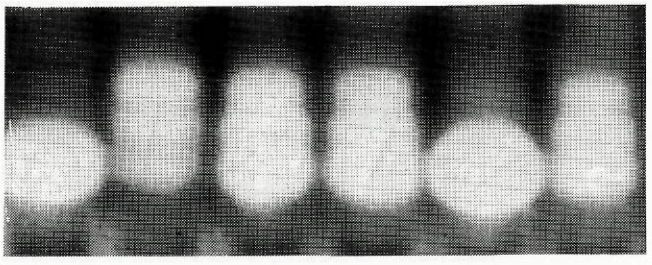
GPT*3

GPT*2

GPT*1



2-1 3-2 2-1 2-1 1



+

GPT*2

GPT*1/GPT*1M

1 2-1M 2-1 2-1 1 2-1

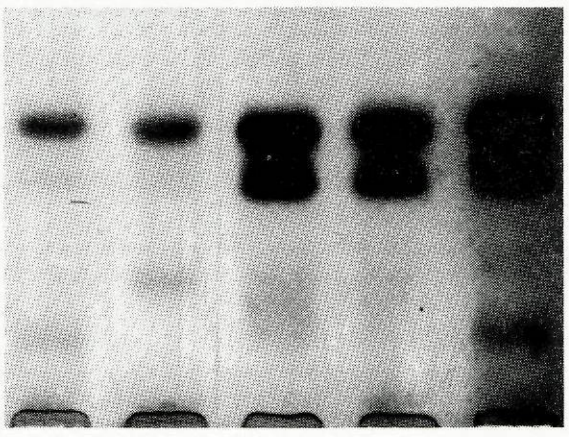
+

ME1

ME2*2

ME2*1

Origem



1 2 2-1 2-1 1

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 8.

FIGURA 19

Fenótipos comuns de PGM1

Escala: a inserção de cada uma das amostras tem 1cm de comprimento

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 8.

FIGURA 19A

PGM1: fenótipo raro 7-1 comparado com os fenótipos comuns

Escala: a inserção de cada uma das amostras tem 0,4cm de comprimento.

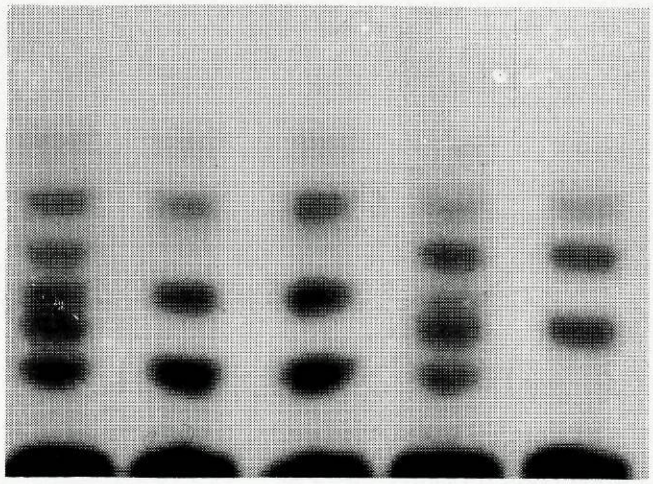
TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 9.

FIGURA 20

Subtipos de PGM1

Escala: a inserção de cada uma das amostras tem 1cm de comprimento

+

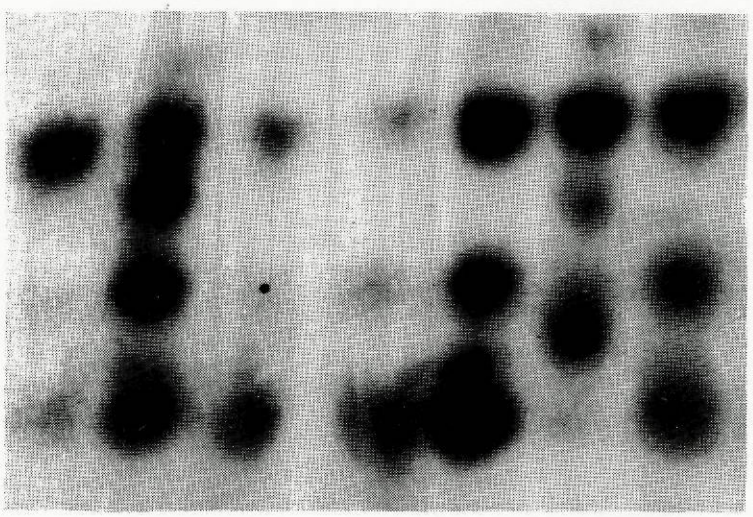


PGM2

PGM1*2
PGM1*1
PGM1*2
PGM1*1

Origem

2-1 1 1 2-1 2



+

PGM2

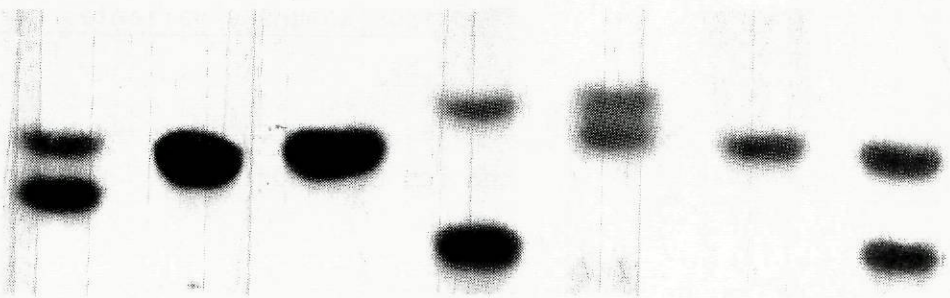
PGM1*7
PGM1*2

PGM1*1/PGM1*7
PGM1*2

PGM1*1

1 7-1 1 1 1 2-1 1

−



PGM1*1F
PGM1*1S
PGM1*2F
PGM1*2S
Origem

2F1S 1S 1S 2S1F 1F1S 1S 2S1S

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 8.

FIGURA 21

Fenótipos comuns de PGP

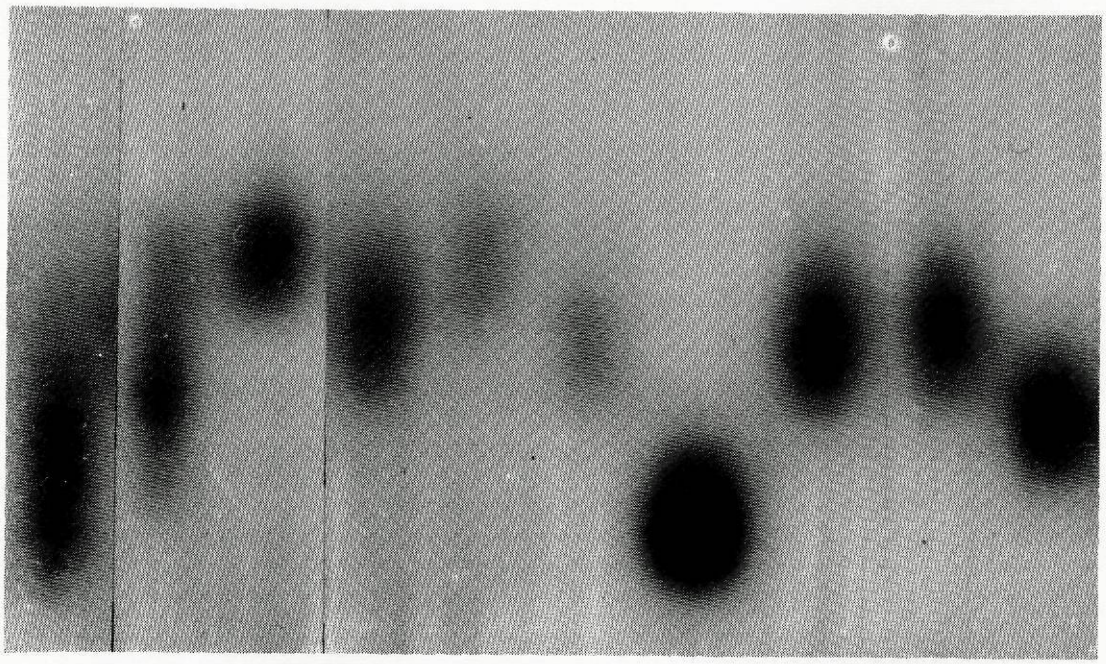
Escala: a inserção de cada uma das amostras tem 0,4cm de comprimento

TÉCNICA ELECTROFORÉTICA 10.

FIGURA 22

Fenótipos comuns e variantes raras "lentas" (Fs e Ss)

Escala: a inserção de cada uma das amostras tem 1cm de comprimento.



+

PGP*1

PGP*3

PGP*2

3-2 2-1 1 3-1 1 3-1 2 3-1 3-1 3

+

BF*F

BF*S

BF*s

Ss S S FS Ss Fs