



FATORES DETERMINISTICOS E ESTOCASTICOS NO PROCESSO MICROEVOLUCIONARIO HUMANO*

FRANCISCO M. SALZANO

Departamento de Genética, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 90000 Porto Alegre, RS, Brasil.

Introdução

Apesar do esforço de muitos pesquisadores, ainda se sabe muito pouco, em termos quantitativos, sobre os fatores responsáveis pela enorme variabilidade biológica que vem sendo detectada na espécie humana. Não há dúvida de que fatores determinísticos, como a mutação e a seleção natural, interagem de maneira complexa com outros (deriva genética, efeito do fundador), estocásticos, para compor o quadro atual. Superposto a este tipo de variação existe ainda aquele causado por fatores sócio-culturais, tornando esquemas interpretativos ainda mais difíceis. O fato é que as diferenças evolutivamente mais importantes são as pequenas, e a nossa espécie exerce uma ação recíproca com o ambiente, transformando-o mais do que ele a altera. Além disso, as possibilidades de manipulação experimental das variáveis genético-ambientais são praticamente nulas.

No lado positivo, no entanto, existe o fato de que se conhece a história natural da espécie humana de maneira muito mais adequada do que é verdadeiro para qualquer outro organismo. Podese, portanto, a partir de verdadeiros "experimentos naturais" como os responsáveis pela descoberta e povoamento do continente americano em épocas pré-históricas e históricas, estabelecer-se inferências quanto às causas dos fenômenos investigados. No decorrer deste artigo irei descrever duas pesquisas realizadas no Brasil que podem ser consideradas como exemplos de como tais problemas podem ser abordados.

*As minhas pesquisas são subvencionadas pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Programa Integrado de Genética), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul e Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da Universidade Federal de Rio Grande do Sul.

Variação citogenética

Roberts (1980) indicou a variação cromossômica normal como uma área promissora da biologia humana, que merece mais atenção do que a recebida até agora. Meu interesse com relação à mesma é antigo, mas teve de aguardar o desenvolvimento das técnicas modernas de bandeamento para se materializar em pesquisa. Os estudos envolveram as regiões heterocromáticas dos cromossomos 1, 9, 16 e Y de indígenas e caucasóides brasileiros (Erdtmann et al., 1981a, b, 1982).

O termo "heterocromatina" foi criado pelo citologista alemão Emil Heitz, para distinguir segmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros que se comportam diferentemente do resto do lote em certas fases do ciclo celular (veja-se Passarge, 1979, para uma excelente revisão sobre o problema, bem como aspectos biográficos do referido cientista). No homem tais regiões são reveladas quando os cromossomos entram em contato com uma solução alcalina forte, seguida por tratamento com salina aquecida e coloração com Giemsa. Os blocos proeminentes que se formam localizam-se nas nas regiões centroméricas de todos os cromossomos, assim como na porção distal do Y. Parece que essas regiões (denominadas de bandas-C) contêm DNA mais fortemente entrelaçado do que o resto do cromossomo, e são mais resistentes ao desenrolamento e destruição devido à forte ligação de seqüências pequenas e numerosas de DNA repetitivo com proteínas ácidas (Evans, 1977).

Tem-se observado variabilidade considerável nas bandas-C dos cromossomos 1, 9, 16 e Y de populações humanas (Buckton et al., 1976; Lubs et al., 1977; Angell e Jacobs, 1978; Viégas e Salzano, 1978). Parte de variação descrita, no entanto, pode ser devida aos diferentes métodos de avaliação subjetiva adotados pelos diversos autores, nesses estudos. Portanto, decidimos usar, em nossa pesquisa, um sistema quantitativo de análise desintométrica, diretamente acoplado ao microscópio. As células eram fotografadas e as regiões cromossômicas acima indicadas percorridas por um feixe de luz, a partir do qual obtinham-se, em um registrador, curvas que posteriormente eram medidas. De cada indivíduo mediam-se duas células.

Sem entrar em detalhes técnicos, é importante salientar que tivemos de enfrentar uma série de problemas metodológicos inesperados. Observou-se um efeito de tamanho na contração da banda (quanto maior a banda, maior a contração por unidade de comprimento), correlações negativas entre os tamanhos das bandas dos autosossomos e o tempo decorrido entre a fixação e a indução das bandas, assim como um efeito do tratamento (em média as bandas CBG eram 17% maiores do que as CNG). Desenvolveram-se, então, métodos para corrigir o efeito desses fatores (Erdtmann et al., 1982) e um resumo dos dados obtidos é apresentado na Tabela I.

Considerando inicialmente as regiões autossômicas, verifica-se que as médias nos caucasóides são significativamente menores do que as dos indígenas. Em relação a esses últimos, apesar de algumas exceções, o quadro geral observado é de homogeneidade. Já no que se refere à banda-C distal do Y, entretanto, a situação é bastante diferente. Os índios da região amazônica estão separados em dois grupos; as duas tribos localizadas mais ao norte (Ticuna e Baniwa) apresentam médias baixas, enquanto que as que vivem mais ao sul (Kanamari e Katukina) mostram números mais altos. Os Caingang, que habitam o extremo sul do Brasil, têm um tamanho de banda-C do Y intermediário, que é similar ao encontrado entre os brancos de Porto Alegre. A distribuição das medidas entre os Caingang é também peculiar, sem uma moda clara e com

Tabela I
 Comprimentos das bandas-C (em micra) de quatro cromossomos
 em seis populações brasileiras*

População	Homens e Mulheres					Homens	
	N.º estudado	Comprimento das bandas-C dos cromossomos**				N.º estudado	Tamanho da banda-C do Y
		1	9	16	1 + 9 + 16		
Índios							
<i>Baniwa</i>	30	2,87 ± 0,41	2,25 ± 0,35	1,76 ± 0,30	6,88 ± 0,83	15	0,81 ± 0,17
<i>Ticuna</i>	191	2,82 ± 0,46	2,41 ± 0,36	1,68 ± 0,24	6,91 ± 0,72	87	0,74 ± 0,16
<i>Kanamari</i>	29	2,83 ± 0,46	2,22 ± 0,26	1,93 ± 0,24	6,98 ± 0,72	15	1,10 ± 0,21
<i>Katukina</i>	28	2,53 ± 0,43	2,45 ± 0,29	1,75 ± 0,20	6,72 ± 0,65	15	1,32 ± 0,15
<i>Caingang</i>	116	2,88 ± 0,39	2,39 ± 0,33	1,70 ± 0,26	6,98 ± 0,71	51	0,97 ± 0,35
Caucasóides							
<i>Porto Alegre</i>	40	2,67 ± 0,44	2,22 ± 0,26	1,62 ± 0,22	6,51 ± 0,72	21	0,94 ± 0,18

*Dados de Erdtmann et al. (1981a, b).

**Somadas das bandas homólogas.

uma pessoa apresentando um Y muito grande (tamanho similar ao dos cromossomos dos grupos D e E). A ampla distribuição dos valores pode ser devida, pelo menos em parte, à mistura racial que ocorre em alguns membros desta tribo.

Essas observações levantam algumas questões interessantes. Apesar de que já se atribuiu uma série de funções à heterocromatina, parece que regiões deste tipo geralmente não apresentam genes estruturais. Esperar-se-ia, portanto, muito mais variação inter-tribal nas bandas-C dos cromossomos 1, 9 e 16. Parecem existir fatores de controle que restringem essa variação. Por outro lado, a diferença entre indígenas e caucasóides indica que tais fatores determinam produtos finais claramente diferentes nesses dois grupos étnicos.

Durante toda a análise, a heterocromatina do Y mostrou um comportamento bem distinto das bandas-C autossômicas. A grande variabilidade encontrada (não apenas entre populações, mas entre indivíduos de uma mesma população) está perfeitamente de acordo com a teoria da "degeneração do cromossomo Y" de H. J. Muller. Devido ao fato de que não há recombinação entre os cromossomos X e Y, mutações recessivas deletérias, protegidas pelos alelos normais presentes no X, acumular-se-ão no Y. Deleções subseqüentes podem explicar decréscimos graduais no tamanho deste cromossomo, que podem ou não alternar com duplicações ou translocações que tenderiam a reconstituir o seu tamanho original (ver Monsalve et al., 1980, para detalhes adicionais). A variação encontrada em populações brasileiras sugere que o Y humano ainda está em processo de evolução (Frota-Pessoa e Aratangy, 1968).

Paradoxo na variabilidade HLA

O sistema de histocompatibilidade humano (HLA) apresenta um grau fantástico de variação, sendo portanto natural que ele começasse a ser usado para investigar relações inter-populacionais. Schanfield (1980) e Livingstone (1980) indicaram algumas das vantagens e desvantagens de seu uso com tais objetivos. O seu polimorfismo pode servir para estabelecer combinações gênicas que seriam específicas para certos grupos; mas a dificuldade de preservação das células no transporte do campo ao laboratório, o número variável de reagentes monoespecíficos, as freqüências baixas da maioria desses antígenos e a margem de erro na identificação dos haplótipos diminui a sua utilidade.

Já foram realizados diversos estudos em índios sul-americanos (Rubinstein et al., 1967; Van der Does et al., 1973; Layrisse et al., 1973, 1975, 1976, 1978; Tittor et al., 1973; Black et al., 1977; Tchen et al., 1978; Johnson et al., 1978; Black et al., 1980; Lawrence et al., 1980; Neel et al., 1980; Jobim et al., 1981; Black e Salzano, 1981). Existe ainda demasiada variação, mesmo em diferentes amostras de uma mesma tribo, impedindo generalizações válidas quanto a freqüências de haplótipos. Mas os resultados indicam claramente uma redução extrema no número de antígenos codificados por alelos nos três locos mais estudados. A Tabela II ilustra este ponto, mostrando o número baixo de haplótipos identificáveis entre os índios Parakanã.

O número reduzido de haplótipos presentes em uma dada população de indígenas sul-americanos aumenta a probabilidade de aparecimento de homocigotos, e esta situação está sendo muito bem explorada por Layrisse et al. (1975, 1978) para estudar o complexo loco HLA-D. Mas uma surpresa aguardava o Dr. F. L. Black quanto ele foi analisar os dados dos Parakanã, acima indicados. A idade média dos heterocigotos HLA

Tabela II

Haplótipos HLA encontrados entre os índios Parakanã*

Haplótipos	Aldeia "Velho"	Aldeia "Novo"	Total
AW31, BW35, CW4	59	26	85
A28, B40, CW3	27	0	27
A28, BW39, -	0	19	19
A2, BW39, -	20	0	20
A2, BW35, CW4	2	6	8
AW24, BW35, CW3	5	3	8
A2, B40, CW3	18	0	18
AW32, -, -	0	1	1
AW24, B15, CW3	0	2	2
AW28, B15, CW3	0	2	2
AW24, B40, CW3	0	3	3
-, B17, CW2	1	0	1
Total	132	62	194

*Dados de Black et al. (1980).

(27 anos) era muito maior do que a dos homocigotos (14 anos; probabilidades de que a diferença fosse ao acaso: menor do que 1%). O número de homocigotos encontrado (21) era também menor do que o esperado pela lei de Hardy-Weinberg (28), mas agora a diferença não era estatisticamente significativa.

Usando tais achados como um estímulo para uma investigação mais aprofundada da distribuição do sistema HLA em indígenas testados pelo grupo de Yale, Black e Salzano (1981) observaram significativamente menos homocigotos (45) de que os esperados (73) em um total de 459 indivíduos (Tabela III; $P < 0.001$). A deficiência ocorria em haplótipos diferentes, de diferentes grupos tribais. Resultados equivalentes já haviam sido obtidos há alguns anos atrás, por Degos et al. (1974), em um pequeno isolado Tuaregue; a comunicação em referência, no entanto, teve pouca repercussão. A descoberta de que o fenômeno também ocorre em Ameríndios poderá estimular novos estudos, que comprovem ou eliminem a hipótese de que ele seja generalizado.

Se há, realmente, um efeito heterótico no sistema HLA, por que, paradoxalmente, o grau de polimorfismo encontrado entre esses índios é tão restrito? Uma combinação entre o efeito do fundador e a deriva genética, causados por reduções populacionais repetidas que tenham durante o povoamento das Américas, poderia explicar tal restrição. Por outro lado, como a exposição dessas tribos a doenças infecciosas aumentou muito em décadas recentes, e supondo que a deficiência de homocigotos seja devida à defesa inadequada contra infecções (o que ocasionaria um aumento na mortalidade), a situação poderia ter sido diferente em épocas anteriores. Um mecanismo plausível para um efeito da homocigose haplotípica quanto à resistência a doenças reside no fato

Tabela III

Número de homocigotos esperado e observado, no sistema HLA, em índios brasileiros*

População	Número estudado	Número de haplótipos diferentes encontrados	Número esperado de homocigotos	Número observado de homocigotos
Tiriko	98	18	11	6
Kaxuyana	14	13	2	1
Molokopote	16	6	4	0
Waiãpi	117	21	13	4
Parakanã Novo	31	8	9	6
Parakanã Velho	67	7	19	15
Xikrin	55	14	8	7
Gorotire	30	17	4	2
Mekranoti	31	11	4	4
Total	459	38	73	45

*Dados de Black e Salzano (1981).

de que a atavição de diversas classes de linfócitos T por antígenos específicos parece requerer a apresentação, às células de defesa, de um dos seus antígenos de histocompatibilidade, como parte do padrão antigênico total que estas células reconhecem (Blenden, 1980). Células portadoras de dois antígenos originados de cada loco teriam maiores oportunidades de resposta do que células homocigóticas.

Conclusão

Em todos os exemplos aqui apresentados pode-se discernir a ação da seleção natural sobre características humanas específicas, embora tal ação esteja sempre associada a fatores estocásticos. A medida que as análises se aproximam, cada vez mais, da ação primária dos genes, será possível obter-se respostas mais precisas às perguntas formuladas. Neste sentido, os polimorfismos de DNA, que estão sendo descobertos através de ação de enzimas de restrição sobre o DNA humano, prometem ser de enorme valia para o esclarecimento de questões diversas da microevolução humana.

Resumo

Os tamanhos das bandas-C dos cromossomos 1, 9, e 16 de indivíduos pertencentes a cinco grupos indígenas e um caucasóide brasileiro mostram, através da análise densitométrica, grande homogeneidade, porém valores diferentes entre brancos e índios. Já a heterocromatina distal do Y apresenta acentuado grau de variabilidade, com a sugestão de um gradiente norte-sul na região amazônica.

No sistema de histocompatibilidade HLA, estudos em oito tribos brasileiras revelam um paradoxo: número restrito de antígenos, porém indicações de um efeito heterótico, talvez relacionado à suscetibilidade a infecções.

A variação observada nesses dois exemplos pode ser interpretada como devida a uma complexa interação entre fatores determinísticos e estocásticos. Mesmo considerando-se as limitações inerentes a estudos na nossa espécie, progressos metodológicos recentes permitem uma atitude otimista quanto ao esclarecimento de problemas importantes do processo microevolucionário humano.

Summary

The C-band sizes of chromosomes 1, 9 and 16 of individuals from five Indian and one Caucasoid Brazilian populations showed, by densitometric analysis, a high degree of homogeneity, but different values between Whites and Indians. On the other hands, the Y distal heterochromatin presented marked variation, with a suggestion of a north-south cline in the Amazon region.

In the HLA histocompatibility system, studies in eight Brazilian tribes revealed a paradox: restricted number of antigens, but indications of a heterotic effect, may be related to susceptibility to infections.

The variation observed in these two examples can be interpreted as being due to a complex interaction between deterministic and stochastic factors. Even considering the limitations intrinsic to studies in our species, recent methodological important problems related to the microevolutionary process in humans.

Referencias

- Angell, R. R.; Jacobs, P. A. 1978. Lateral asymetry in human constitutive heterochromatin: frequency and inheritance. *Am. J. Hum. Genet.* 30: 144-152.
- Black, F. L.; Pinheiro, F. P.; Hierholzer, W. J.; Lee, R. V. 1977. Epidemiology of infectious diseases: the example of measles. In: *Health and disease in tribal societies, Ciba Foundation Symposium N.º 49.* Elsevier, Amsterdam, pp. 115-135.
- Black, F. L.; Salzano, F. M. 1981. Evidence for heterosis in the HLA system. *Am. J. Hum. Genet.* (no prelo).
- Black, F. L.; Salzano, F. M.; Layrisse, Z.; Franco, M.H.L.P.; Harris, N. S.; Weimer, T. A. 1980. Restriction and persistence of polymorphisms of HLA and other blood genetic traits in the Parakana Indians of Brazil. *Am. J. Phys. Anthropol.* 52: 119-132.
- Blanden, R. V. 1980. How do immune response genes work? *Immunol. Today* 1: 33-36.
- Buckton, K. E.; O'Riordan, M. L.; Jacobs, P. A.; Robinson, J. A.; Hill, R.; Evans, H. J. 1976. C- and Q-band polymorphisms in the chromosomes of three human populations. *Ann. Hum. Genet.* 40: 99-112.
- Degos, L.; Colombani, J.; Chaventré, A.; Bengtson, B.; Jacquard, A. 1974. Selective pressure on HL-A polymorphisms. *Nature* 249: 62-63.
- Erdtmann, B.; Salzano, F. M.; Mattevi, M. S. 1981a. Size variability of the Y chromosome distal C-band in Brazilian Indians and Caucasoids. *Ann. Hum. Biol.* 8: 415-424.
- Erdtmann, B.; Salzano, F. M.; Mattevi, M. S.; Flores, R. Z. 1981b. Quantitative analysis of C-bands in chromosomes 1, 9 and 16 of Brazilian Indians and Caucasoids. *Hum. Genet.* 57: 58-63.

- Erdtmann, B.; Salzano, F. M.; Mattevi, M. S. 1982. Quantitative analysis of C-band size in human chromosomes. *Rev. Bras. Biol. (no prelo)*.
- Evans, H. J. 1977. Some facts and fancies relating to chromosome structure in man. *Adv. Hum. Genet.* 8: 347-438.
- Frota-Pessoa, O.; Aratangy, L. R. 1968. The degeneration of the Y chromosome. *Rev. Bras. Pesq. Méd. Biol.* 1: 241-244.
- Jobim, L. F.; Mendes, N. F.; Walford, R.; Wulff, A.; Moura, N. C.; Persoli, L. B. 1981. Antígenos HLA em índios Ticunas. *Rev. HCPA e Fac. Med. UFRGS* 1: 25-28.
- Johnson, A. H.; Noreen, H.; Spees, E. K.; Villalobos, H.; Serrano, H.; Amos, D. B.; Yunis, E. J. 1978. The distribution of the HLA antigens in the Motilones Indians of Venezuela. *Tissue Antigens* 12: 163-169.
- Lawrence, D. N.; Bodmer, J. G.; Bodmer, W. F. 1980. Distribution of HLA antigens in Ticuna Indians of Brazil: results of typing a leprosy-affected family. *Tissue Antigens* 16: 152-160.
- Layrisse, Z.; Heinen, H. D.; Simoney, N.; Ramirez, F.; Layrisse, M. 1978. HLA-D typing with homozygous cells identified in an American indigenous isolate. I. Population studies. *Tissue Antigens* 12: 179-188.
- Layrisse, Z.; Layrisse, M.; Heinen, H. D.; Wilbert, J. 1976. The histocompatibility system in the Warao Indians of Venezuela. *Science* 194: 1135-1138.
- Layrisse, Z.; Layrisse, M.; Malavé, I.; Terasaki, R. H.; Ward, R. H.; Neel, J. V. 1973. Histocompatibility antigens in a genetically isolated American Indian tribe. *Am. J. Hum. Genet.* 25: 493-509.
- Layrisse, Z.; Pulido de Rodriguez, M.; Heinen, H. D.; Layrisse, M. 1975. LD homozygous cells in the Warao population: a possible new allele at the LD1 locus within the main histocompatibility region in man. *Tissue Antigens* 6: 326-334.
- Livingstone, F. B. 1980. Natural selection and random variation in human evolution. In: *Current developments in anthropological genetics*. Mielke, J. H.; Crawford, M. H. (eds.) Plenum Press, New York, pp. 87-109.
- Lubs, H. A.; Patil, S. A.; Kimberling, W. J.; Brown, J.; Cohen, M.; Gerald, P.; Hecht, F.; Myriamthopoulos, N.; Summitt, R. L. 1977. Q and C banding polymorphisms in 7 and 8 year old children: racial differences and clinical significance. In: *Population cytogenetic studies in humans*. Hook, E. B.; Novitski, E. (eds.) Academic Press, New York, pp. 133-159.
- Monsalve, M. V.; Erdtmann, B.; Otto, P. A.; Frota-Pessoa, O. 1980. The human Y chromosome: racial variation and evolution. *Rev. Brasil. Genét.* 3: 433-446.
- Neel, J. V.; Gershowitz, H.; Mohrenweiser, H. W.; Amos, B.; Kostyu, D. D.; Salzano, F. M.; Mestriner, M. A.; Lawrence, d.; Simões, A. L.; Smouse, P. E.; Oliver, W. J.; Spielman, R. S.; Neel, J. V., Jr. 1980. Genetic studies on the Ticuna, an enigmatic tribe of Central Amazonas. *Ann. Hum. Genet.* 44: 37-54.
- Passarge, E. 1979. Emil Heitz and the concept of heterochromatin: longitudinal chromosome differentiation was recognized fifty years ago. *Am. J. Hum. Genet.* 31: 106-115.
- Roberts, D. F. 1980. Current developments in anthropological genetics. *Achievements and gaps*. In: *Current developments in anthropological genetics*. Mielke, J. H.; Crawford, M. H. (eds.). Plenum Press, New York, pp. 419-430.
- Rubinstein, P.; Costa, R.; Van Leeuwen, A.; Van Rood, J. J. 1967. The leukocyte antigens of Mapuche Indians. In: *Histocompatibility testing 1967*. Curtoni, E. S.; Mattiuz, P. L.; Tosi, R. M. (eds.). Munksgaard, Copenhagen, pp. 251-255.
- Schanfield, M. S. 1980. The anthropological usefulness of highly polymorphic systems. HLA and immunoglobulin allotypes. In: *Current developments in anthropological genetics*. Mielke, J. H.; Crawford, M. H. (eds.). Plenum Press, New York, pp. 65-85.
- Tchen, P.; Bois, E.; Feingold, N.; Grenand, F.; Degos, L. 1978. Histocompatibility antigens in two American tribes of French Guiana. *Tissue Antigens* 11: 315-319.
- Tittor, W.; Sobrenes, J.; Smith, G. S.; Sturgeon, P.; Zeller, E.; Walford, R. L. 1973. Distribution of HLA antigens, blood group antigens and serum protein groups in Quechua Indians of Peru.

- In: *Histocompatibility testing 1972*. Dausset, J.; Colombani, J. (eds.). Munksgaard, Copenhagen, pp. 387-390.
- Van der Does, J. A.; D'Amaro, J.; Van Leeuwen, A.; Meera Khan, P.; Bernini, L. F.; Van Loghem, E.; Nijenhuis, L.; Van der Steen, G.; Van Rood, J. J.; Rubinstein, P. 1973. HLA typing in Chilean Aymara Indians. In: *Histocompatibility testing 1972*. Dausset, J.; Colombani, J. (eds.). Munksgaard, Copenhagen, pp. 391-395.
- Viégas, J.; Salzano, F. M. 1980. C-bands in chromosomes 1, 9 and 16 of twins. *Hum. Genet.* 45: 127- 130.

Endereço postal

*Dr. Francisco M. Salzano
Departamento de Genética
Instituto de Biociências, UFRGS
Caixa Postal 1953
90000 Porto Alegre, RS
Brasil*

Telefone: (0512) 21-7225