



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Centro de Ciências Biológicas

Departamento de Genética

Programa de Pós-graduação em Genética

TESE DE DOUTORADO

**HISTÓRIA GENÉTICO-MOLECULAR DA POPULAÇÃO ATUAL DO
NORDESTE BRASILEIRO**

Adriana Vieira Gomes

Recife

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Centro de Ciências Biológicas

Departamento de Genética

Programa de Pós-graduação em Genética

TESE DE DOUTORADO

**HISTÓRIA GENÉTICO-MOLECULAR DA POPULAÇÃO ATUAL DO
NORDESTE BRASILEIRO**

Adriana Vieira Gomes

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do Grau de Doutor.

Orientadora: Profa. Dra. Rosilda dos Santos Silva

Recife

2010

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Gomes, Adriana Vieira

**História genético-molecular da população atual do Nordeste brasileiro/
Adriana Vieira Gomes– Recife: O Autor, 2010.**

75 folhas : il., fig., tab.

Orientadora: Rosilda dos Santos Silva

**Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco,
Centro de Ciências Biológicas, Genética, 2010.**

Inclui bibliografia e apêndices

- 1. Genética molecular humana 2. Polimorfismo (Genética) 3.
Brasil, Nordeste I. Silva, Rosilda dos Santos (orientadora) II.
Título**

611.01816

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB- 2013- 048

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Centro de Ciências Biológicas

Departamento de Genética

Programa de Pós-graduação em Genética

Parecer da comissão examinadora da tese de:

Adriana Vieira Gomes

Intitulada:

**HISTÓRIA GENÉTICO-MOLECULAR DA POPULAÇÃO ATUAL DO
NORDESTE BRASILEIRO**

A comissão examinadora considera o presente trabalho

[APROVADA]

Portanto, cumpridas todas as exigências regimentais, **Adriana Vieira Gomes** faz jus ao grau de Doutor em Genética pela UFPE. Recife, **15/12/2010**

1º Examinador:

Rosilda dos Santos Silva

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

2º Examinador:

Valdir de Queiroz Balbino

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

3º Examinador:

Antônio Carlos de Freitas

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

4º Examinador:

Neide Santos

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

5º Examinador:

Ruy Lyra da Silva filho

Universidade Estadual de Pernambuco - UPE

Ao meu eterno pequeno príncipe, João Pedro
(*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS:

Esta não é só a materialização de um sonho ou mais uma etapa concluída em minha vida. Esta tese é a finalização de um grande objetivo e será a referência de diferentes momentos vividos durante longos cinco anos. Os agradecimentos aqui eternizados não são representados, apenas, pelo período do doutorado, mas pelos importantes acontecimentos vividos em minha vida. Incrivelmente, porém já esperado, as pessoas citadas hoje são as mesmas que sempre estiveram comigo antes. É claro que teve o aparecimento de muitas outras grandes e pequeninas (referencia a idade, por favor!) pessoas...

Minha eterna e inesquecível gratidão:

Papai e Mamãe, dizer mais uma vez o quanto agradeço do fundo da minha alma o amor, respeito, incentivo e confiança que sempre demonstraram por mim, será sem dúvida mais uma busca de palavras insuficientes para expressar toda a minha eterna gratidão... Amo vocês infinitamente sob qualquer circunstância!!!

Aos meus príncipes, Naildo e João Pedro. Vocês mudaram a minha vida... Introduziram uma luz nunca antes enxergada...Meu eterno pequeno príncipe, João Pedro,*in memoriam*, sua missão foi cumprida, sua passagem foi rápida como a velocidade da luz, porém tão marcante como as chamas de um vulcão. Sei que você estará eternamente ao meu lado, independente se o dia está chuvoso ou com um lindo sol. Meu FILHO jamais te esquecerei!!! Meu príncipe Ido, companheiro de muitos momentos tristes e angustiantes, mas autor de inesquecíveis momentos de amor, vitórias e respeito...sentimentos verdadeiros...Minhas palavras também são insuficientes para agradecer todo o seu amor, companheirismo e incentivo sempre demonstrado. Saiba que sou uma grande admiradora e amante de sua grande pessoa...receba estas poucas palavras como representantes de tantas que nunca te disse, mas que sempre estarei disposta a expressar!!!

A minha querida irmã, Apuena. Sua força, perseverança, honestidade, humildade e amor são exemplos que sempre levarei comigo. As palavras aqui também são insuficientes para expressar o quanto te admiro e o quanto te amo! Obrigada por tudo...cada palavra, cada exemplo, cada lágrima, cada sorriso...

A minha Tia Tudinha. Obrigada por todo carinho, pelas palavras sempre estimulantes e confortáveis. Obrigada pela grande fé e por sempre acreditar em mim!!!

A Glorinha. Jamais esquecerei, independente dos anos passados, de tanto carinho, admiração, ajuda e respeito demonstrado. A recíproca sempre, sempre foi verdadeira. Obrigada por tudo!!!

A futura Dra. Joelma Rodrigues. Pela Fé, minha amiga!!! Obrigada por todas as palavras, orações, incentivos e pela grande amizade! Sua pessoa esta eternizada!!!

A turma da torcida sempre presente, Janaína (Nega), Janaína (Ina), Simone (Moninha), D. Luzinete, Vanessa, Edileine Andrade, Paulinha, Jemima e meu eterno escravinho Douglas (Bob) e a todos que passaram pelo LGMH durante este período.

A Profa. Dra. Rosilda. Minha eterna gratidão pelo incentivo, apoio, amizade, respeito e principalmente por nunca ter duvidado de minha capacidade durante estes longos 10 anos. Obrigada de coração!!!

Ao Prof. Dr. Luiz Ferreira. Tenho muito que agradecer as palavras e sugestões para a finalização deste trabalho. confiança em minha capacidade fizeram, honestamente, uma grande diferença!

A Coordenação da Pós-Graduação, Prof. Dr. Valdir Albino e Prof. Dr. Antônio Carlos. Obrigada pela compreensão e pela ajuda inesquecível.

Obrigada a Todos!!!

SUMÁRIO

LISTA DE ABRAVIATURAS	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE TABELAS	X
RESUMO	XII
ABSTRACT	XIII
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DA LITERATURA	
2.1 – História Étnica da População brasileira	04
2.2 – História da Etnicidade da População brasileira	08
2.3 – História Genética da Formação da População brasileira	11
2.4 – Sistemas Genéticos Utilizados	13
2.5 – Dados da Literatura sobre os Sistemas Genéticos utilizados na População brasileira	17
3. MATERIAIS E MÉTODOS	18
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
5. MANUSCRITOS DE ARTIGOS CIENTÍFICOS	32
6. CONCLUSÃO	46
7. ANEXOS	48
8. APÊNDICES	68

LISTA DE ABREVIATURAS

ACD – Ácido Cítrico; Citrato de Sódio Tribásico; Dextrose

AIDS – Síndrome de Imunodeficiência Adquirida

AIM – Marcadores Informativos de Ancestralidade

DISPAN – Distância Genética e Análise Filogenética

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

dNTP - Desorribonucleotídeo Trifosfatado

GDA – Análise de Dados Genéticos

HEMOAL – Hemocentro do Estado de Alagoas

HEMOBA - Hemocentro do Estado da Bahia

HEMOCE – Hemocentro do Estado do Ceará

HEMOÍBA – Hemocentro do Estado da Paraíba

HEMOMAR – Hemocentro do Estado do Maranhão

HEMONORTE – Hemocentro do Estado do Rio Grande do Norte

HEMOPI – Hemocentro do Estado do Piauí

HEMOSE – Hemocentro do Estado de Sergipe

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

HLA – Antígeno Leucocitário Humano

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

MS – Mato Grosso do Sul

PAGE - Gel de Poliacrilamida

Pb – Par de base

PCR – Reação em Cadeia de Polimerase

RFLP – Polimorfismo de Fragmento de Comprimento de Restrição

RJ – Rio de Janeiro

SNP – Polimorfismo de Nucleotídeo Único

STR – Repetição Curta em Tandem

TBE – Tris; Borato; EDTA

UPGMA – Método de Média Aritmética Não Ponderada de Grupos Pareados

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	PÁGINA
-----------------------	--------

Figura 1.	18
------------------	----

Imigração no Brasil, por nacionalidade. Períodos decenais 1884-1893 a 1924-1933.

Figura 2.	19
------------------	----

Desembarque estimado de Negros Africanos – quinquênios 1781-1790 a 1851-1855.

Figura 3.	24
------------------	----

Comparação da distribuição da população brasileira em percentuais, segundo autotclassificação verificada nos anos de 1991 e 2000.

MANUSCRITO

Polimorfismo de 18 locos de STRs na População do Estado do Maranhão, Nordeste do Brasil

Figura 1.	45
------------------	----

Dendograma construído de acordo com o programa DISPAN pelo Método UPGMA utilizando as distâncias genéticas calculadas a partir das frequências alélicas apresentadas por locos de STRs na população do Maranhão e em outras populações do Nordeste do Brasil.

Frequência do *ccr5*- Δ 32 na População do Nordeste Brasileiro: evidência da herança caucasiana

Figura 1.	55
------------------	----

Dendograma construído de acordo com o software DISPAN usando o método UPGMA a partir das distâncias genéticas encontradas entre as frequências do alelo *ccr5*- Δ 32 dos nove Estados do Nordeste Brasileiro e de suas possíveis populações parentais.

APÊNDICE

Figura 1.

77

Dendograma construído com o software DISPAN usando o método UPGMA utilizando das distâncias genéticas calculadas a partir das frequências alélicas apresentadas por locos de STRs nas populações do Nordeste do Brasil e nas populações historicamente consideradas parentais.

.

LISTA DE TABELAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	PÁGINA
Tabela 1. Estimativas do total de portugueses que entraram no Brasil desde o século XVI até o século XX.	18
Tabela 2. Cronograma histórico da chegada de diferentes povos ao Nordeste na época do Brasil colonial.	21
MATERIAL E MÉTODO	
Tabela 1. Número de indivíduos analisados distribuídos por Estado do Nordeste Brasileiro e os respectivos Hemocentros onde as amostras foram obtidas.	30
MANUSCRITO	
Polimorfismo de 18 locos de STRs na População do Estado do Maranhão, Nordeste do Brasil	
Tabela 1. Frequência alélica de 18 locos de STRs em doadores de sangue da população do Estado do Maranhão, Nordeste do Brasil	46
Frequência do ccr5-Δ32 na População do Nordeste Brasileiro: evidência da herança caucasiana	
Tabela 1. Frequências genotípicas e dos alelos do gene ccr5 (ccr5 e ccr5Δ32) nas nove populações do Nordeste Brasileiro.	55

APÊNDICE

Tabela 1. 78

Comparação da frequência do alelo $ccr5\Delta32$ na população dos nove Estados da Região Nordeste do Brasil com a das populações colonizadoras.

Tabela 2. 79

Comparação da frequência do alelo $ccr5\Delta32$ na população do Nordeste do Brasil com outras populações Brasileiras.

RESUMO

O Brasil tornou-se objeto de interesse de estudos genético-populacionais devido às diferenças, fenotípica e social, verificadas entre as populações das cinco regiões geográficas do país. O estudo realizado nas populações atuais fazendo inferências históricas leva em consideração o polimorfismo genético de marcadores moleculares. Em vista disso, analisamos a população do Nordeste brasileiro, relacionando historicamente as populações atuais com as possíveis populações parentais, utilizando como marcadores moleculares o polimorfismo de 18 locos de microssatélites e a frequência do alelo $ccr5\Delta32$ do gene $ccr5$, considerado excelente marcador de origem européia. A amostra foi constituída de 3.079 indivíduos não aparentados dos nove Estados do Nordeste. A extração do DNA foi realizada através do método de *Mini-Salting Out* e os amplificadores separados por PAGE. Os alelos mais frequentes dos locos de STRs foram os mesmos em todas as populações; o alelo $\Delta32$ apresentou menor frequência no Maranhão - MA (0.0214) e maior frequência no Rio Grande do Norte-RN (0.0626), não tendo sido encontrados homozigotos nos Estados do MA, CE, PB, AL e BA. Os dados permitem concluir que o loco $ccr5$ é bem mais eficiente do que as STRs para a análise histórica pretendida, mostrando que a contribuição das populações caucasianas européias na formação das populações brasileiras em geral e, em particular na das populações atuais do Nordeste brasileiro, é maior do que aquela prevista com base apenas nos dados históricos.

Palavras-Chave: Polimorfismos Genéticos; STRs; $ccr5\Delta32$; Nordeste Brasileiro.

ABSTRACT

Brazil became the object of interest in population genetic studies because of differences, phenotypic and social observed among populations from five geographical regions of the country. The current study conducted in populations making historical inferences takes into account the genetic polymorphism of molecular markers. In view of this, we analyzed the population of Northeast Brazil, historically relation the populations present with the possible parental populations, using molecular markers polymorphism of 18 microsatellite loci and the frequency of the allele *ccr5* Δ 32, considered an excellent marker of European origin. The sample consisted of 3079 unrelated individuals from nine Northeastern States. DNA extraction was performed using the method of Mini Salting Out amplified and separated by PAGE. The most frequent alleles of STRs loci were the same in all populations, the Δ 32 allele showed lower frequency in Maranhão-MA (0.0214) and more frequently in Rio Grande do Norte-RN (0.0626) and has not been homozygote found in the states of MA, CE, CP, AL and BA. The data shows that the *ccr5* locus is much more efficient than STRs intended for historical analysis, showing that the contribution of European Caucasian populations in the formation of the Brazilian population in general and particularly in the current population of Northeastern Brazil, is larger than that predicted based only on historical data.

Key-Words: Genetic Polymorphism; STRs; *ccr5*- Δ 32; Northeast Brazil.

I. INTRODUÇÃO

Há uma grande variabilidade entre indivíduos da mesma espécie, tanto entre populações como dentro de uma mesma população. A percepção da existência de diferenças entre indivíduos de uma mesma espécie é antiga na história da humanidade (Futuyma, 1992). Esta diversidade entre populações pode ser estudada através da interação da filogeografia com a genética molecular, genética de populações, filogenética, demografia e geografia histórica (Parra *et al.*, 2003). Estes estudos, além de fornecerem informações sobre as mudanças microevolutivas que ocorreram ao longo do tempo nas populações humanas, também fornecem informações objetivas sobre a sua heterogeneidade genética e auxilia a compreensão da distribuição de certas doenças hereditárias, que são devidas, primariamente, a genes oriundos das populações ancestrais (Reed, 1969; Salzano, 1982).

No campo da genética, o estudo das populações atuais para fazer inferências históricas utiliza ferramentas da genética molecular e de populações, levando-se em consideração os estudos dos polimorfismos genéticos. Os microssatélites ou STRs (*Short Tandem Repeats*) vêm sendo utilizados como marcadores genéticos desde 1980, quando foi descoberto o RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (Hancock, 2000). Desde então, são os marcadores genéticos mais utilizados para caracterização de populações humanas.

O alto grau de polimorfismo e a herança mendeliana são características que tornam as STRs particularmente úteis em estudos evolutivos (Meloni *et al.*, 1998; Xiao *et al.*, 1998), antropológicos (Butter *et al.*, 1995; Takahashi *et al.*, 1997; Drmic *et al.*, 1998), genética forense (Busque *et al.*, 1997), diagnóstico médico, (Lins *et al.*, 1996), predição de parentesco evolutivo entre populações e investigação do grau de diversidade gênica nas diferentes populações do mundo (Frégeau *et al.*, 1998).

O polimorfismo do gene CMKBR5 (*ccr5*) é outro exemplo de marcador molecular que tem sido estudado em diversas áreas como, epidemiologia, infectologia, imunologia e genética de populações (Galvani *et al.*, 2005). Uma deleção de 32 pares de bases neste gene deu origem ao alelo mutante *ccr5*- Δ 32, cuja presença em homozigose tem sido relatada em indivíduos resistentes à AIDS (Dean *et al.*, 1996). A distribuição global do alelo mutante tem apresentado uma ampla variação, não ficando restrita às populações européias onde é detectado com frequências iguais ou superiores a 10% (Chies *et al.*, 2003). No Oriente Médio e no território Indiano esse alelo tem frequência de 2 a 5% e

apresenta uma frequência muito baixa (0-1%) entre africanos, japoneses e (Grimaldi *et al.*, 2002; Chies *et al.*, 2003). Esses dados o tornam um ótimo marcador genético-molecular em estudos populacionais, evolutivos e antropológicos.

As populações contemporâneas são o resultado de um prolongado processo de miscigenação, cuja intensidade variou ao longo do tempo e entre populações. Este processo é muito evidente na população brasileira, devido à extrema variabilidade de seus grupos étnicos (etnias definem-se neste trabalho, como grupos populacionais que têm características físicas e/ou culturais em comum), parentais e à sua elevada taxa de miscigenação (Parra *et al.*, 2003).

Apesar da estrutura genética da população brasileira ter sido consolidada entre os séculos XVI e XVIII, como resultado do entrecruzamento de brancos europeus, negros africanos e índios nativos, esta heterogeneidade proporcionou uma composição étnica diferente entre o povo brasileiro, de acordo com a região geográfica (Ribeiro, 1995). Segundo Callegari-Jacques e col. (1990), em termos gerais os indivíduos trihíbridos (branco/índio/negro) predominam no Nordeste, os dihíbridos (branco/índio) no Norte e Centro-Oeste, enquanto os descendentes de europeus relativamente livres de miscigenação ocorrem em grandes proporções no Sul do país. No entanto, os estudos que fazem inferência histórica dos dados obtidos a partir do polimorfismo genético-molecular para caracterizar a atual estrutura da população brasileira, ainda são escassos, podendo ser citados: Reed (1969); Salzano *e col.* (1982); Conceição *e col.* (1987); Parra *e col.* (1998); Arpini-Sampaio *e col.* (1999); Callegari-Jacques *e col.* (1990); Lebout *e col.* (1999); Pena (2000) e Nigam *e col.* (2004).

Os critérios utilizados para a realização dos censos populacionais (impressão visual e distribuição estatística de caracteres físicos), desde o período colonial geraram um tipo de classificação das pessoas em forma de gradiente de cor de pele, do Norte para o Sul do país, que se estende até os dias atuais. Mesmo com a criação do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) em 1934, a classificação do povo brasileiro continua adotando o mesmo critério de classificação por raça (embora o IBGE use este termo, ele é mais uma construção social e cultural do que biológica). Do ponto de vista genético, não existem raças humanas (Pena, 2000). Este tipo de classificação dificulta as pesquisas que buscam fazer inferências históricas da ancestralidade de uma população. Para tanto é necessária uma caracterização genética e/ou genético-molecular das populações supostamente parentais e da população miscigenada a ser estudada que deve ser comparada com aquela das populações supostamente parentais.

Em vista disso, o presente trabalho teve como objetivo traçar um panorama genético molecular da população do Nordeste brasileiro, relacionando historicamente as populações atuais com as possíveis populações parentais, utilizando como marcadores moleculares o polimorfismo de 18 locos de microssatélites e a frequência do alelo *ccr5*- Δ 32 do gene *ccr5*, considerado excelente marcador de origem européia.

Com os dados obtidos da pesquisa foi possível:

1. Caracterizar a população atual do Nordeste brasileiro quanto ao polimorfismo de 18 locos de microssatélites e do alelo mutante *ccr5*- Δ 32;
2. Determinar as frequências dos locos CSF1PO, D3S317, D7S820, D8S1179, D12S391, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, F13A₁, F13B, FESFPS, FGA, LPL, PENTA E, TPOX, TH01 e VWA;
3. Construir um banco de dados e determinar a estrutura genética da população nordestina com base nas frequências alélicas dos locos analisados;
4. Comparar os resultados obtidos com aqueles existentes de populações nordestinas e em outras populações brasileiras, verificando as semelhanças e as diferenças genéticas existentes entre elas;
5. Avaliar a eficácia dos locos estudados como marcadores genéticos em estudos populacionais, evolutivos e antropológicos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 História Étnica da População Brasileira

Até 1700, as fontes de dados sobre a população do Brasil eram relatórios preparados com outras finalidades, como os relatórios de autoridades eclesiásticas, sobre os fiéis que freqüentavam a igreja e os relatórios de funcionários da Colônia enviados para as autoridades da Metrópole. Usava-se, também, como fonte de informação, as estimativas da população fornecida pelos Ouvidores, ou outras autoridades, que eram encaminhados à Intendência Geral da Polícia (Giorgio, 1941).

Somente a partir de 1750, visando objetivos militares, a Coroa Portuguesa decidiu realizar levantamentos, de forma direta, da população livre e adulta, apta a ser convocada para a defesa do território. Porém, o primeiro regulamento censitário no Brasil, data de 1846. O primeiro censo, então, foi programado para ocorrer em 1872 sendo nomeado Recenseamento da População do Império do Brasil (IBGE, 2000). O resultado deste censo demográfico realizado no Brasil, em 1872, mostrou que a população brasileira atingia 9.930.478 habitantes, dos quais 3.787.289 brancos, 1.954.452 pretos, 3.380.172 pardos (o termo utilizado para mulatos) e 386.955 caboclos (termo tradicional para mestiços de índio e branco). Contudo, incluía neste censo a população indígena aculturada. Enquanto o censo classificava a população livre em quatro categorias, a população escrava se dividia apenas em pretos e pardos. A população indígena não aculturada não foi contada, mas dados históricos indicam que era bastante reduzida (Giorgio, 1941).

A história da população brasileira, assim como das populações humanas de todo o Novo Mundo, tem duas fases bem distintas: a primeira começa com a chegada dos primitivos habitantes indígenas e se estende por vários milênios; a segunda inicia-se com a colonização européia, a chegada dos negros africanos e as misturas entre etnias (Conceição *et al.*, 1987).

Em 1500, ano da chegada de Pedro Álvares Cabral ao Brasil, esta região já era habitada por vários povos indígenas, que se espalhavam por todo o território. Há uma concordância geral de que a principal rota dos ancestrais dos índios americanos no continente ocorreu através do Estreito de Bering no final da idade do gelo, há 12 mil anos. Isto não exclui, entretanto, a possibilidade de que outras migrações menores tenham ocorrido através do Pacífico (Salzano *et al.*, 1986).

À época do descobrimento, a população indígena foi estimada entre 1 a 5 milhões de habitantes, que se agrupavam em quatro troncos lingüísticos principais: o Tupi ou Tupi-Guarani, na região litorânea e em algumas áreas do interior; o Jê ou Tapuia, no Planalto Central; o Caraíba ou Karib, na região Norte do Amazonas e o Aruaque ou Nu-aruaque, na Bacia Amazônica e no Estado do Mato Grosso. Havia, também, outros pequenos grupos lingüísticos, dispersos entre esses maiores, como os Pano, Tucano, Bororó e Nhambiquara (Medeiros Filho, 1984).

Os portugueses, principais ancestrais europeus da população brasileira, era um povo de composição bastante miscigenada derivado de um grupo étnico primitivo, que vivia na região atualmente denominada Portugal e cuja origem se desconhece (Conceição *et al*, 1987). Com o passar do tempo e através de sucessivas invasões e imigrações, realizou-se o cruzamento desse povo com celtas, fenícios, gregos, romanos, suevos, visigodo, judeus, árabes e bérberes (Maior, 1967; Nogueira, 1988). Portugal recebeu ainda um apreciável contingente de negros. No século XVI, entraram milhares de escravos africanos, a ponto de, em 1557, mais de 10% da população de Lisboa ser constituída de negros (Salzano e Freire-Maia, 1967).

Os portugueses que chegaram ao Brasil originaram-se de Lisboa, Minho, Ilhas, Extrema-Dura e da região do Alentejo e pertenciam a famílias abastadas. O período em que fica mais evidente a origem rica dos imigrantes portugueses é o compreendido entre 1808 e 1817, quando cerca de 10 ou 15 mil portugueses dos que aqui chegaram distinguiam-se pela riqueza e pelo nível de educação: pertenciam à corte de D. João VI ou eram caixeiros, isto é, indivíduos com uma clara inserção nos grandes ou médios estabelecimentos. Além disso, tinham um nível de educação mais elevado do que a média da população portuguesa da época. (Maior, 1967).

No início da colonização, o número de imigrantes europeus foi muito reduzido. Os registros da imigração portuguesa apareceram no século XVI e se tornaram mais regulares a partir do século XIX. Nos primeiros dois séculos de colonização vieram para o Brasil cerca de 100 mil portugueses, com uma média anual de 500 imigrantes. No século seguinte, esse número aumentou tendo sido registrado 600 mil e uma média anual de 10 mil imigrantes portugueses. O ápice do fluxo migratório ocorreu na primeira metade do século XX, entre 1901 e 1930: a média anual ultrapassou 25 mil (Conceição *et al.*, 1987) (Tabela 01).

Tabela 01 - Estimativas do total de portugueses que entraram no Brasil desde o século XVI até o século XX. (IBGE, 2000)

Estimativas de Imigração Portuguesa no Brasil				
Período	América Portuguesa	Império Colonial	Média anual América Portuguesa	Média anual Império Colonial
1500-1580	100.000	280.000	500	3.500
1581-1640		300.000		5.000
1641-1700		120.000		2.000
1701-1760	600.000		10.000	
1808-1817	24.000		2.666	
1827-1829	2.004		668	
1837-1841	629		125	
1856-1857	16.108		8.054	
1881-1900	316.204		15.810	
1901-1930	754.147		25.138	
1931-1950	148.699		7.434	
1951-1960	235.635		23.563	
1961-1967	54.767		7.823	
1981-1991	4.605		406	

Além da imigração portuguesa, os povos que mais contribuíram para a composição dessas correntes imigratórias, uma vez que todos mantiveram estreito contato com o povo brasileiro que nascia, foram, em ordem decrescente, os italianos, espanhóis, alemães, franceses e holandeses. A maioria dos europeus não-portugueses se estabeleceu na região Sul e Sudeste do país (Pena, 2000) (Figura 01)

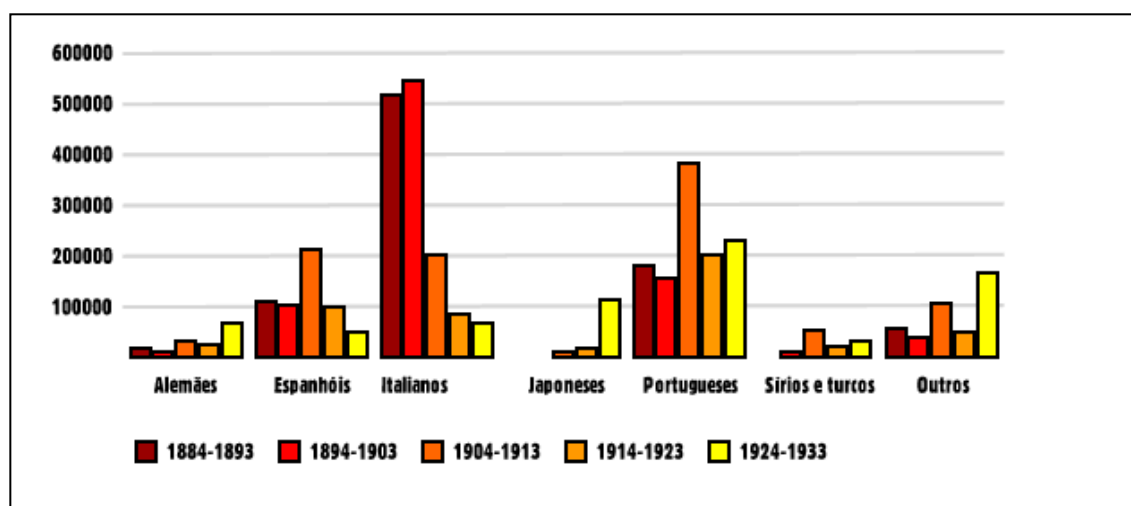


Figura 01: Imigração no Brasil, por nacionalidade. Períodos decenais 1884-1893 a 1924-1933 (IBGE, 2000)

Os negros africanos foram trazidos para o Brasil para trabalharem como escravos. Por conseguinte, a evolução da quantidade do componente africano é diretamente ligada à escravidão. No Brasil, há registros da existência de escravos a partir de 1531, na Capitania de São Vicente, São Paulo. Registros históricos estimam que havia no Brasil um número de aproximadamente 4 milhões de negros entre 1551 e 1850. A maioria pertencia a um dos dois grandes grupos lingüísticos: Sudaneses e Bantos (Cavignac, 2003). A Figura 02 mostra a estimativa de africanos no Brasil no período de 1781 a 1855 (IBGE,2000).

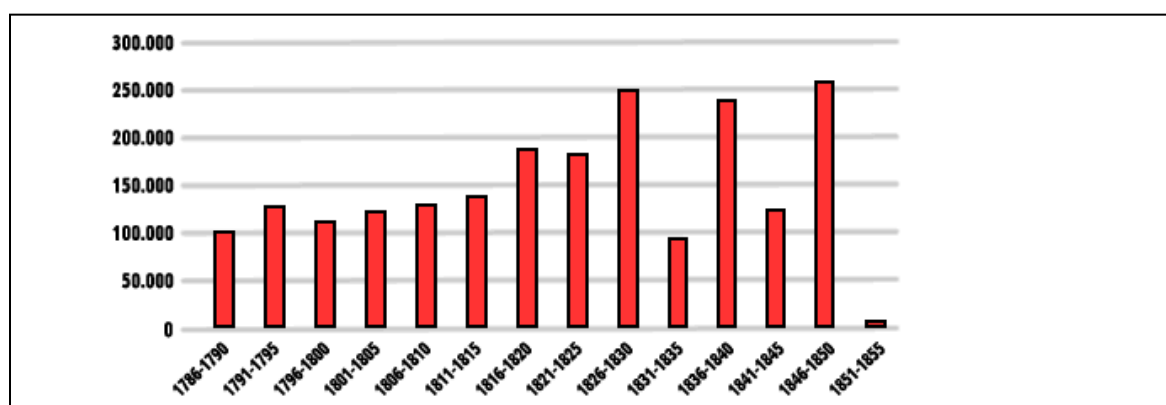


Figura 02: Desembarque estimado de Negros Africanos – quinquênios 1781-1790 a 1851-1855. (IBGE, 2000)

Os Sudaneses eram originários da região ao Norte do Golfo da Guiné, compreendendo, principalmente, Senegal, Guiné Portuguesa e Costa do Marfim. Na sua maior parte este grupo é representado pelos povos iorubans da Nigéria (Nagô, Ijechá, Eubá, Ibadan), Daometanos (Gege, Ewe, Fon e Efan), Fanti e Ashanti da Costa Mina, e grupos menores da Gâmbia, Serra Leoa, Libéria, etc. Os representantes da cultura sudanesa foram trazidos quase que exclusivamente para a Bahia (Cavignac, 2003).

Os Bantos que vieram para o Brasil eram provenientes, principalmente, de Angola, do Congo (costa) e de Moçambique (contracosta). Os escravos deste grupo foram estabelecidos principalmente no Rio de Janeiro e São Paulo, de onde eram distribuídos para Minas Gerais e Goiás; em Pernambuco e Alagoas, de onde eram espalhados para o Ceará e outros Estados do Nordeste; e no Maranhão e Pará (Medeiros, 1980).

2.2 História da Etnicidade da População do Nordeste Brasileiro

O Nordeste, uma das cinco regiões em que se divide hoje o território nacional, abrange nove Estados. A região tem uma área total de 1.553.917km², uma população residente de 47.741.711 pessoas das quais 32,94% se classificam de cor branca; 7,7% preta; 58,02% parda; 0,14% amarela; 0,36% indígena e os 0,84% restantes não se classificaram. A densidade demográfica calculada foi de 30 milhões de habitantes por quilômetro quadrado (IBGE, 2000). A sua costa foi a primeira área a ser explorada no país, devido à proximidade com a costa Oeste da África sendo mais facilmente atingível pelos navegadores aventureiros da época (Magalhães, 1970). O povoamento do Nordeste (Tabela 02) iniciou-se no século XVI, com a colonização do litoral e as migrações pastoris para os sertões (Garcia, 1986). A riqueza e a abundância dos recursos naturais da colônia atraíram, ainda, piratas e aventureiros de outros países da Europa, tais como franceses, holandeses e ingleses (Garcia, 1986).

Com o estabelecimento do Governo Geral da Bahia, em 1549, a colonização irradiou-se, através de expedições armadas, para o Norte do país. No final do século XVI, Sergipe, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Paraíba haviam sido incorporados ao território conquistado. A chegada a Sergipe, por sua vez, abriu o caminho para o sertão e através dele, os portugueses chegaram ao Parnaíba. No Maranhão, em expedições contra os franceses, os portugueses desbravaram o litoral e parte do sertão (Garcia, 1986).

No ano de 1610, os portugueses chegaram ao Ceará e, avançando sempre para o Norte, conquistaram o Pará. De 1624 a 1654, os holandeses formaram colônias, passando a dominar todo o litoral entre o Rio São Francisco, Pernambuco (sede do Governo Holandês), e o Rio Grande do Norte, estendendo-se até o Ceará e o Maranhão, local de onde expulsaram os invasores franceses. Na luta contra os holandeses, os três elementos da formação histórica brasileira recuaram para o interior, através das “entradas” pelos sertões do Nordeste (Magalhães, 1970).

O processo de desbravamento do território piauiense deu-se em 1697, do interior para o litoral, ao contrário do que ocorreu nos demais Estados quando estava praticamente assentado o contorno geográfico das demais províncias limítrofes. A sua colonização foi fruto de iniciativa privada, processada de maneira espontânea e desordenada por fazendeiros e aventureiros, que não recebiam estímulo nem apoio dos poderes públicos, estando, as autoridades coloniais, voltadas para as fabulosas riquezas de Minas Gerais (Nunes, 1975).

TABELA 02 - CRONOGRAMA HISTÓRICO DA CHEGADA DE DIFERENTES POVOS AO NORDESTE NA ÉPOCA DO BRASIL COLONIAL

ESTADO	COLONIZAÇÃO	COLONIZADORES	PERÍODO	NEGROS AFRICANOS	ÍNDIOS NATIVOS (Tronco Lingüístico)	CENSO 2000 IBGE	REFERÊNCIAS
MA	1612	Açoriano	1619-1924			Branca 26,76%	Nogueira, 1988 Ribeiro, 1995
		Francês	1612-1615	Banto	Tapuia	Preta 9,59%	
		Holandês	1641-1644	Sudanês	Tupi	Parda 62,29%	
		Português	1535			Amarela 0,13%	
						Indígena 0,49%	
						S/ declarar 0,74%	
PI	1674	Português	1674	Banto	Tapuia	Branca 26,47%	Magalhães,1970 Ribeiro, 1995
						Preta 7,75%	
						Parda 64,59%	
						Amarela 0,19%	
						Indígena 0,09%	
						S/ declarar 0,91%	
CE	1603	Açoriano	1603-1607			Branca 26,47%	Garcia, 1986 Souza, 1995
		Francês	1604-1607	Banto	Tapuia	Preta 7,75%	
		Holandês	1637-1644		Tupi	Parda 64,59%	
			1649-1654			Amarela 0,19%	
		Português	1610			Indígena 0,09%	
						S/ declarar 0,91%	
RN	1598	Francês	1535-1599	Banto	Tapuia	Branca 42,19%	Medeiros Filho, 1998 Medeiros T, 1984
		Holandês	1633-1654	Sudanês	Tupi	Preta 4,55%	
		Português	1598			Parda 52,37%	
						Amarela 0,09%	
						Indígena 0,11%	
						S/ declarar 0,69%	

TABELA 02 - (continuação)

PB	1584	Espanhol	1574-1585	Banto	Tupi	Branca 42,60%	Florestan, 1949 Ribeiro, 1995
		Francês	1570-1584			Preta 3,96%	
		Holandês	1634-1654			Parda 52,29%	
		Português	1574			Amarela 0,07%	
						Indígena 0,29%	
						S/ declarar 0,79%	
PE	1537	Francês	1561-1567	Banto	Tupi	Branca 40,84%	Guerra, 1979 Souza, 1995 Nogueira,1998 Cavalcante, 2002
		Holandês	1630-1654			Preta 4,94%	
		Português	1534			Parda 52,90%	
						Amarela 0,12%	
						Indígena 0,44%	
						S/ declarar 0,76%	
AL	1535	Holandês	1630-1645	Banto	Tupi	Branca 34,12%	Florestan, 1949 Ribeiro, 1995 Pimentel, 2001
		Português	1535			Preta 5,05%	
						Parda 59,46%	
						Amarela 0,10%	
						Indígena 0,32%	
						S/ declarar 0,95%	
SE	1590	Francês	1550-1555	Sudanês	Tupi	Branca 31,54%	Almeida, 1978 Aquino, 1980
		Holandês	1637-1645			Preta 6,24%	
		Português	1645			Parda 60,81%	
						Amarela 0,16%	
						Indígena 0,38%	
						S/ declarar 0,87%	
BA	1534	Francês	1555-1560	Sudanês	Tupi	Branca 25,20%	Medeiros Filho, 1998 Medeiros T, 1984
		Holandês	1624-1625			Preta 13,02%	
		Português	1559			Parda 60,14%	
						Amarela 0,18%	
						Indígena 0,49%	
						S/ declarar 0,96%	

2.3 História Genética da Formação da População Brasileira

De acordo com Futuyma (1992), o *Homo sapiens* constitui uma espécie cosmopolita e única. Nesta espécie são reconhecidos três grandes grupos étnicos (brancos, negros e mongóis) identificados com base em características físicas tais como cor da pele, textura do cabelo, forma do nariz e dos olhos, espessura dos lábios, forma dos incisivos, forma da cabeça e estatura, que variam de acordo com a distribuição geográfica. Além destas diferenças nas características físicas, as distribuições alélicas, genotípicas e haplotípicas apresentadas por diversos locos polimórficos, também apresentam diferenças marcantes nos diferentes grupos étnicos (Parra *et al.*, 2003).

A elucidação do passado histórico da população atual do Brasil tem chamado atenção de pesquisadores de vários países, uma vez que a história da colonização das Américas tem uma grande diversidade, desde o tipo de colonização ao colonizador. O Brasil tornou-se objeto de interesse de estudos genético-populacionais devido às diferenças (fenotípica e social) verificadas entre as populações das cinco regiões geográficas do país, dando ênfase ao Norte, Nordeste e ao Sul (Callegari-Jacques *et al.*, 1990).

Nos últimos 50 anos, vários pesquisadores vêm tentando quantificar a relativa contribuição dos três grupos étnicos formadores da população atual brasileira. Sabe-se que no Brasil indicadores de aparência física como cor de pele, cor dos olhos e tipo dos cabelos têm relativamente pouca relação com a ascendência de cada pessoa (Callegari-Jacques *et al.*, 2003).

De acordo com o último censo demográfico (2000, IBGE), o Brasil possuía, naquele ano, uma população de 170 milhões de habitantes, dos quais 91 milhões se classificaram como brancos (53,53%), 65 milhões como pardos (38,23%), 10 milhões como pretos (5,88%), 761 mil como amarelos (0,5%), 734 mil como indígenas (0,43%) e 2.505 mil como não declarantes (1,48%).

A população do Sul do país vem revelando a grande contribuição gênica e cultural dos colonizadores caucasianos europeus (90%), a população das Regiões Norte e Nordeste mostrando a miscigenação ocorrida entre sua população nativa, os colonizadores europeus e os escravos trazidos da África. De acordo com um estudo realizado por Grattapaglia e col. (2010) utilizando 28 marcadores informativos

ancestrais como os SNPs (*single-nucleotide polymorphism*), o Nordeste encontra-se, assim, constituído: 77,1% de Europeus, 14,4% de Africanos e 8,5% de Ameríndios.

Comparando os resultados censitários de 1991 e 2000, nota-se que em todo o país, aumentou a proporção de pessoas que se declararam de cor preta (de 5%, em 1991, para 6,2%, em 2000) e diminuiu a proporção de pardos (de 42,6%, em, 1991, para 39,1%, em 2000), o que pode ser um indicativo de mudança nos padrões de identificação e de autoclassificação do brasileiro. Na Bahia, a mudança foi mais intensa e a proporção de pessoas de cor preta subiu de 10, 2%, em 1991, para 13,1%, em 2000, e a de pardos caiu de 69,3%, em 1991, para 62,5%, em 2000 (IBGE, 2000) (Figura 03).

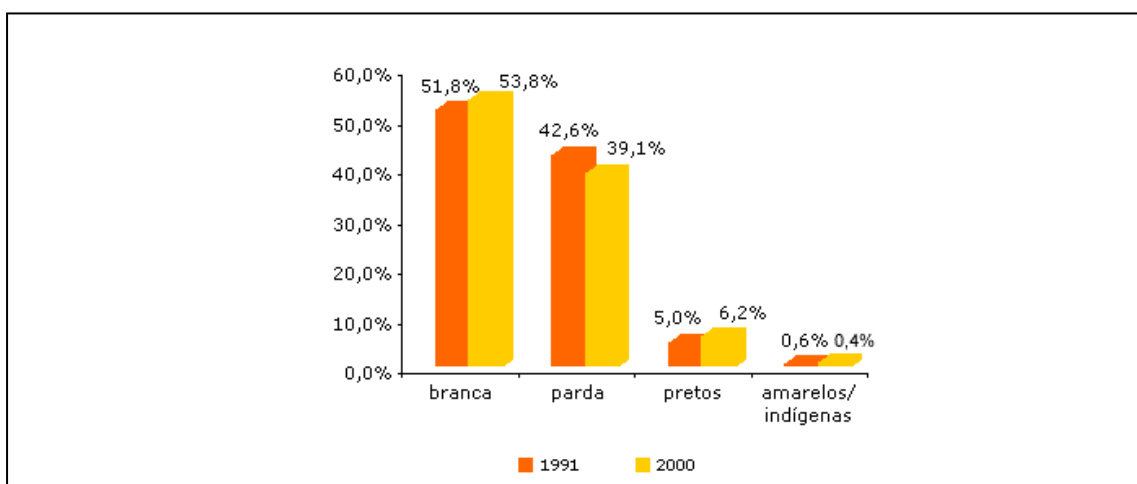


Figura 03: Comparação da distribuição da população brasileira em percentuais, segundo autoclassificação verificada nos anos de 1991 e 2000 (IBGE, 2000)

Os estudos realizados nas populações atuais fazendo inferências históricas levam em consideração o polimorfismo genético oriundo de marcadores moleculares, como microssatélites de autossomos e alossomos e outros sistemas genéticos como, por exemplo, sistema de HLA, SNPs, mutação do gene *ccr5Δ32* e polimorfismo protéico (Sans, 2000).

Estudos genéticos realizados em habitantes de capitais nordestinas têm confirmado a origem mestiça desta população. A contribuição de cada etnia varia de capital para capital, sendo que a Européia é a principal, na maioria das regiões, e na região Nordeste, como um todo. Para a população de Natal, a ancestralidade encontrada foi 58% européia, 25% africana e 17% indígena (Callegari-Jacques *et al.*, 2003). Para a população de Aracajú, 62% européia, 34% africana e 4% indígena (Franco *et al.*, 1982). No caso de São Luís, a ancestralidade encontrada foi 42% européia, 19% africana e

39% indígena (Ferreira *et al.*, 2005). Em Salvador a ancestralidade predominante é africana (49,2%), seguida pela europeia (36,3%) e indígena (14,5%). O estudo também concluiu que soteropolitanos que possuem sobrenome com conotação religiosa tendem a ter maior grau de ancestralidade africana (54,9%) e a pertencer a classes sociais menos favorecidas (Machado *et al.*, 2008). De acordo com outra pesquisa desenvolvida por Sans (2000), para toda a população nordestina, a ancestralidade estimada seria de 51% europeia, 36% africana e 13% indígena.

As frequências alélicas de diversos locos gênicos e a contribuição genética dos colonizadores à população atual do Brasil e especificamente do Nordeste brasileiro têm sido relatadas em diversas publicações (Passos e Picanço, 1998; Arpini-Sampaio *et al.* 1999; Leboutte *et al.*, 1999; Corte-Real *et al.*, 2000; Acceturi *et al.*, 2000; Soares-Vieira *et al.*, 2002; Grimaldi *et al.*, 2002; Munerato *et al.*, 2003; De Pinho *et al.*, 2004; Gratapaglia *et al.*, 2005; Conceição *et al.*, 1987; Maurício-da-Silva *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2003; Nigam *et al.*, 2004; Dellalibera *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2004), reforçando a história da colonização ocorrida nesta região, período em que grupos numerosos de europeus (holandês, francês e principalmente português) se instalaram e viveram por um longo período de tempo no Nordeste.

2.4 Sistemas Genéticos Utilizados

2.4.1 Microssatélites ou STRs (Short Tandem Repeats)

Os Microssatélites são os marcadores moleculares mais utilizados em genética humana, não apenas na genética forense, diagnóstico/prognóstico de doenças ou avaliação do sucesso de transplante, mas também para a caracterização genética de diferentes populações e para inferir a história evolutiva do homem (Micka *et al.*, 1996). Esta ampla utilização pode ser explicada pelo fato de que as STRs autossômicas são herdadas de ambos os progenitores e o material genético paterno e materno podem ser recombinados durante a meiose, aumentando a variabilidade (Jobling *et al.*, 1997).

As STRs autossômicas têm muitas aplicações na história evolutiva das populações humanas. Em 1995, Goldstein *e col.* estimaram que a emigração dos humanos do continente africano ocorreu há aproximadamente 150.000 anos atrás. Do trabalho desenvolvido por Jorde *e col.* (1997) foi possível detectar um significativo

aumento na diversidade genética em populações africanas em relação às asiáticas e europeias. Reich e Goldstein (1998) detectaram sinais de expansão humana em populações africanas no período Paleolítico, servindo para dar suporte à teoria de origem do homem moderno na África. A estrutura genética de populações humanas em nível global foi estudada por Rosenberg *et al.* (2002). Estes autores observaram que diferenças dentro de populações contribuíram para 93-95% da variação genética, enquanto diferenças entre grupos constituíram de 3-5% da variação total.

Análises filogenéticas em várias populações humanas foram realizadas por intermédio das STRs (Bowcock *et al.*, 1994; Jorde *et al.*, 1995; Deka *et al.*, 1995; Zhivotovsky *et al.*, 2003). Os resultados de diversos estudos que descrevem as frequências alélicas em populações de vários países quanto aos locos de microssatélites autossômico e alossômico, mostram que alelos como o 8 do loco TPOX e o 23 e 24 do loco DYS390 são frequentes em populações da Europa, Ásia, África, Oceania e América (Huang *et al.*, 1995; Rostedt *et al.*, 1996; Budowle *et al.*, 1997; Kayser *et al.*, 1997; Pérez-Lezaun *et al.*, 1997; Garofano *et al.*, 1998; Lins *et al.*, 1998; Pörtl *et al.*, 1998; Pu *et al.*, 1999; Pérez-Lezaun *et al.*, 2000; Miscicka-silwka *et al.*, 2001; Alves *et al.*, 2003; Leat *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2004; Pablo *et al.*, 2004; Alves *et al.*, 2005; Dobashi *et al.*, 2005; Pacheco *et al.*, 2005; Rosa *et al.*, 2005). Por outro lado, alelos como o 6 do loco TPOX, o 7 do CSF1PO, o 20 do DYS390 e os alelos 14 e 15 do DYS392 são encontrados em populações africanas e estão ausentes em populações europeias, ameríndias e asiáticas (Kayser *et al.*, 1997; Garofano *et al.*, 1998; Lins *et al.*, 1998; Pörtl *et al.*, 1998; Pu *et al.*, 1999; Pérez-Lezaun *et al.*, 2000; Alves *et al.*, 2003; Leat *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2004; Alves *et al.*, 2005; Dobashi *et al.*, 2005; Pacheco *et al.*, 2005; Rosa *et al.*, 2005). Estes resultados indicam que as STRs são uma ferramenta muito útil para a inferência de relações evolutivas e da história demográfica de populações humanas (Rosenberg *et al.*, 2002).

No Nordeste brasileiro, alguns estudos visando a construção de banco de dados sobre o polimorfismo de STRs autossômicas foram realizados nas populações dos Estados do Piauí, Alagoas, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Bahia e Paraíba (Silva *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2003; Dellalibera *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2007). Os resultados demonstraram que o alelo 7 do loco CSF1PO, muito frequente em africanos, apresentou uma baixa frequência nessas 6 populações estudadas, reforçando a idéia da miscigenação ocorrida na formação da população nordestina brasileira.

2.4.2 O Alelo *ccr5*- Δ 32

O gene CMKBR5, atualmente designado *ccr5*, está localizado no cromossomo 3 p21.3 humano. Este gene é responsável pela codificação de uma proteína transmembrânica (CCR5), que é um importante receptor da β -quimiocina 5 (Samson *et al.*, 1996). Nas últimas décadas, vários grupos publicaram resultados de pesquisas que demonstravam o receptor β -quimiocina 5 como o principal co-receptor no processo de invasão de células como macrófagos e linfócitos T pelo vírus HIV-1 m-trópico (Alkhatib *et al.*, 1996; Choe *et al.*, 1996; Deng *et al.*, 1996; Dragic *et al.*, 1996). Uma deleção de 32 pares de bases (pb) no gene *ccr5*, resultando no alelo *ccr5* Δ 32, poderia conferir proteção contra a infecção pelo HIV (Dean *et al.*, 1996; Liu *et al.*, 1996; Samson *et al.*, 1996), explicando o motivo pelo qual alguns indivíduos permaneciam não infectados mesmo após contato direto com pessoas infectadas (DeGruttola *et al.*, 1989; Detels *et al.*, 1994; Paxton *et al.*, 1996). Esses estudos reportam a ausência de homozigotos *ccr5* Δ 32 entre os indivíduos infectados, uma frequência elevada de homozigotos entre os indivíduos expostos, mas não infectados.

Segundo Carrington e col. (1997), além da deleção Δ 32, dezesseis novos alelos para o gene *ccr5* foram identificados, sendo uma deleção de três pares de bases na posição 228 (228 Δ K) e quinze mutações de ponto – dentre estas, 12 causaram alterações nas seqüências de aminoácidos e três foram sinônimas. As frequências observadas das variantes foram baixas entre os indivíduos analisados e não houve nenhum homozigoto para qualquer uma delas (Carrington *et al.*, 1999). Em um indivíduo heterozigoto para o alelo *ccr5* Δ 32 foi encontrado uma mutação que provocou a substituição de uma timina por uma adenina na posição 303 (m303). A mutação m303 é responsável pela introdução de um *stop* códon prematuro na tradução do gene *ccr5* e evita a expressão do receptor CCR5 na superfície celular (Quillent *et al.*, 1998).

Uma nova variante do gene *ccr5* foi encontrada em uma população vietnamita. Em uma amostragem de 296 usuários de drogas intravenosas, havia um portador heterozigoto para uma mutação na posição 178 do segundo domínio extracelular do *ccr5*, onde uma cisteína (TGC) foi trocada por uma arginina (CGC). De acordo com o estudo o HIV-1 não conseguiu ligar-se à célula, garantindo-lhe proteção parcial contra o mesmo (Magierowska *et al.*, 1999). Em 2007, num estudo envolvendo transmissão do HIV entre mães e seus filhos, foi descrito uma deleção de 24 pares de bases na região

codificadora do ccr5 (hccr5Δ24) na população de Kigali, capital da Ruanda (Masquelier *et al.*, 2007).

Diversos estudos populacionais indicam que o alelo ccr5Δ32 é resultado de um evento mutacional único devido à alta frequência desse alelo em populações caucasianas (10%) (Dean *et al.*, 1996; Samson *et al.*, 1996; Martinson *et al.*, 1997; Libert *et al.*, 1998), sua quase ausência (2 a 5%) em populações da Ásia, do Oriente Médio e sua baixa frequência (0 a 1%) em populações africanas e ameríndias (Dean *et al.*, 1996; Martinson *et al.*, 1997; Lebout *et al.*, 1999). Estes fatores indicam que a mutação teria ocorrido uma única vez após a divergência entre caucasianos e seus ancestrais africanos (Dean *et al.*, 1996; O'Brien e Dean, 1997; Stephens *et al.*, 1998). Baseado na observação de que as maiores frequências do ccr5Δ32 encontram-se nos países nórdicos e vão diminuindo gradualmente em direção ao Sul da Europa, Lucotte (2001) sugeriu que a mutação provavelmente surgiu em um dos povos escandinavos e se espalhou pela Europa através da dispersão dos Vikings, uma vez que eles conquistaram vastos territórios em todo o continente entre o século VII e X, chegando até mesmo ao extremo leste onde fundaram o Estado Russo (Lucotte *et al.*, 2003; Novembre *et al.*, 2005).

A distribuição global do alelo ccr5-Δ32 tem apresentado uma ampla variação entre as diferentes populações, fato que o tornou alvo de estudos na epidemiologia, infectologia, imunogenética e na genética de populações (Galvani *et al.*, 2005). O alelo mutante possui uma frequência aproximada de 10% em caucasianos e está ausente em populações negras e japonesas (Dean *et al.*, 1996; Liu *et al.*, 1996). Em estudos com populações do sudeste brasileiro, a frequência para a mutação é 3,5% (Passos e Picanço, 1998; Munerato, 2003) e 6,5%, em média, no Sul do país onde a contribuição européia na formação das populações seria maior (Grimaldi *et al.*, 2002; Chies *et al.*, 2003; Vargas *et al.*, 2006; Brajão de Oliveira *et al.*, 2007; Boldt *et al.*, 2009). Nenhum ameríndio brasileiro foi, até o momento, identificado como portador da mutação (Lebout *et al.*, 1999; De Pinho Lott *et al.*, 2004; Boldt *et al.*, 2009).

2.5 Dados da Literatura sobre os Sistemas Genéticos Utilizados na Análise da População Brasileira

As proporções da ancestralidade genética em várias amostras da população brasileira têm sido amplamente investigadas usando marcadores hereditários parentais, como o polimorfismo do DNA mitocondrial e do cromossomo Y, bem como marcadores de STRs autossômicas (Callegari-Jacques *et al.*, 2003). Alguns estudos têm utilizado Marcadores Informativos de Ancestralidade (AIM), como os SNPs e polimorfismo de inserção/deleção para estimar a ancestralidade genética na população brasileira (Grattapaglia *et al.*, 2010).

Há uma unanimidade geral apresentada a partir desses estudos, que a ancestralidade genética detectada na população brasileira, principalmente a nordestina, é muito heterogênea, correspondendo aos fatos históricos documentados da colonização (Grattapaglia *et al.*, 2010). De acordo com o trabalho utilizando marcadores SNPs de Grattapaglia *e col.* (2010), mais da metade da amostra de nordestinos (19,2%) tiveram uma descendência europeia predominante ($> 0,900$).

Callegari-Jacques *e col.* (2003) desenvolveram um trabalho utilizando as frequências alélicas de 12 locos de STRs autossômicas em populações brasileiras com o objetivo de avaliar o grau de contribuição gênica dos europeus, africanos e dos ameríndios. O início da pesquisa se deveu ao fato de acharem que iriam encontrar mais influências africanas e ameríndias nas regiões norte e nordeste do que na região sul. Os resultados da análise demonstraram não haver grandes diferenças entre as duas regiões tendo sido observado um gradiente de contribuição europeia de norte para sul, como o esperado, porém as diferenças entre as regiões foram mínimas. Por fim, concluíram que o fluxo de genes africanos aparentemente foi constante ao longo dos séculos, enquanto que a contribuição ameríndia para o patrimônio genético provavelmente ocorreu no momento da chegada dos europeus.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Obtenção da Amostra

A amostra está constituída por 3.079 indivíduos dos nove Estados do Nordeste brasileiro (Tabela 03) não aparentados, todos doadores de sangue de hemocentros, com exceção da amostra de Pernambuco que foi proveniente de casos de Paternidade do Laboratório de Genética Molecular Humana – LGMH/UFPE. De todos os indivíduos da amostra foram obtidos 5ml de sangue venoso utilizando o anticoagulante ACD (Ácido Cítrico 0,038M; Citrato de Sódio Tribásico 0,075M; Dextrose 0,0133M), mediante consentimento informado.

Tabela 01– Número de indivíduos analisados distribuídos por Estado e os respectivos Hemocentros onde as amostras foram obtidas.

ESTADO	HEMOCENTROS (Siglas)	NÚMERO DA AMOSTRA
Maranhão	HEMOMAR	304
Piauí	HEMOPI	294
Ceará	HEMOCE	305
Rio Grande do Norte	HEMONORTE	503
Paraíba	HEMOÍBA	241
Pernambuco*	-----	574
Alagoas	HEMOAL	300
Sergipe	HEMOSE	303
Bahia	HEMOBA	255

*Amostra proveniente dos Testes de Investigação de Paternidade do Laboratório de Genética Molecular Humana da Universidade Federal de Pernambuco (LGMH- UFPE)

3.2 - Extração do DNA Genômico

O DNA foi extraído pelo método rápido de *Mini Salting Out* que envolve digestão com proteinase K (Miller *et al.*, 1988). A razão (1.8) e a concentração (100ng/μl) da solução obtida determinadas por espectrofotometria UV. Desta solução foram utilizados 2μl de cada indivíduo para a PCR.

3.3 - Amplificação do DNA

★ STRs

A análise das STRs foi realizada de acordo com o manual da *Promega Corporation* para os locos CTTV (CSF1PO, TPOX, TH01, vWA), STRIII (D16S359, D7S820, D13S317) e os Monoplex F13A01, F13B, FESFPS, D3S317, D12S391, LPL e PENTA E (Promega Corporation, Madison, WI). Para o Triplex (D18S51, D21S11, D8S1179) e o Monoplex FGA seguiu o protocolo descrito em Dellalibera *et al.* (2004).

★ ccr5

A sequência parcial do gene *ccr5* foi amplificada utilizando *primers* com sequência 5'-ATCACTTGGGTGGTGGCTGTGTTTGCGTCTC-3' e 3'-AGTAGCAGATGACACTGACAAGCAGCGGCAG-5' (Passos e Picanço, 1998). A PCR foi realizada nas seguintes condições: 94°C por 5 minutos, 1 ciclo; 94°C por 30 segundos e 70°C por 30 segundos, 30 ciclos, com um acréscimo de 1 segundo na temperatura de extensão para cada ciclo. O DNA genômico foi amplificado em um volume total de 23 µl contendo tampão (100 mM Tris-HCl; pH 8.8, 50mM KCl), 50 mM MgCl₂, 10 mM de cada DNTP, 1 U Taq Polymerase ; 2 µl DNA genômico e 25pmol de cada *primer*.

3.4 - Eletroforese

Os produtos amplificados foram separados em gel vertical de poliacrilamida desnaturante a 6%, contendo uréia 7M e TBE 10x (Tris-Borato-EDTA). A eletroforese foi realizada com aplicação de 2.000V durante 90 minutos à temperatura ambiente, utilizando seqüenciador manual *Hoefer SQ3 Sequencer* (Hoefer Pharmacia Biotech, São Francisco, CA). Em seguida os géis foram submetidos à impregnação com Nitrato de Prata e as bandas visualizadas após a utilização da solução reveladora (Na₂CO₃, Tiosulfato Sódico, Formaldeído 37%). Os produtos amplificados do gene *ccr5* apresentaram tamanhos de 193 pb e 161 pb, para o alelo normal e mutante Δ32, respectivamente. Em ambos os sistemas, STRs e *ccr5*, os alelos foram identificados por comparação de tamanho com marcadores de peso molecular ou usando escada alélica específica, aplicados na mesma corrida.

3.5 - Análise Estatística

As frequências alélicas e genotípicas de cada loco de STR, para cada população, foram calculadas através do programa PowerStat V12 (Tereba, 1999). As frequências alélicas e gênicas do gene *ccr5* foram calculadas por contagem direta. A verificação do equilíbrio de Hardy-Weinberg foi feita através do teste de Qui-quadrado (STRs) e teste exato de *Fisher* (*ccr5*) utilizando o Software GDA (Genetic Data Analysis), tendo sido o mesmo Software também utilizado para a análise comparativa de diferenciação entre as populações (F_{ST}) (Lewis e Zaykin, 2002). O cálculo da distância genética entre as populações (Nei *et al*, 1983) e a construção do dendograma foi realizado com a utilização do Software DISPAN (Ota, 1993).

4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Accetturi CA, Pardini R, Pinto GHN, Turcato G, Lewi DS, Diaz RS (2000) Effects of CCR5 genetic polymorphism and HIV-1 infected patients. J Acquired Immun Defic Syndr Hum Retroviral 24:399-400.
- Alkhatib G, Combadiere C, Broder CC, Feng Y, Kennedy PE, Murphy PM and Berger EA (1996) CC CKR5: a RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. Science 272:1955-8.
- Almeida H (1978) História do Nordeste brasileiro. Editora Universitária, João Pessoa 310pp.
- Alves C, Gusmão L, Barbosa J, Amorim A (2003) Evaluating the informative power of Y-STRs: a comparative study using European and new African haplotype data. Forensic Sci Int 134:126-133.
- Alves C, Gusmão L, Damasceno A, Soares B, Amorim A (2004) Contribution for an African STR database (AmpF/STR Identifiler and Powerplex 16 System) and a report on genotypic variations. Forensic Sci Int 139:201-205.
- Aquino AV (1980) Nordeste século XIX. Editora Universitária, Sergipe 219pp.
- Arpini-Sampaio Z, Costa MCB, Melo AA, Carvalho MFVA, Deus MSM, Simões AL (1999) Genetic polymorphisms and ethnic admixture in African-derived black communities of Northeastern Brazil. Hum Biol 71:69-85
- Brajão de Oliveira K, Reich EMV, Morimoto HK, Fungano MH, Estevão D, Pontello R and *et al* (2007) Analysis of the CC chemokine receptor 5 delta32 polymorphism in a Brazilian population with cutaneous leishmaniasis. J Cut Path 34(1): 27-32.
- Boldt ABW, Culpi L, Tsuneto LT, Souza IR, Kun JFJ, Petzl-Erler ML (2009) Analysis of the CCR5 gene coding region diversity in five South American populations reveals two new non-synonymous alleles in Amerindians and high CCR5Δ32 frequency in Euro-Brazilians. Genet Mol Biol 32:12-19.

- Bowcock AM, Ruiz-Linares A, Tomfohrde J, Minch E, Kidd JR, Cavalli-Sforza LL (1994) High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature* 368:455-457
- Budowle B, Smerick JB, Keys KM, Moretti TR (1997) United States population data on the multiplex short tandem repeat loci-HUMTH01, TPOX, and CSF1P0- and the variable number tandem repeat locus D1S80. *J Forensic Sci* 42(5):846-849.
- Busque L, Desmarais D, Provost S, Schumm JW, Zhong Y, Chakraborty R (1997) Analysis of allele distribution for six short tandem repeat loci in the French Canadian population of Québec. *J Forensic Sci* 42(6):1147-1153.
- Butter JM, McCord BR, Jung JM, Lee JA, Budowle B, Allen RO (1995) Application of dual internal standards for precise sizing of polymerase chain reaction productions using capillary electrophoresis. *Electrophoresis* 16:974-980.
- Callegari-Jacques SM, Salzano FM, Mestriner (1990) Reconstructiong history: the Amazonian Mura Indians. *Hum Biol* 62:619-635.
- Callegari-Jacques SM, Gattapaglia D, Salzano FM, Salamoni SP, Grossetti SG, Ferreira ME, Hutz MH (2003) Historical Genetics: Spatiotemporal analysis of the information of the Brazilian population. *American J Hum Biol* 15:824-834.
- Carrington M, Smith MW, Dean M, Winkle C, Huttley GA, Lomb DA and *et al* (1997) Contrasting Genetic Influence of ccr2 and ccr5 Variants on HIV-1 Infection and Disease Progression. *Science* 5328(277): 959-965.
- Carrington M, Dean M, Martin MO, O'Brien SJ (1999) Genetics of HIV-1 Infection: Chemokine Receptor CCR5 Polymorphism and Its Consequences. *Hum Mol Genet* 8(10): 1939-1945.
- Cavalcante S (2002) Ouriceni: o mistério Fulni-ô. *Brasil Indígena*, Brasília 11:18-19.
- Cavignac JÁ (2003) A etnicidade encoberta: índios e negros no Rio Grande do Norte. *MNEME-Revista de Humanidades* 4(8):1518-3394.

- Chies JA, Hutz MH (2003) High frequency of the *ccr5*Δ32 variant among individuals from an admixed Brazilian population with sickle cell anemia. *Braz J Med Biol Research* 36:71-75.
- Choe H, Farzan M, Sun Y, Sullivan N, Rollins B, Ponath PD, Wu L, Machay CR, LaRosa G, Newman W, Gerard N, Gerard C and Sodroski j (1996) The beta-chemokine receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. *Cell* 85:1135-48.
- Conceição MM, Salzano FM, Franco MHL (1987) Demography, genetics and race admixture in Aracajú-Brazil. *Rev Bras Gen* 10:313-331.
- Corte-Real F, Andrade L, Anjos MJ, Carvalho M, Vieira DN, Carracedo A, Vide MC (2000) Population genetics of nine STR loci in two populations from Brazil. *J Forensic Sci* 45(2):432-435.
- De Pinho LCFA, Cardoso GL, Hamoy IG, Liu YT, Guerreiro JF (2004) Distribution of *CCR5*-Δ32, *CCR2*-64I, and *SDF1*-3'A mutations in populations from the Brazilian Amazon region. *Hum Biol* 76(4): 643-646.
- Dean M, Carrington M, Winkler C, Huttley GA, Smith MW, Allikmets R and *et al.* (1996) Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the *CCR5* structural gene. *Science*; 273:1856-1862.
- Dean M, Jacobson LP, McFarlane G, Margolick JB, Jenkins FJ, Howard OMZ, Dong HF, Gordert JJ, Buchbinder S, Gomperts E, Vlahov D, Oppenheim JJ, O'Brien SJ, Carrington M (1999) Reduced risk of AIDS lymphoma in individuals heterozygous for the *CCR5*-Δ32 mutation. *Canc Res* 59:3561-3564.
- DeGruttola V, Seage GR 3rd, Mayer KH, Horsburgh CR JR (1989) Infectiousness of HIV between male homosexual partners. *J Clin Epidemiol* 42(9): 849-56
- Deka R, Jin L, Shriver MD, Yu LM, DeCruo S, Hurdieser J, Bunker CH, Ferrel RE, Chakraborty R (1995) Population genetics of dinucleotide (dC-dA)_n(dG-dT)_n polymorphisms in world populations. *Am J Hum Genet* 56:461-474.

- Dellalibera E, Havro MLB, Souza M, Kajihara K, Maurício-da-Silva L, Silva RS (2004) Genetic analysis of 13 STR loci in the population from the state of Pernambuco, Northeast Brazil. *Forensic Sci Int* 146:57-59.
- Deng H, Liu R, Ellmeier W, Choe S, Unutmaz D, Burkhart M, Di Marzio P, Marmon S, Sutton RE, Hill CM, Davis CB, Peiper SC, Schall TJ, Littman DR and Landau NR (1996) Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature* 381:661-666.
- Detels R, Liu Z, Hennessey K, Kan J, Visscher BR, Taylor JM, Hoover Dr, Rinaldo CR, Phair JP, Saah AJ, et al (1994) Resistance to HIV-1 infection. Multicenter AIDS Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 7(12): 1263-9.
- Dobashi Y, Kido A, Fuyitani N, Susukida R, Hara M, Oya M (2005) Y-chromosome STR haplotypes in a Bangladeshi population. *Leg Med* 7:122-126.
- Dragic T, Trkola A, Thompson DA, Cornier Eg, Kajumo FA, Maxwell E and *et al.* (2000) A binding pocket for a small molecule inhibitor of HIV-1 entry within the transmembrane helices of CCR5. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*; 97:5639-5644.
- Drmic I, Schanfield MS, Andjelinovic S, Galavotti R, Gojanovec MD, Trabetti E, Marasovic D, Primorac D, Pignatti PF (1998) Allele frequencies of six highly polymorphic DNA loci in the Croatian population. *Hum Biol* 70:949-957.
- Ferreira FL, Leal-Mesquita ER, Santos SEB, Ribeiro-dos-Santos (2005) Genetic Characterization of the population of São Luís, MA, Brazil. *Genet Mol Biol* 28:22-31.
- Florestan F (1949) A organização social dos Tupinambás. Progresso Editora, São Paulo 470pp.
- Franco MH, Weimer TA, Salzano FM (1982) Blood polymorphisms and racial admixture in two Brazilian populations. *Am J Phys Anthropol.* 58(2):127-32
- Frégeau CJ, Tan-Siew WF, Yap KH, Carmody GR, Crow ST, Forney RM (1998) Population genetic characteristic of the STR loci D21S11 and FGA in eight diverse human population. *Hum Biol* 70(5):813-844.

- Futuyma DJ (1992) Biologia evolutiva. Sociedade Brasileira de Genética/CNPQ, Ribeirão Preto.
- Garcia C (1986) O que é o Nordeste Brasileiro. Brasiliense, São Paulo 92pp.
- Galvani AP, Novembre J (2005) The evolutionary history of the *ccr5*Δ32 HIV-resistance mutation. *Microb Infec* 7:302-309.
- Garofano L, Pizzamiglio M, Vecchio C, Lago G, Floris T, D' Errico G, Brembilla G, Romano A, Budowle B (1998) Italian population data on thirteen short tandem repeat loci: HUMTH01, D21S11, D18S51, HUMVWFA31, HUMF1BRA, D8S1179, HUMTPOX, HUMCSF1P0, D16S539, D7S820, D13S317, D5S818, D3S11358. *Forensic Sci Int* 97:53-60.
- Giorgio M (1941) Sobre a utilização do Censo Demográfico para a reconstrução das Estatísticas do Movimento da População do Brasil. São Paulo, 43pp.
- Goldstein D, Ruiz-Linares A, Cavalli-Sforza LL, Feldman MW (1995) Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. *Proc Nat Acad Sci* 92:6723-6727.
- Gomes AV, Mauricio-da-Silva L, Raposo G, Vieira JRC, Silva RS (2007) 13 STR loci frequencies in the population from Paraíba, Northeast Brazil. *Forensic Sci Int* 173: 231-234.
- Grattapaglia D, Kalupnick S, Guimarães CS, Ribeiro MA, Diener PS, Soares CN (2005) Y-chromosome STR haplotype diversity in Brazilian populations. *Forensic Sci Int* 149(1): 99-107
- Grattapaglia D, Tulio CL, Rodrigo GV, Breno SA, Rinaldo WP (2010) Genetic composition of Brazilian population samples based on a set of twenty-eight ancestry informative SNPs. *American J Hum Biol* 22 (2): 187-192
- Grimaldi R, Shindo N, Acosta AX, Dourado I, Brites C, Carvalho OM, Brito I, Bou-Habib DC, Galvão-Castro B (2002) Prevalence of the *CCR5*-Δ32 mutation in Brazilian populations and cell susceptibility to HIV-1 infection. *Hum Genet* 111:102-104.

- Hancock JM (2000) Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanism. Oxford University Press, New York, 352pp.
- Huang NE, Schumm J, Budowle B (1995) Chinese population data on three tetrameric short tandem repeat loci-HUMTH01, TPOX and CSF1P0-derived using multiplex PCR and manual typing. *Forensic Sci Int* 71:131-136.
- IBGE (2000) Censo demográfico de 2000. Rio de Janeiro:IBGE
- Jobling MA, Pandya A, Tyler-Smith C (1997) The Y chromosome in forensic analysis and paternity testing. *Int J Legal Med* 110:118-124.
- Jorde LB, Bamshad M, Watkins W, Zenger R, Fraley A, Krakowiak P, Carpenter k, Soodyall H, Jenkins T, Rogers A (1995) origins and affinities of modern humans:a comparison of mitochondrial and nuclear genetic data. *Am J Hum Genet* 57:523-538.
- Jorde LB, Rogers AR, Bamshad M, Watkins WS, Krayowiak P, Sung S, Kere J, Harpending HC (1997) Microsatellite diversity and the demographic history of modern humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:3100-3103
- Leat N, Benjeddou M, Davison S (2004) Mini-locus Y-chromosome STR profiling os Caucasian and Xhosa population from Cape Town, South Africa. *Forensic Sci Int* 144:73-75.
- Leboute AP, Carvalho MW, Simões AL (1999) Absence of the Δ CCR5mutation in indigenous population of the Brazilian Amazon. *Hum Genet* 105:442-443.
- Lewis P. O, Zaykin D..Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data version 1.0d16c. Free program distributed by the authors over the internet from <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>
- Libert F, Cochaux P, Beckman G, Samson M, Aksenova M, Cão A, Czeizel A, Claustres M, Rua C, Ferrari M, Ferrec C, Glover G, Grinde B, Guran S, Kucinskas V, Lavinha J, Mercier B, Ogur G, Peltonen L, Rosatelli C, Schwartz M, Spitsyn V, Timar L, Beckman L, Parmentier M, Vasart G (1998) The Δ -

- CCR5* mutation conferring protection against HIV-1 in Caucasian populations has a single and recent origin in Northeastern. *Eur Hum Mol Genet* 7:399-406.
- Lins AM, Sprecher CJ, Puers C, Schumm W (1996) Multiplex sets for the amplification of polymorphic short tandem repeat loci-silver stain and fluorescence detection. *Biotech* 20:882-889.
- Lins AM, Micka KA, Sprecher CJ, Taylor JA, Bacher JW, Kabbach DR, Bever RA, Creavy SD, Schumm JW (1998) Development and population study of an eight-locus short tandem repeat (STR) multiplex system. *J Forensic Sci* 43(6):1-13.
- Liu R, Paxton WA, Choe S, Ceradini D, Martin SR, Horuk R and *et al.* (1996) *Cell* 86:367-377.
- Lucotte G (2001) Frequencies of 32 base pair deletion of the (Δ 32) allele of the *CCR5* HIV-1 co-receptor gene in Caucasians: a comparative analysis. *Inf, Genets and Evol* 1:201-205.
- Lucotte G, Smets P (2003) *CCR5*- Δ 32 allele frequencies in Ashkenazi Jews. *Genet Test* 7(4):333-337.
- Machado TMB, da Silva DSD, Bomfim TF, Brites C, Acosta AX, Galvão-Castro B, Abé-Sandes K (2008) Frequência da mutação *CCR5* delta 32 na população da Bahia, infectada pelo HIV-1 e a associação com ancestralidade em rápidos, típicos e lentos progressores para a AIDS. In: 54º Congresso Brasileiro de Genética, 2008, Salvador.
- Magalhães A (1970) O Nordeste brasileiro. Secretaria de Educação e Cultura, Departamento de cultura, Recife 312pp.
- Magierowska M, Theodorou I, Debré P, Sanson F, Autran B, Rivière Y, Charron D and *et al* (1999) Combined Genotypes of *CCR5*, *CCR2*, *SDF1*, and *HLA* genes can predict the long-term nonprogressor status in Human Immunodeficiency Virus-1-infected individuals. *Blood* 93(3): 936-941.
- Maior S (1967) História do Brasil. Companhia Editora Nacional, São Paulo 423pp.

- Martinson JJ, Chapman NH, Rees DC, Liu YT, Clegg JB (1997) Global distribution of the CCR5 gene 32-base pair deletion. *Nat Genet* 16:100-13.
- Masquelier C, Jean-Yves S, Emmanuel R, Francois R, Emmanuel H, Jean S and *et al* (2007) A novel 24-base pair deletion in the coding region of CCR5 in an African population. *AIDS* 21(1): 111-13.
- Maurício-da-Silva L, Silva RS, Dellalibera E, Donadi A (2000) Population genetics of HPRTB, F13B and LPL in Pernambuco, Northeast Brazil. *J Forensic Sci* 45(3):684-686.
- Medeiros Filho O (1984) Índios do Açu e Seridó. Centro Gráfico do Senado Federal, 182pp.
- Medeiros T (1980) O negro na etnia do Rio Grande do Norte. *Rev Inst Hist Geo Rio Grande do Norte* 7:1909
- Micka KA, Sprecher CJ, Lins AM, Comey CT, Koons BW, Crouse C, Endean D, Pirelli K, Lee SB, Duda N, Ma M, Shumm JW (1996) Validation of multiplex polymorphic STR amplification sets developed for personal identification applications. *J Forensic Sci* 41:582-590.
- Miller AS, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA for human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 16:1215.
- Miscicka-Silwka D, Czarny J, Grzbowski T, Wozniak M (2001) Population genetics of the STRs vWA, TH01, TPOX, CSF1P0, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, LPL, F13B, FES/FPS, F13A01 and ACTBP2 in the Pomerania –Kujawy region of Poland. *Forensic Sci Int* 119:119-122.
- Muneratto P, Azeved ML, Sucupira MCA, Pardini R, Pinto GHN, Catroxo M, Souza IE, Diaz RS (2005) Frequency of polymorphisms of genes coding for HIV-1 co-receptors CCR5 and CCR2 in a Brazilian population. *Braz J Infect Dis* 7(4):236-240.
- Nei M, Tajima F, Tateno Y (1983) Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *J Mol Evol* 19:153-170.

- Nigam P, Dellalibera E, Maurício-da-Silva L, Donadi EA, Silva RS (2004) Polymorphism of HLA class I genes in the Brazilian population from the Northeastern state of Pernambuco corroborates anthropological evidence of its origin. *Tissue Antigens* 64:204-209.
- Nogueira D (1988) *Raízes de uma nação: um ensaio da história sócio-econômica comparada*. Rio de Janeiro:Forense Universitária,496pp.
- Novembre J, Galvani AP, Slatkin M (2005) The geographic spread of the CCR5 Δ 32 HIV-Resistance allele. *PLoS Biol* 3(11):e339.
- Nunes O (1975) *Pesquisa para a história do Piauí*. Rio de Janeiro: Artenova, 283pp
- Ota T. DISPAN: Computer program for genetic distance and phylogenetic analysis.home page at <http://www.mep.bio.psu.edu/databases.html>
- Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes C, Pena SDJ (2003) Color and genomic ancestry in Brazilians. *PNAS* 100:177-182.
- Parra EJ, Kittles RA, Shriver MD (2004) Implications of correlations between skin color and genetic ancestry for biomedical research. *Nat Genet* 36:54-60.
- Passos GAS, Picanço VP (1998) Frequency of the Δ CCR5deletion allele in the urban Brazilian population. *Immunol Lett* 61:205-207.
- Paxton WA, Martin SR, Tse D, O'Brien TR, Skurnick J, VanDevanter NL, Padian N, Braun JF, Kotler DP, Wolinsky SM and Koup RA (1996) Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposure. *Nat Med* 2(4):412-7.
- Pena SDJ (2000) Retrato molecular do Brasil. IN: *Ciências Hoje* 6:16-25.
- Pimentel JB (2001) *Dos Caetés aos Marajás*. Editora Nacional, São Paulo 189pp.
- Quillent C, Oberlin E, Braun J, Rousset D, Gonzalles-Canali G, Métais P, Montagnier L, Virelizier JL (1998) HIV-1-Resistance phenotype conferred by combination of two separate inherited mutations of CCR5 gene. *The Lancet* 351:14-18.
- Reed TE (1969) Caucasian genes in American negroes. *Science* 165:762-768.

- Reich DE, Goldstein DB (1998) Genetic evidence for a Paleolithic human population expansion in Africa. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 8119-8123.
- Ribeiro D (1995) O povo brasileiro: a formação e o sentido do Brasil. Companhia das Letras, São Paulo 476pp.
- Rosenberg NA, Pritchard JK, Weber JL, Cann HM, Kidd KK, Zhivotovsky LA, Feldman MW (2002) Genetic structure of human populations. *Science* 298:2381-2385.
- Salzano FM (1982) The microevolutionary process – a view from South America. *Acta Antropo* 6:1-21.
- Salzano FM, Freire-Maia N (1967) Populações Brasileiras: aspectos demográficos, genéticos e antropológicos. Companhia Editora Nacional and EDUSP, São Paulo 177pp.
- Salzano FM, Gershowitz H, Mohrenweiser H (1986) Gene flow across tribal barriers and its effect among the Amazonian Icana river Indians. *Am J Phys. Anthropol.* 69:3-14.
- Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, Faïber CM and *et al.* (1996) Resistance to HIV-1 infection in Caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature*; 382:722-725.
- Santos MV, Anjos MJ, Andrade L, Vide MC, Corte-Real F, Vieira DN (2004) Population genetic data for the STR loci using the AmpF1STR Identifiler Kit in Bahia, Brazil. *Int Cong Ser* 1261:219-222.
- Santos MV, Carvalho M, Anjos MJ, Andrade L, Lopes V, Corte-Real F, Vieira DN, Vide MC (2003) Y-chromosome DNA haplotypes in human samples from Bahia, Brazil. *Int Cong Ser* 1239:443-448.
- Sans M (2000) Admixture studies in Latin America: From the 20th to the 21st Century. *Hum Biol* 72 (1): 155-177.
- Silva EB, Dellalibera E, Souza M, Silva RS, Maurício-da-Silva (2002) Population genetics of eight STR loci – CSF1P0, TPOX, TH01, D16S359, D7S820,

- D13S317, F13B and LPL in a Brazilian population from the state of Piauí, Northeast Brazil. *Forensic Sci Int* 126:90-92.
- Silva FFM, Dellalibera E, Nigam P, Maurício-da-Silva L, Silva RS (2003) Microsatellite markers in the population from Rio Grande do Norte, Northeastern Brazil. *J Forensic Sci* 48(5):1189-1190.
- Silva LAF, Pimentel BJ, Azevedo DA, Silva ENP, Santos SS (2002) Allele frequencies of nine STR loci – D16S539, D7s820, D13S317, CSF1P0, TPOX, TH01, F13A01, FESFPS and vWA – in the population from Alagoas, Northeastern Brazil. *Forensic Sci Int* 130:187-188.
- Soares-Vieira JA, Bellerbeck AE, Pinto EM, Iwamura ESM, Bilharinho de Medonça B, Otto PA (2002) Population genetics of nine short tandem repeat loci: allele frequency distribution in a Brazilian population sample. *Am J Forensic Med Pathol* 23(2):186-190.
- Souza JG (1995) O Nordeste brasileiro: uma experiência de desenvolvimento regional. Banco do Nordeste do Brasil, Fortaleza 197pp.
- Stephens JC, Reich DE, Goldstein DB, Shin HD, Smith MW, Carrington M, Winkler C, and *et al* (1998) Dating the origin of the CCR5-Δ32 AIDS resistance allele by the coalescence of haplotypes. *Am J Hum Genet* 62:1507-1515.
- Tereba A..Tools for Analysis of Population Statistics. Profiles in DNA, vol.2, n3. Home Page at [http:// www.promega.com/geneticidtools](http://www.promega.com/geneticidtools).
- Vargas AE, Marrero AR, Salzano FM, Bortolini MC, Chies JAB (2006) Frequency of CCR5Δ32 in Brazilian populations. *Braz J Med Biol Res* 39(3): 321-325.
- Zhivotovsky LA, Rosenberg NA, Feldman MW (2003) Features of evolution and expansion of modern humans, inferred from genomewide microsatellite markers. *Am J Hum Genet* 72:1171-1186.

5. MANUSCRITOS DE ARTIGOS CIENTÍFICOS

Polimorfismo de 18 locos de STRs na População do Estado do Maranhão, Nordeste do Brasil

Manuscrito a ser encaminhado à revista:

Forensic Science International: Genetics

ISSN: 1872-4973

Forensic Population Genetics - Short communication

(Former "Announcement of population data")

Anexo 03

Polimorfismo de 18 locos de STRs na População do Estado do Maranhão, Nordeste do Brasil

Adriana Vieira Gomes, Luiz Mauricio-da-Silva, Rosilda dos Santos Silva *

Departamento de Genética, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco

Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, 50732-970, Recife-PE, Brasil

RESUMO

Os locos de microssatélites (STRs) são marcadores moleculares que se caracterizam por altos níveis de heterozigosidade, dispersão uniforme e possibilidade de genotipagem por métodos rápidos e simples. Devido a estas características, as STRs têm sido amplamente utilizadas em genética de populações, estudos evolutivos e análises forenses. Foram analisados os locos CSF1PO, D3S317, D7S820, D8S1179, D12S391, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, F13A₁, F13B, FESFPS, FGA, LPL, PENTA E, TPOX, TH01 e VWA que apresentaram com maior frequência os alelos 12(0,304), 15 (0,377), 10(0,246), 18(0,211), 11(0,302), 11(0,279), 11(0,279), 16(0,188), 30(0,257), 7(0,231), 10(0,353), 12(0,370), 24(0,155), o 10 (0,451) para o LPL, o 12(0,149) para o PENTA E, o 8(0,429) para o TPOX, o 7(0,295), e 16(0,314), respectivamente. Os dados mostraram que a população se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P > 0.05$). Baseado na heterozigosidade (H), no conteúdo de polimorfismo (PIC), no poder de discriminação (PD) e no poder de exclusão (PE) calculados os locos D18S51 (0,870, 85,1%, 0,970 e 0,698, respectivamente) e PENTA E (0,920, 84,5%, 0,985 e 0,686, respectivamente) foram os mais informativos. Os altos valores dos parâmetros forenses encontrados mostram a eficácia dos locos estudados para utilização em investigações de paternidade e identificação de indivíduos na população do Estado do Maranhão.

Palavras-Chaves: Polimorfismo Genético; STRs; Nordeste do Brasil

*Contato com o Autor. Endereço Atual: Rua Professor Aurélio de Castro Cavalcanti, 79, Apto. 804, Boa Viagem, 51210-020, Recife-PE, Brasil. Tel./ fax: +55-81-21268512 E-mail: rosildaufpe@gmail.com

POPULAÇÃO: 304 indivíduos não aparentados, doadores de sangue do Hemocentro do Maranhão (HEMOMAR). De todos os indivíduos da amostra foram obtidos 5ml de sangue venoso utilizando o anticoagulante ACD (Ácido Cítrico 0.038M; Citrato de Sódio Tribásico 0.075M; Dextrose 0.0133M), mediante consentimento informado por escrito.

EXTRAÇÃO DO DNA: O DNA foi obtido de células sanguíneas mononucleares utilizando o método de *Mini Salting Out* de acordo com *Miller et al.* [1].

AMPLIFICAÇÃO: A amplificação das amostras de DNA foi realizada utilizando 2µl de solução de DNA a 100ng/microlitro, 25 pM de cada *primer*, 200µM de cada dNTP, 0,25U de Taq DNA polimerase. Os parâmetros de amplificação seguiram o manual da Promega Corporation- instructions using Gene Print Silver Stain Short Tandem Repeats (STR) Systems, para os locos CTTV (CSF1PO, TPOX, TH01, vWA), STRIII (D16S359, D7S820, D13S317), D3S1358, D12S391, F13A01, F13B, LPL, FESFPS, FGA e Penta E (Promega Corporation, Madison, WI). Para os locos D18S51, D21S11, D8S1179 a amplificação seguiu o protocolo descrito por Dellalibera *et al* [2].

GENOTIPAGEM: Os produtos amplificados foram submetidos a eletroforese vertical e separados em gel de poliacrilamida a 6% desnaturante utilizando o sequenciador manual *Hoefer SQ3 Sequencer* (Hoefer Pharmacia Biotech, San Francisco, CA). Em seguida os géis foram submetidos à impregnação com Nitrato de Prata e as bandas visualizadas após a utilização da solução reveladora (Na₂CO₃, Tiossulfato Sódico, Formaldeído 37%). Os alelos foram identificados por comparação de tamanho com marcadores de peso molecular e escada alélica específica, aplicados na mesma corrida.

RESULTADOS: Ver tabela 01

ANÁLISE DOS DADOS: As frequências alélicas, o Conteúdo de Informação de Polimorfismo (PIC), Poder de Discriminação (PD), o Poder de Exclusão (PE) e o percentual de Heterozigotos (H%), foram calculados, loco por loco, utilizando o software PowerStats V12 [3]. O programa GDA [4] foi utilizado para verificação do Equilíbrio de Hardy-Weinberg através do Teste Exato de Fisher. Para o cálculo da

distância genética e a construção dos dendogramas foi utilizado o programa DISPAN [5].

ACESSO AOS DADOS: solicitar permissão à rosildaufpe@gmail.com

OUTRAS CONSIDERAÇÕES: A figura 1 mostra uma comparação de distância genética da população estudada com outras populações do Nordeste brasileiro [2, 6-10], utilizando a população do Rio de Janeiro como *out group* [11]. Os locos TPOX, HUMTH01, D7S820 e D13S317 foram os locos comuns as oito populações e utilizados para a construção do dendograma. As distâncias genéticas calculadas comparando a população do Maranhão com as demais populações do Nordeste brasileiro variaram de 0.0035 (Alagoas) a 0.0094 (Bahia) o que nos permite dizer que há grande similaridade genética entre elas. Quando essa comparação é feita com populações brasileiras de outras Regiões como a realizada entre Maranhão e o Rio de Janeiro, Estado localizado na Região Sudeste do Brasil, nota-se uma menor similaridade (distância de 0.0321).

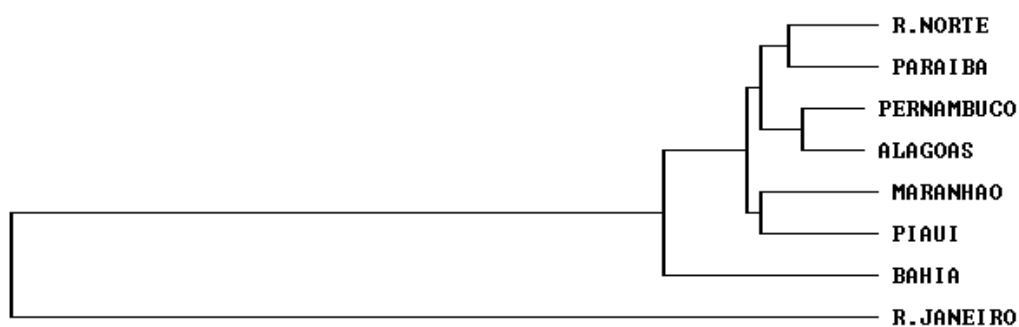


Figura 01 Dendograma construído de acordo com o programa DISPAN pelo método UPGMA utilizando as distâncias genéticas calculadas a partir das frequências alélicas apresentadas por locos de STRs na população do Maranhão e em outras populações do Nordeste do Brasil, usando o R. Janeiro (região do Sudeste do Brasil) como *out group*. R.Norte = Rio Grande do Norte; R. Janeiro = Rio de Janeiro

Tabela 1 – Frequência alélica de 18 locos de STRs em 304 indivíduos doadores de sangue da população do Estado Maranhão, Nordeste do Brasil

ALELO	CSF1PO	D3S1358	D7S820	D8S1179	D12S391	D13S317	D16S539	D18S51	D21S11	F13A ₁	F13B	FES	FGA	LPL	PENTA E	TH01	TPOX	VWA
3.2										0.164								
4										0.079								
5										0.225					0.075			
6	0.008									0.198	0.190				0.007	0.206	0.013	
7	0.018		0.018				0.002			0.231	0.051			0.007	0.117	0.295	0.010	
8	0.046		0.142	0.003		0.078	0.008			0.043	0.137	0.011			0.064	0.137	0.429	
9	0.021		0.097	0.013		0.116	0.208				0.264	0.011		0.066	0.025	0.160	0.112	
9.3			0.249													0.200		
Figura 02 - Dendograma construído de acordo com o programa MEGA 3.1 utilizando as distâncias genéticas a partir das frequências alélicas nas populações do Nordeste do Brasil e nas populações historicamente consideradas parentais.											0.353	0.236		0.451	0.067	0.002	0.064	
											0.002	0.278		0.212	0.099		0.310	0.002
										0.016	0.002	0.370		0.227	0.149		0.059	0.005
										0.010		0.088		0.035	0.110		0.002	
										0.015		0.004		0.003	0.055			0.007
15	0.002	0.377		0.132	0.046	0.002	0.002	0.165		0.015		0.002			0.085			0.053
16		0.238		0.031	0.102			0.188		0.003			0.003		0.031			0.109
17		0.164		0.005	0.192			0.127							0.023			0.314
18		0.089			0.201			0.102					0.016		0.028			0.262
19		0.010			0.175			0.073					0.091		0.017			0.183
20					0.090			0.059					0.077		0.007			0.051
21					0.056			0.030					0.146		0.003			0.013
22					0.056			0.012					0.145		0.002			0.002
23					0.025			0.007					0.152					
24					0.008								0.155					
25									0.003				0.146					
26									0.005				0.052					
27									0.035				0.007					
28									0.135				0.002					
29									0.219				0.003					
30									0.257				0.003					
30.2									0.026									
31									0.078				0.002					
31.2									0.084									
32									0.010									
32.2									0.099									
33									0.013									
33.2									0.030									
34									0.005									
35									0.007									
36									0.002									

Tabela 1 – Frequência alélica de 18 locos de STRs em 304 indivíduos doadores de sangue da população do Estado Maranhão, Nordeste do Brasil (continuação)

ALELO	CSF1PO	D3S1358	D7S820	D8S1179	D12S391	D13S317	D16S539	D18S51	D21S11	F13A ₁	F13B	FES	FGA	LPL	PENTA E	TH01	TPOX	VWA
N	608	608	608	608	608	608	608	608	608	608	608	608	608	608	608	608	608	608
PD	0.906	0.906	0.929	0.936	0.963	0.928	0.921	0.970	0.956	0.940	0.893	0.870	0.969	0.842	0.985	0.918	0.865	0.917
PE	0.475	0.534	0.640	0.646	0.661	0.531	0.590	0.698	0.603	0.642	0.508	0.473	0.623	0.521	0.686	0.634	0.383	0.508
PIC	0.720	0.720	0.770	0.780	0.840	0.760	0.760	0.870	0.830	0.800	0.710	0.670	0.860	0.650	0.920	0.750	0.650	0.750
<i>H</i> (%)	72.9	76.4	82.2	82.5	83.3	76.2	79.5	85.1	80.2	82.3	74.9	72.8	81.3	75.7	84.5	81.8	67.0	74.9

N = Número de cromossomos; PD = Poder de Discriminação; PE = Poder de Exclusão; PIC = Conteúdo de Polimorfismo; *H*(%) = Percentagem de Heterozigotos

REFERÊNCIAS

- [1] A. S. Miller, D. D. Dykes, H. F. Polesky, A simple salting out procedure for extracting DNA for human nucleated cells. Nucl. Acids Res. 16 (1988) 1215.
- [2] E. Dellalibera, M. Havro, M. Souza, K. Kajihara, L. Mauricio-da-silva, R.S. Silva, Genetic analysis of 13 STR loci in the population from the State of Pernambuco, northeast Brazil, Forensic Sci. Int. 146 (2004) 57-59.
- [3] A. Tereba, Tools for Analysis of Population Statistics. Profiles in DNA, vol.2, n3. Home Page at [http:// www.promega.com/geneticidtools](http://www.promega.com/geneticidtools).
- [4] P. O. Lewis, D. Zaykin, Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data version 1.0d16c. Free program distributed by the authors over the internet from <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>.
- [5] T.Ota, DISPAN: Computer program for genetic distance and phylogenetic analysis.home page at <http://www.mep.bio.psu.ed/databases.html>
- [6] A. V. Gomes, L. Mauricio-da-Silva, G. Raposo, J.R.C. Vieira, R.S. Silva. 13 STR loci frequencies in the population from Paraíba, Northeast Brazil. Forensic Sci. Int. 173 (2007) 231-234.
- [7] E.B. Silva. E. Dellalibera. M. Souza. R.S. Silva. L. Maurício-da-Silva. Population genetics of eight STR loci - CSF1PO. TPOX. TH01. D16S359. D7S820. D13S317. F13B and LPL in a Brazilian population from the State of Piaui, Northeast Brazil. Forensic Sci. Int. 126 (2002) 90-92.
- [8] F.F.M. da Silva. E. Dellalibera. P. Nigam. L. Mauricio-da-Silva. R.S. Silva. Microsatellite markers in the population from Rio Grande do Norte, Northeastern Brazil. J. Forensic. Sci. 48(5) (2003) 1189-1190.
- [9] L.A.F. Silva, B.J. Pimentel, D.A. Azevedo, E.N.P. Silva, S.S. Santos, Allele frequencies of nine STR loci-D16S539, D7S820, D13S317, CSF1PO, TPOX, TH01,

F13A01, FESFPS and vWA- in the population from Alagoas, Northeastern Brazil, Forensic Sci. Int. 130 (2002) 187-188.

[10] M.V. Santos, M.J. Anjos, L. Andrade, M.C. Vide, F. Corte-Real, D.N. Vieira, Population genetic data for the STR loci using the AmpF1STR Identifiler Kit in Bahia, Brazil. Int. Congr. Ser. 1261 (2004) 219-222.

[11] E. L. Rodrigues, F.B. Machado, M. M. Arruda, R. S de Moura-Neto, E. Medina-Acosta. Genetic data on 15 STR autosomal loci for a sample population of the Northern Region of the State of Rio de Janeiro, Brazil. Forensic Sci. Int.:Genetics 4 (2009) e25-e26.

Frequência do ccr5-Δ32 na População do Nordeste Brasileiro: evidência da herança caucasiana

Manuscrito a ser encaminhado à revista:

Human Genetics

ISSN: 1432-1203

Original Investigations - Short reports

Anexo 04

Frequência do ccr5-Δ32 na População do Nordeste Brasileiro: evidência da herança caucasiana

Adriana Vieira Gomes, Luiz Mauricio-da-Silva, Eliane Borges da Silva, Fernanda Felício Mathias da Silva, Rubens Oliveira, Jeymesson Raphael Vieira, Rosilda dos Santos Silva *

Departamento de Genética, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco

Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, 50732-970, Recife-PE, Brasil

RESUMO

Achados recentes mostram o alelo ccr5-Δ32 como excelente marcador de origem européia. Sua frequência foi analisada nas 9 populações da Região Nordeste do Brasil, historicamente resultantes da miscigenação entre europeus, africanos e ameríndios. A frequência desse alelo variou de 0,0214 (Maranhão) a 0,0626 (Rio Grande do Norte) tendo, neste último Estado, apresentado seu maior valor que é próximo ao das populações de Portugal (0,0578), da França (0,0917) e da Holanda (0,1002) consideradas as populações européias presentes no Brasil no período colonial.

Palavras-Chaves: Alelo ccr5-Δ32; Marcadores genéticos; Polimorfismo; Nordeste do Brasil

*Contato com o Autor. Endereço Atual: Rua Professor Aurélio de Castro Cavalcanti, 79, Apto. 804, Boa Viagem, 51210-020, Recife-PE, Brasil. Tel./ fax: +55-81-21268512 E-mail: rosildaufpe@gmail.com

A população atual do Nordeste brasileiro, segundo relatos históricos, é fruto de uma grande miscigenação entre portugueses, holandeses, franceses, espanhóis, africanos e ameríndios durante o processo de colonização, o que resultou em grande diversidade gênica. A distribuição global do alelo mutante ccr5-Δ32 tem apresentado uma ampla variação, sendo encontrado em populações européias com uma frequência de aproximadamente 10% (Dean *et al.*, 1996), frequências entre 2 a 5% em populações no Oriente Médio e no território Indiano e uma frequência muito baixa (0 a 1%) entre africanos, japoneses e ameríndios (Grimaldi *et al.*, 2002; Chies *et al.*, 2003). Esses dados indicam que o alelo ccr5-Δ32 é um excelente marcador genético-molecular em estudos populacionais, evolutivos e antropológicos. Neste contexto, o presente estudo determinou a frequência do alelo ccr5-Δ32 na população dos nove Estados do Nordeste

do Brasil, objetivando caracterizar estas populações quanto a contribuição genética européia na sua formação.

A amostra está constituída de 3.334 indivíduos, não aparentados, dos nove Estados do Nordeste brasileiro, todos doadores de sangue de hemocentros, exceto a amostra da população do Estado de Pernambuco que foi proveniente de casos de Paternidade do Laboratório de Genética Molecular Humana – LGMH/UFPE. A coleta só foi realizada após o preenchimento do termo de consentimento informado. O DNA foi extraído pelo método rápido de *Mini Salting Out* (Miller *et al.*, 1988). A sequência parcial do gene *ccr5* foi amplificada pelo método de PCR utilizando *primers* específicos descrito por Passos e Picanço (1998). Os produtos amplificados foram detectados em gel vertical de PAGE a 6%, revelado por impregnação com nitrato de prata e solução reveladora (Na_2CO_3 , Tiosulfato Sódico, Formaldeído 37%). Os alelos foram identificados por comparação de tamanho com marcadores de peso molecular, aplicados na mesma corrida. Os produtos amplificados apresentaram tamanhos de 193pb e 161pb, alelo normal e mutante $\Delta 32$, respectivamente.

As nove populações do nordeste brasileiro se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg usando o Teste Exato de Fisher (Tabela 1). Não houve diferença significativa nas frequências observadas do alelo *ccr5*- $\Delta 32$ entre as populações estudadas ($F_{ST} = 0.003425$), tendo sido então consideradas para as demais comparações como uma única população denominada Nordeste. A menor frequência de *ccr5*- $\Delta 32$ foi encontrada na amostra do Estado do Maranhão (0.0214), enquanto que o Estado do Rio Grande do Norte apresentou a maior frequência (0.0626) (Tabela 1). Este fato pode ser explicado pelo período de permanência das populações Francesa e Holandesa na época da colonização, pois segundo dados históricos, no Maranhão a permanência dos Franceses e Holandeses foi de apenas três anos, enquanto que no Rio Grande do Norte os franceses permaneceram por 64 anos e os holandeses por 21 anos. Nas amostras dos Estados do Maranhão (MA), Ceará (CE), Paraíba (PB), Alagoas (AL) e Bahia (BA) não foi observado nenhum indivíduo homozigoto para a mutação. As diferenças genéticas entre as populações não foram significativas. Quando comparamos as frequências alélicas encontradas nas populações nordestinas com as daquelas que, segundo dados históricos, por intercruzamentos lhes deram origem (portugueses, espanhóis, franceses, holandeses, africanos e ameríndios), observa-se que elas não diferem significativamente ($F_{ST} = 0.008784$). Na Figura 1 podemos verificar que os africanos (Martinson *et al.*, 1997) estão geneticamente mais distantes das populações nordestinas do que os

européus. Verifica-se também que a população do MA forma um agrupamento com os ameríndios (Mangano *et al.*, 2001) (0.0003) indicando uma maior proximidade genética com essa etnia do que as demais populações do Nordeste. Pela distância genética, Portugal (Libbert *et al.*, 1998) está mais próximo do RN (0.0003) do que das demais populações nordestinas e as populações da Espanha, França e Holanda (Lucotte *et al.*, 2003) formam um agrupamento que mostra maior proximidade com a do RN, confirmando a contribuição maior de caucasianos nesse último Estado.

REFERÊNCIAS

- Chies JAB, Hutz MH. High frequency of the CCR5 delta 32 variant among individuals from an admixed Brazilian population with sickle cell anemia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2003; 36:71-75.
- Dean M, Carrington M, Winkler C, Huttley GA, Smith MW, Allikmets R and *et al.* (1996) Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CCR5 structural gene. *Science*; 273:1856-1862.
- Grimaldi R, Shindo N, Acosta AX, Dourado I, Brites C, Carvalho OM, Brito I, Bou-Habib DC, Galvão-Castro B (2002) Prevalence of the CCR5-Δ32 mutation in Brazilian populations and cell susceptibility to HIV-1 infection. *Hum Genet* 111:102-104.
- Libbert F, Cochaux P, Beckman G, Samson M, Aksenova M, Cao A and *et al.* The ΔCCR5 mutation conferring protection against HIV-1 in Caucasian populations has a single and recent origin in Northeastern Europe. *Hum. Mol. Genet.* 1998; 7:399-406.
- Lucotte G, Dieterlen F. More about the Viking hypothesis of origin of the Δ32 mutation in the CCR5 gene conferring resistance to HIV-1 infection. *Inf. Genet Evol.* 2003; 3:293-295.
- Mangano A, Theiler G, Sala L, Capucchio M, Faimboim L, Sen L. Distribution of CCR5-Δ32 and CCR2-641 aleles in an Argentine Amerindian population. *Tissue Antigens* 2001; 58: 99-102.

- Martinson JJ, Chapman NH, Rees DC, Liu YT, Clegg J. Global distribution of the CCR5 gene 32-bases pair deletion. *Nat. Genet.* 1997; 16: 100-103.
- Miller A. S., Dykes D. D., Polesky H. F., A simple salting out procedure for extracting DNA for human nucleated cells. *Nucl. Acids Res.* 16 (1988) 1215.
- Passos GAS, Picanço VP (1998) Frequency of the Δ CCR5deletion allele in the urban Brazilian population. *Immunol Lett* 61:205-207.

TABELA 1 – Frequências genotípicas e dos alelos do gene *ccr5* (*ccr5* e *ccr5*Δ32) nas nove populações do Nordeste Brasileiro.

População	Amostra	Frequência Genotípica			Frequência Alélica		Valor P
		<i>ccr5/ccr5</i>	<i>ccr5</i> /Δ32	Δ32/Δ32	<i>ccr5</i>	<i>ccr5</i> Δ32	
MA	304	0.9572	0.0427	-----	0.9786	0.0214	1.0000
PI	204	0.9117	0.0833	0.0049	0.9534	0.0466	0.2065
CE	305	0.9245	0.0754	-----	0.9623	0.0377	1.0000
RN	503	0.8807	0.1133	0.0059	0.9374	0.0626	0.4090
PB	241	0.9128	0.0871	-----	0.9564	0.0436	1.0000
PE	919	0.9075	0.0892	0.0032	0.9521	0.0478	0.5059
AL	300	0.9400	0.0600	-----	0.9700	0.0300	1.0000
SE	303	0.9372	0.0627	0.0033	0.9686	0.0314	0.3431
BA	255	0.9333	0.0666	-----	0.9666	0.0333	1.0000
NE	3334	0.9578	0.0002	0.0424	0.9576	0.0424	0.4010

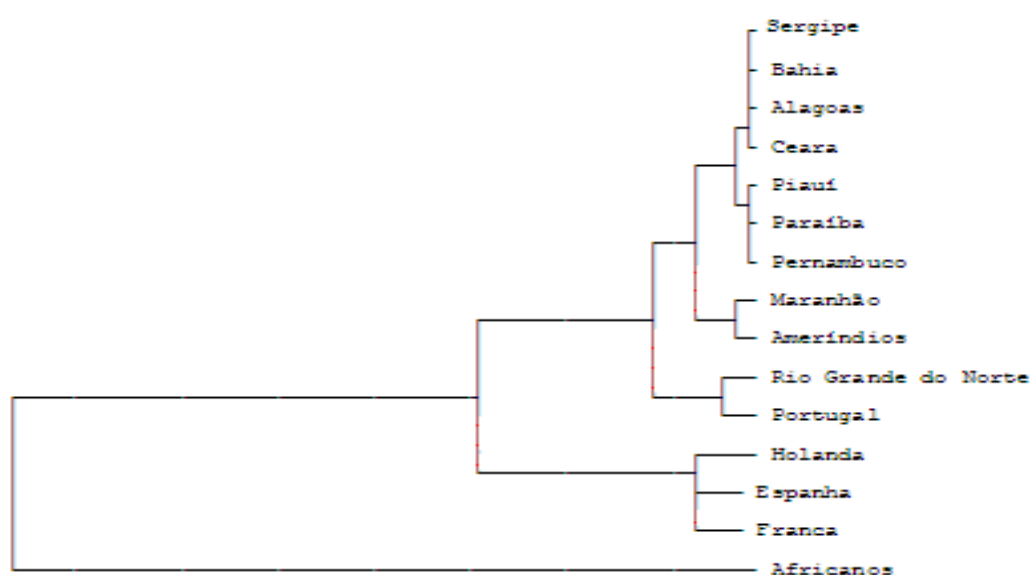


Figura 1 – Dendrograma construído de acordo com o software DISPAN usando o método UPGMA a partir das distâncias genéticas encontradas entre as frequências do alelo *ccr5*-Δ32 nos nove Estados do Nordeste brasileiro e comparadas com as descritas nas populações historicamente consideradas parentais.

6. CONCLUSÃO

1. Os dados sobre o polimorfismo de STRs em 7 das 9 populações da Região Nordeste do Brasil (populações do Ceará e Sergipe ainda não analisadas), indicam similaridade genética entre elas: menor distância genética entre PE e AL (0.0023) e maior entre MA e BA (0.0085). Essa similaridade é menor quando comparamos as populações nordestinas com a do Rio de Janeiro (RJ) - menor distância com PB-0.0540 e maior com PI- 0.061- e com a do Mato Grosso do Sul (MS) - menor distância com AL-0.0517 e maior com PI -0,644-. Ainda considerando os valores das distâncias genéticas, quando comparamos as citadas populações brasileiras com aquelas consideradas parentais encontramos no NE: menor distância Espanha – BA (0.1113) e maior Espanha – MA (0.1338); menor distância Portugal – PI (0.12830) e maior Portugal – MA (0.1534); menor distância África – BA (0.0357) e maior África – MA (0.0459). Nas outras Regiões brasileiras, encontramos as distâncias Espanha – RJ (0.1692) e Espanha – MS (0.1711); Portugal – RJ (0.1878) e Portugal – MS (0.2077); África – RJ (0.0700) e África – MS (0.0875). Esses dados reforçam a idéia de que a população brasileira resultou do intercruzamento, principalmente, entre europeus e africanos e que a contribuição de cada um desses povos variou discretamente entre as populações atuais das diferentes Regiões geográficas (Apêndice 01).

2. O alelo mutante *ccr5Δ32* é considerado um excelente marcador da presença de gene de origem européia devido às grandes diferenças de sua frequência nos grandes grupos étnicos; os dados das distâncias genéticas aqui apresentados para as 9 populações do Nordeste brasileiro nos permitem a seguinte aproximação: a contribuição africana é quase inexistente, a ameríndia é mais clara no MA e a contribuição européia é mais evidente no RN onde o citado alelo mostrou frequência muito próxima daquela encontrada em Portugal (0,0626 e 0,0578, respectivamente), seguida pela proximidade com a da Espanha (0,0836), da França (0,0917) e da Holanda (0,1002). (Apêndices 2 e 3)

3. O grande polimorfismo apresentado pelos locos de STRs mostrou-se mais útil e, atualmente, é ferramenta indispensável na área da genética forense e de identificação de indivíduos do que em estudos evolutivos e/ou antropológicos porque, suas altas taxas

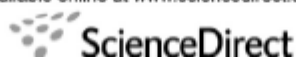
de mutação refletem divergências recentes não sendo, portanto, adequadas para inferências evolutivas antigas. Além disso, por se tratar de genes não traduzidos, as mutações nesses locos não correspondem, necessariamente, a alteração de função nos organismos não tendo significado no processo evolutivo.

7. ANEXOS

01 – Artigo:



Available online at www.sciencedirect.com



Forensic Science International xxx (2007) xxx–xxx



www.elsevier.com/locate/forensic

Announcement of Population Data

13 STR loci frequencies in the population from Paraíba, Northeast Brazil

Adriana Vieira Gomes, Luiz Mauricio-da-Silva, Glória Raposo,
Jeymesson Raphael Cardoso Vieira, Rosilda dos Santos Silva *

Department of Genetics, Biological Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, 50732-970 Recife-PE, Brazil

Received 3 February 2005; received in revised form 20 October 2006; accepted 20 October 2006

02 – Artigo:



Contents lists available at ScienceDirect

Forensic Science International: Genetics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/fsig



Announcement of Population Data

Mutation rates at 14 STR loci in the population from Pernambuco, Northeast Brazil

Edilene Santos de Andrade, Adriana Vieira Gomes, Glória Raposo,
Luiz Mauricio-da-Silva, Rosilda dos Santos Silva *

Department of Genetics, Biological Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego s/n, Cidade Universitária, 50732-970 Recife, PE, Brazil

03 – Instruções para Autores

Revista Forensic Science International: Genetics

04– Instruções para Autores

Revista Human Genetics



Forensic Science International: Genetics



An international journal dedicated to the
application of genetics in the administration
of justice.



ISSN: 1872-4973

Guide for Authors

An international journal dedicated to the application of genetics in
the administration of justice.
Official journal of the [International Society for Forensic Genetics](#)
(ISFG).



Types of paper

1. Original Research Papers (Regular Papers)
2. Review Articles
3. Letters to the Editor
4. Case Reports
5. Book Reviews
6. Forensic Population Genetics (Original Paper, Short Communication or Letter to the Editor)
7. Rapid Communications

Case Reports will be accepted only if they contain some important new information for the readers.

Forensic Population Genetics manuscripts can be submitted using three types of formats:

Forensic Population Genetics - Original paper: In this section full length papers on relevant population genetics issues of forensic interest will be considered for publication. The data should be original, the population genetic analysis must be of the highest quality and the data should have forensic relevance beyond the scope of simply reporting allele or haplotype frequencies.

Forensic Population Genetics - Short communication (former "Announcement of population data"): Understanding that both the quality of population data and the relevance of results are crucial short communications should be submitted in table format. Population data are required to be downloaded as supplementary files (see Preparation of supplementary data).

Forensic Population Genetics - Letter to the editor: If the relevance of the data is not sufficient for an original paper or a short communication, but still worthy of an announcement, the editors can invite authors to submit a letter to the editor. In this case the manuscript must be written in the form of a short letter to the editor summarizing the relevant information while the frequency data must be provided as an electronic supplement, e.g. a spreadsheet table, for online publication in the electronic repository of the journal.

All Forensic Population Genetics papers should always contain information on the description of the population, ethical requirements and quality control. For mtDNA DNA papers, previous acceptance of the dataset in EMPOP (⇒ <http://www.empop.org>) is required, for YSTR and YSNP data previous inclusion of the data in the YSTR/YSNP database (⇒ <http://www.yhrd.org>) is required. For specific information on requirements and procedures of Forensic Population Genetics papers, see the editorial: [Publication of population data for forensic purposes](#) (Forensic Sci. Int. Genet. 4 (2010) 145-147).

Rapid Communications should describe work of significant interest, whose impact would suffer if publication were not expedited. They should not be longer than 5 printed journal pages. Authors may suggest that their work is treated as a Rapid Communication, but the final decision on whether it is suitable as such will be taken by the Editor. Rapid Communications requiring revision should be resubmitted as a new submission.

Contact details for submission

Authors should send queries concerning the submission process or journal procedures to AuthorSupport@elsevier.com. Authors can check the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

Page charges

This journal has no page charges.



Before You Begin

Ethics in Publishing

For information on Ethics in Publishing and Ethical guidelines for journal publication see ⇒ <http://www.elsevier.com/publishingethics> and ⇒ <http://www.elsevier.com/ethicalguidelines>.

Policy and ethics

The work described in your article must have been carried out in accordance with *The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans* → <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>; *EC Directive 86/609/EEC for animal experiments*

→ http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm; *Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals* → <http://www.icmje.org>.

This must be stated at an appropriate point in the article.

Conflict of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organisations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. See also

→ <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>.

Submission declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere including electronically in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see

→ <http://www.elsevier.com/copyright>). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult → <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult

→ <http://www.elsevier.com/permissions>.

Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to: ➡ <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the paper for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see

➡ <http://www.elsevier.com/funding>.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit ➡ <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Language and language services

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://webshop.elsevier.com/languageediting> or our customer support site at <http://support.elsevier.com> for more information.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Submit your article

Please submit your article via ➡ <http://www.ees.elsevier.com/fsigen>.

Additional information

Please note that articles that are sent to the author for revision need to be returned within four months. A reminder will be sent in the third month. Any articles that are sent after the fourth month period of revision will be considered a re-submission.



Preparation

Article structure

Manuscripts in general should be organized in the following order:

- Title (should be clear, descriptive and not too long)
- Name(s) of author(s)
- Abstract, which should be clear, descriptive and not longer than 400 words
- Keywords, normally 3-6 items
- Introduction
- Material studied, methods, techniques
- Results
- Discussion
- Conclusion
- Acknowledgments
- References

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name, and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a "Present address" (or "Permanent address") may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.

- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

➡ <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please "save as" or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics".

TIFF: color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

DOC, XLS or PPT: If your electronic artwork is created in any of these Microsoft Office applications please supply "as is".

Please do not:

- Supply files that are optimised for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see

➡ <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to "gray scale" (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: "..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result"

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, J. Sci. Commun. 163 (2000) 51–59.

Reference to a book:

[2] W. Strunk Jr., E.B. White, The Elements of Style, third ed., Macmillan, New York, 1979.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), Introduction to the Electronic Age, E-Publishing Inc., New York, 1999, pp. 281–304.

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a maximum size of 10 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: ➡ <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at ➡ <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary data

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more.

Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect:

➡ <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at ➡ <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal's Editor for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One Author designated as corresponding Author:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone and fax numbers

All necessary files have been uploaded

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been "spellchecked" and "grammar-checked"
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black and white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.



After Acceptance

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes.

Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. The correct format for citing a DOI is shown as follows (example taken from a document in the journal *Physics Letters B*):
doi:10.1016/j.physletb.2010.09.059

When you use the DOI to create URL hyperlinks to documents on the web, they are

guaranteed never to change.

Proofs

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 (or higher) available free from

➡ <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the Adobe site:

➡ <http://www.adobe.com/products/reader/systemreqs>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return them to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

Author orders

When your article is published, you can commemorate your publication with printed author copies of the journal issue, customized full-color posters, extra offprints, and more. Please visit ➡ <http://webshop.elsevier.com> to learn more.

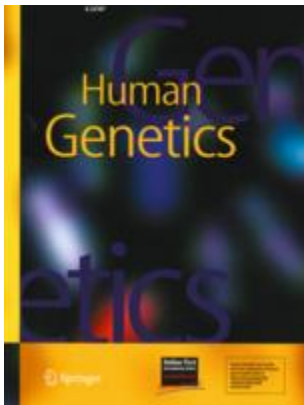


Author Inquiries

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission where available) please visit this journal's homepage. You can track accepted articles at ➡ <http://www.elsevier.com/trackarticle> and set up e-mail alerts to inform you of when an

article's status has changed. Also accessible from here is information on copyright, frequently asked questions and more. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher.

© Copyright 2010 Elsevier | <http://www.elsevier.com>



HUMAN GENETICS

Editors: D.N. Cooper; Th.J. Hudson

ISSN: 0340-6717 (print version)

ISSN: 1432-1203 (electronic version)

Journal no. 439 **Impact Factor: 4.523 (2009) ***

<http://www.springer.com/biomed/human+genetics/journal/439?changeHeader>

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Papers may be considered for publication in the sections listed below.

- **Original investigations: Original investigations are definitive and comprehensive descriptions of major research findings which are of broad significance for readers of Human Genetics. Papers may be presented as full articles or short reports. Short reports should begin with a short abstract of up to 80 words. In total a short report should be no longer than 500 words in length and should contain no more than one table, one figure and six references.**
- Letters to the Editor: Letters relating to published articles or topical issues in Human Genetics will be peer reviewed.
- Review articles: Review articles and mini-reviews are most welcome. Contributors seeking to publish a review are nevertheless encouraged to contact an Editor prior to submitting the article.
- Book reviews: Published by invitation only.

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication

times. Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Title Page

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.

Note: If you use Word 2007, do not create the equations with the default equation editor but use the Microsoft equation editor or MathType instead.

- Save your file in doc format. Do not submit docx files.
- [Word template](#)

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

- [LaTeX macro package](#)

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference

citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols. Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

Scientific style

- Please always use internationally accepted signs and symbols for units, SI units.
- Generic names of drugs and pesticides are preferred; if trade names are used, the generic name should be given at first mention.
- Mutation nomenclature

Mutation nomenclature as recommended by Dunnen JT den, Antonarakis SE (2001) Nomenclature for the description of human sequence variations. Hum Genet 109:121–124 must be used.

- Gene symbols

Gene symbols, as approved by the HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC)(<http://www.genenames.org>) must be used.

DNA Polymorphism–Disease Associations

Articles describing such associations must follow the guidelines set out in Cooper DN, Nussbaum RL, Krawczak M (2002) Proposed guidelines for papers describing DNA polymorphism–disease associations. Hum Genet 110:207–208.

New nucleotide data must be submitted and deposited in the DDBJ/EMBL/GenBank databases and an accession number obtained before the paper can be accepted for publication. Submission to any one of the three collaborating databanks is sufficient to ensure data entry in all. The accession number should be included in the manuscript e.g. as a footnote on the title page: ‘Note: Nucleotide sequence data reported are available in the DDBJ/ EMBL/GenBank databases under the accession number(s)----’. If requested the database will withhold release of data until publication. The most convenient method for submitting sequence data is by World Wide Web:

- EMBL via Webin:

<http://www.ebi.ac.uk/embl/Submission/webin.html>

- GenBank via Bankit:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BankIt/>

- DDBJ via Sakura:

<http://www.sakura.ddbj.nig.ac.jp/>

- Alternatively, the stand-alone submission tool ‘Sequin’ is available from the EBI at

[http://www3.ebi.ac.uk/ Services/Sequin](http://www3.ebi.ac.uk/Services/Sequin)

and from NCBI at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Sequin/>

- For special types of submissions (e.g. genomes, bulk submissions etc.) additional submission systems are available from the above sites.

References

Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:

- Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).
- This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).
- This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1993).

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work.

- Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. doi: 10.1007/s00421-008-0955-8

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 341:325–329

- Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. doi:10.1007/s001090000086

- Book

South J, Blass B (2001) The future of modern genomics. Blackwell, London

- Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) The rise of modern genomics, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

- Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

- Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

- www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php

Tables

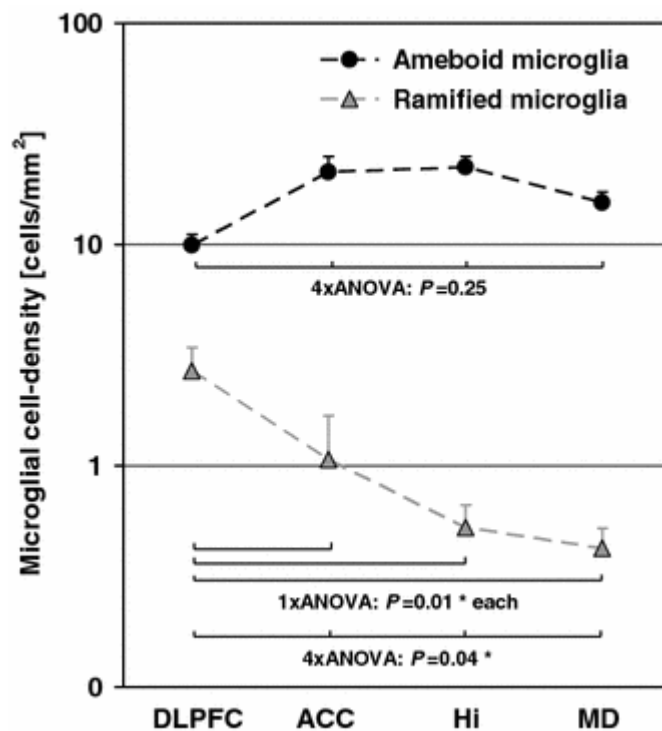
- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

Artwork

For the best quality final product, it is highly recommended that you submit all of your artwork – photographs, line drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to the highest standards with the greatest accuracy to detail. The published work will directly reflect the quality of the artwork provided.

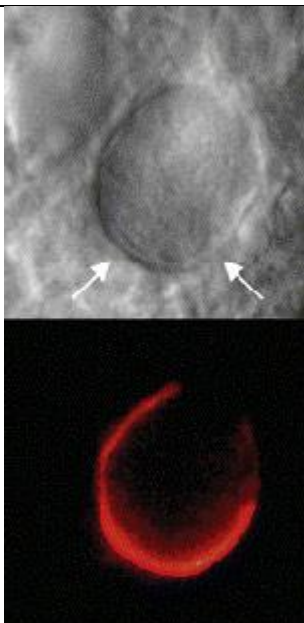
Electronic Figure Submission

- Supply all figures electronically.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MS Office files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.



- Definition: Black and white graphic with no shading.
- Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

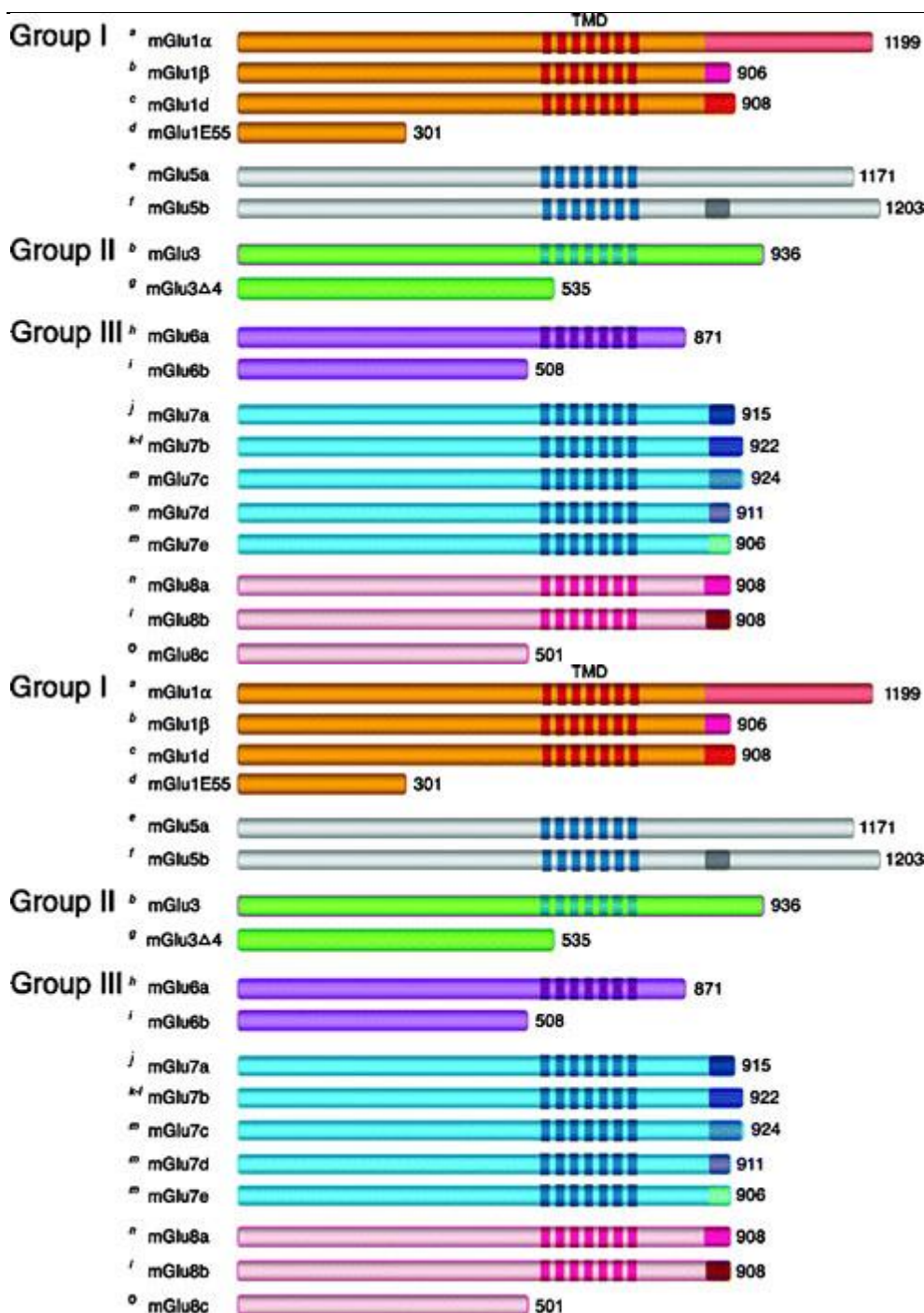
Halftone Art



- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

Combination Art



- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

- Color art is free of charge for online publication.
- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.
- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.
- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

- To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

- Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.
- Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.
- For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)
- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (color-blind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

Electronic Supplementary Material

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Submission

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

- Always use MPEG-1 (.mpg) format.

Text and Presentations

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

8. APÊNDICES

APÊNDICE 01

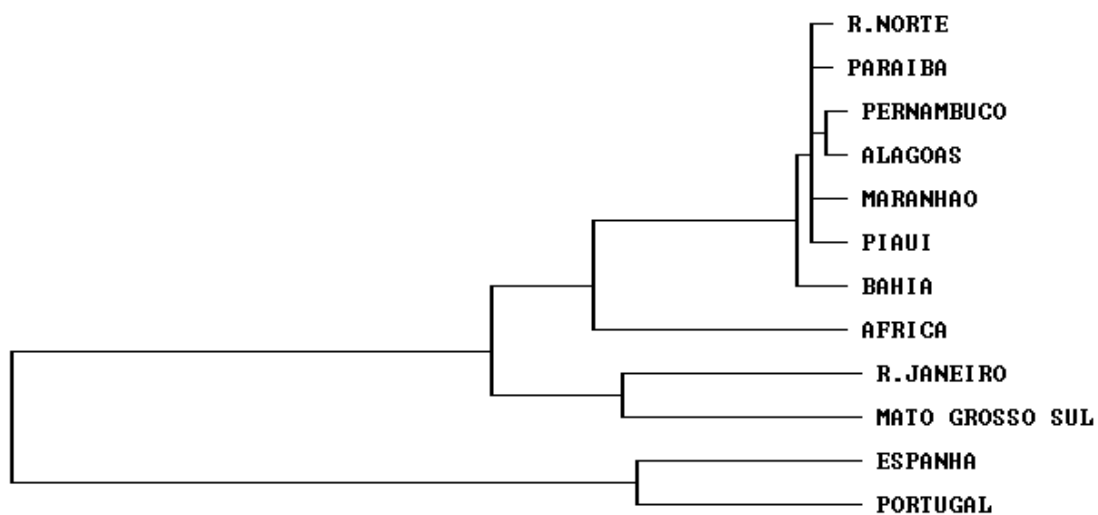


Figura 01 - Dendograma construído com o software DISPAN usando o método UPGMA utilizando as distâncias genéticas calculadas a partir das frequências alélicas apresentadas por locos de STRs nas populações do Nordeste do Brasil e nas populações historicamente consideradas parentais.

APÊNDICE 02

TABELA 01 - Comparação da frequência do alelo *ccr5*Δ32 na população dos nove Estados da Região Nordeste do Brasil com a das populações colonizadoras.

População	Amostra	Frequência Alélica		Referência
		<i>ccr5</i>	<i>ccr5</i> -Δ32	
MARANHÃO	304	0.9786	0.0214	Presente estudo
PIAUÍ	204	0.9534	0.0466	Presente estudo
CEARÁ	305	0.9623	0.0377	Presente estudo
RIO G NORTE	503	0.9374	0.0626	Presente estudo
PARAÍBA	241	0.9564	0.0436	Presente estudo
PERNAMBUCO	574	0.9556	0.0444	Presente estudo
ALAGOAS	300	0.9700	0.0300	Presente estudo
SERGIPE	303	0.9686	0.0314	Presente estudo
BAHIA	255	0.9666	0.0333	Presente estudo
PORTUGAL	225	0.9422	0.0578	Lucotte,Libert98
ESPANHA	437	0.9164	0.0836	Lucotte, 2003
FRANÇA	1837	0.9083	0.0917	Lucotte, 2003
HOLANDA	364	0.8998	0.1002	Lucotte, 2003
$F_{ST} = 0.008784$				

APÊNDICE 03

TABELA 02 - Comparação da frequência do alelo $ccr5\Delta32$ na população do Nordeste do Brasil com outras populações brasileiras.

População	Amostra	Frequência Alélica		Referência
		$ccr5$	$ccr5-\Delta32$	
NORDESTE	3079	0.9576	0.0424	Prsente estudo
SÃO PAULO	115	0.9347	0.0652	Munerato, 2003
JOINVILLE	99	0.9343	0.0656	Grimaldi, 2002
PORTO ALEGRE	84	0.9761	0.0239	Chies, 2003
ALEGRETE	103	0.8252	0.1747	Vargas, 2007