

EUCLIDES FONTOURA DA SILVA JÚNIOR

ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM ÍNDIOS KAINGÃNG

Tese apresentada à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Genética Humana da Universidade Federal do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciências, na área de Genética Humana.

Orientador: Prof. Iglenir João Cavalli

À minha mãe e à memória de meu pai,
por tudo que me ensinaram da vida.

À Eliane, mulher, amiga, companheira
e ajudante de todas as horas, e
ao Rodrigo, que me trouxeram a alegria
suficiente para superar os momentos
de cansaço e dificuldades.

Í N D I C E

AGRADECIMENTOS.	5
I. INTRODUÇÃO	
1. Raças humanas - comentários gerais.....	7
2. Aspectos históricos e etnológicos dos índios Kaingãng do Paraná.....	10
3. Estudos citogenéticos em indivíduos normais.....	16
3.1. Aneuploidias.....	16
3.2. Aberrações estruturais dos cromossomos.....	27
3.3. Associações de acrocêntricos, satélites e regiões organizadoras do nucléolo (RON).....	35
3.3.1. Distribuição e posição dos cromos- somos acrocêntricos.....	41
3.3.2. Localização, estrutura e fisiolo- gia das RON.....	44
3.3.3. Algumas possíveis causas de varia- ção na formação das associações de acrocêntricos.....	46
4. Objetivos do trabalho.....	53
II. MATERIAL E MÉTODOS	
1. Aspectos demográficos e sócio-econômicos da população indígena.....	55
2. Caracterização da amostra.....	58
3. Métodos de coleta, cultura e preparação das células.....	58

3.1. Coleta do sangue.....	58
3.2. Cultura.....	59
3.3. Preparação citológica.....	59
4. Critérios de escolha e análise das células.....	60
III. RESULTADOS	
1. Aneuploidias.....	63
2. Aberrações estruturais: cromossômicas e/ou cromatídicas.....	64
3. Associações de acrocêntricos.....	65
3.1. Número de células com e sem associações.....	65
3.2. Número de células classificadas pelos tipos de associações.....	65
3.3. Número médio de associações por célula.....	66
IV. DISCUSSÃO	
1. Aneuploidias.....	108
2. Aberrações estruturais.....	109
3. Associações de acrocêntricos.....	112
V. SUMÁRIO E CONCLUSÕES.	115
VI. BIBLIOGRAFIA CITADA.	118

AGRADECIMENTOS

A execução desse trabalho só foi possível com a participação conjunta de um grupo de pessoas que pela sua parcela de contribuição tem o direito de receber qualquer mérito que este trabalho por ventura venha a ter. A todas essas e as outras pessoas que de qualquer forma tenham contribuído para a realização desse trabalho externamos os nossos mais profundos agradecimentos.

A todos os indígenas que espoliados e maltratados ainda sobrevivem com um sopro de esperança.

Aos indivíduos que com a doação do seu sangue ajudaram na realização desse trabalho.

Ao Prof. Iglenir João Cavalli, orientador, amigo e companheiro de todos os momentos do decorrer desse trabalho.

À Eliane, minha mulher, pela colaboração e estímulo em várias etapas do andamento do trabalho.

Aos Profs. Iglenir João Cavalli, Ives José Sbalqueiro, Lodércio Culpi e Aldo Waldrigues, pela ajuda na coleta do material.

Às Profas. Lúcia Regina Ribeiro, Néria Amorim Maia e Elza Costa Netto Muniz e à acadêmica Chandal Maria Meirelles Nasser, pela colaboração técnica.

À Dona Amélia Clara Olivette pela lavagem e esterilização de todo o material utilizado no trabalho.

Aos Drs. Moisés Paciornik e Cláudio Paciornik, pelo convite e oportunidade de participar da excursão ao Posto Indígena Ivaí sob sua responsabilidade.

Ao Prof. João Roberto Gomes de Faria, pela revisão do texto.

À Irene Sedoski, pelo serviço de datilografia.

À Profa. Regina Maria Piechnik Cordeiro da Silva, pelo fornecimento de uma parte do material bibliográfico, e em extensão à Dra. Margarete Suñe Mattevi pelo fornecimento do material bibliográfico escrito em russo e sua tradução.

À Profa. Cecília Maria Vieira Helm, pela orientação antropológica dada no trabalho.

Ao Prof. Ruy C. Wachowicz, pelo esclarecimento dos termos históricos.

Ao colega Carlos Alberto Padilha, pela realização dos desenhos técnicos.

Aos colegas e amigos do Departamento de Genética pela convivência e sugestões no decorrer desse trabalho.

À Universidade Federal do Paraná, por ter fornecido suas instalações para que esse trabalho fosse realizado.

À Coordenação Central dos Cursos de Pós-Graduação da UFPr, pela bolsa concedida durante o ano de 1973.

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela bolsa concedida nos anos de 1974 e 1975.

Ao Programa Integrado de Genética (PIG), pelos auxílios concedidos.

À Universidade Federal do Paraná e a Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior, pelo auxílio financeiro recebido para a confecção da tese.

À Fundação Nacional do Índio (FUNAI), pela autorização para a coleta do material.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), pelas facilidades proporcionadas durante o trabalho no Posto Indígena TAMARANA.

I. INTRODUÇÃO

1. RAÇAS HUMANAS - comentários gerais

O termo "RAÇA" foi primeiramente usado pelo cientista francês Buffon, em 1749 (segundo Dunn e Dobzhansky, 1962).

As primeiras classificações da espécie humana em raças consideraram como principal característica a cor da pele. Baseado nesta característica é que Blumenbach, em 1775, fundador da antropologia, segundo Dunn e Dobzhansky (1962), propôs dividir a espécie humana em cinco raças: caucásica ou branca, mongólica ou amarela, etiópica ou negra, americana ou vermelha e malaia ou parda. No entanto, logo após o trabalho de Blumenbach a cor da pele foi considerada uma característica superficial, e os antropólogos se valeram, para as suas classificações, de medidas e proporções de partes do corpo, especialmente da cabeça. As raças foram caracterizadas pela forma da cabeça, juntamente com combinações particulares de outros caracteres, dos quais quase todos se apresentavam, em certo grau, em todas as raças, mas não eram constantes em nenhuma delas. Deniker, em 1889, de acordo com Dunn e Dobzhansky (1962), reconheceu vinte e nove raças caracterizadas pela forma do cabelo, sendo a cor da pele e o formato do nariz usados como traços subsidiários. Conforme esses autores ainda, três raças básicas foram estabelecidas

por von Eickstedt, em 1933: "europóide", "negróide" e "mongolóide", com dezoito "sub-raças", três "raças colaterais", onze "sub-raças colaterais" e três "formas intermediárias". Em 1950, os antropólogos americanos Coon, Garn e Birdsell admittiram seis "supostas linhagens": negróide, branca, mongolóide, australóide, índio americano e polinésia, e trinta raças diferentes. Hooton, em 1926, segundo Count (1950), definiu raça como: "uma grande divisão da humanidade, cujos membros, apesar de variarem individualmente são caracterizados como um grupo, por uma certa combinação de características morfológicas e métricas, principalmente não-adaptativas, derivadas de seus antepassados comuns". Os critérios de classificação acima citados conduziram a uma grande multiplicidade de classificações, conceitos e, conseqüentemente, de raças diferentes. Como se vê, as classificações das raças era tipológica, o que se constituía, inclusive, numa importante indicação do lugar de origem dos grupos raciais limitados pelas barreiras geográficas. Hoje, com a grande mobilidade das populações humanas, essa correlação entre raças e áreas geográficas está desaparecendo, embora ainda seja utilizada.

Atualmente, os estudos orientam-se, em sua maioria, no sentido de descobrir as origens das diferenças raciais existentes entre os grupos humanos e com elas estabelecer as características representativas de uma população. Os antropólogos têm classificado essas diferenças dentro de dois aspectos: CULTURAIS e GENÉTICOS (Barrai, 1971). Os primeiros estão intimamente relacionados com o ambiente, enquanto que nos segundos esta relação é parcial. Das características usadas na classificação racial muitas são hereditárias ou têm um componente genético. Algumas são controladas por ação de um mecanismo genético simples; outras, devido a mecanismos genéticos mais complexos.

Há um consenso geral entre os geneticistas e os antropólogos de que o processo de formação das raças é basicamente o mesmo do da formação das espécies, porém em escala menor. O mecanismo da especiação, segundo a teoria da evolução, admite que as espécies novas originam-se de outras espécies pré-existentes. A mutação introduz variações entre os

indivíduos de uma espécie. Essas variações, caso determinem nos indivíduos que as possuem uma vantagem em relação aos outros da mesma espécie, vão levar estes a se tornarem melhor adaptados ao seu ambiente. Desta forma, "Se aceitarmos a idéia de que o passo unitário no processo da evolução, no sentido de formação das espécies, é a substituição de um alelo por outro, podemos aceitar também que o mesmo processo é válido na formação racial e que as diferenças giram em torno da reversibilidade" (Barrai, 1971). Os mesmos fatores evolutivos, como a mutação, seleção natural, deriva genética e fluxo gênico atuam de forma similar para a produção de polimorfismos gênicos ou cromossômicos.

Dobzhansky (1973) define as raças como populações geneticamente distintas, em geral alopátricas, vivendo em territórios diferentes. Diferenças genéticas entre raças geográficas são mantidas, pelo menos em parte, pela sua separação geográfica, apesar das diferenças individuais e raciais estarem relacionadas com fatores genéticos semelhantes. Freire-Maia (1979) vê as raças como: "Populações mais ou menos isoladas, que diferem de outras populações da mesma espécie, pela frequência de características hereditárias", e diz: "O que define uma raça é a frequência dos traços genéticos, e o conceito de raça nada tem a ver portanto, com língua, religião, cultura, tecnologia, etc. Essas variáveis são importantes em Antropologia Cultural e podem oferecer elementos para a melhor compreensão da formação das raças, mas não as definem e nem as caracterizam. Pessoas de raças diferentes podem falar a mesma língua, praticar a mesma religião, apresentar o mesmo nível de desenvolvimento tecnológico, participar da mesma cultura, etc. Da mesma forma, dentro de uma mesma raça, podemos encontrar diferença de língua, de cultura, de desenvolvimento tecnológico, etc."

Apesar dessa quantidade e variedade de conceitos de raça e de sua classificação, ainda hoje, segundo Dobzhansky (1973), persistem dois problemas de caráter geral, relacionados com as raças: 1º) Em que condições devem ser atribuídas denominações às raças? 2º) Existe realmente o fenômeno biológico chamado raça? Porém, o fato óbvio é que membros da mesma espécie que habitam diferentes partes do mundo são em geral

fenotípica e geneticamente diferentes. E é nestes termos mais simples possíveis que uma raça consiste como fenômeno biológico.

Sendo assim, pode-se ver uma raça como um conjunto de populações locais que diferem de outros conjuntos, nas frequências de alguns alelos ou estruturas cromossômicas (Dobzhansky, 1973).

Salzano e Freire-Maia (1967, 1970), Salzano, Woodall, Black, Weitkamp e Franco (1974), Salzano (1975, 1976) e Salzano, Neel, Gershowitz e Migliazza (1977), estudando o indígena brasileiro, determinaram a incidência de vários polimorfismos gênicos, para uma série de loci. Porém, sob o ponto de vista citogenético, somente há pouco tempo esse tipo de estudo começou a ser feito. Ambos os estudos, a nível gênico e cromossômico, têm um papel importante no conhecimento da estrutura genética e racial do indígena brasileiro.

2. ASPECTOS HISTÓRICOS E ETNOLÓGICOS DOS ÍNDIOS KAINGÂNG DO PARANÁ

Segundo Helm (1974), quem primeiro escreveu sobre os índios "Caingangues" e usou esse termo na literatura antropológica foi Telêmaco Borba, em 1882 (apud ?, 1901), que informa que os índios Kaingãng eram conhecidos pela denominação de "Coroados".

Rodrigues (1971), classifica os Kaingãng em Kaingãng do Norte, Central e do Sul, sendo que os do Paraná foram divididos em três grupos geográficos principais: os do Rio Tibagi, que estavam localizados nos municípios de São Jerônimo da Serra, Apucarana e Ortigueira; os do Rio Ivaí, que estavam situados nos municípios de Cândido de Abreu, Manoel Ribas e Guarapuava; e os do Rio Iguaçu, que compreendiam os municípios de Laranjeiras do Sul, Mangueirinha e Palmas. Complementa dizendo que é possível que existissem índios Kaingãng no Rio Piquiri.

Do ponto de vista lingüístico, os Kaingãng pertencem

ao Tronco Macro-Jê e a Família Jê. Wieseemann (1967), divide a língua Kaingãng em cinco dialetos: o de São Paulo, falado em dois postos daquele estado; o do Paraná, usado nos postos desse estado ao norte do Rio Iguaçu; o Central, falado nos postos entre os Rios Iguaçu e Uruguai, nos Estados do Paraná e Santa Catarina; e o do Sudoeste, falado nos postos ao sul do Uruguai e leste do Rio Passo Fundo.

Desde o descobrimento que os nossos silvícolas vêm sofrendo toda sorte de pressões por parte do colonizador branco. Em todos os momentos da história do contato, constatou-se que os colonizadores foram manipulando os silvícolas de acordo com seus interesses imediatos - seja na preação, mineração ou em atividades voltadas para a pecuária, agricultura e extração da erva-mate.

Telêmaco Borba, segundo Helm (1974), provavelmente referindo-se aos Kaingãng do Rio Ivaí, conta, conforme narrativas da tradição oral da tribo, como esses índios opuseram-se ao povoamento de Guarapuava, e escreve: "Dizem elles que atacaram (Guarapuava) no princípio, mas foram vencidos, em um grande combate, onde perderam muita gente; depois desse desbarato continuaram seo velho systema de sorprehender traiçoeiramente, tanto os desprevenidos habitantes dos campos de Palmas e Guarapuava, como os descuidados tropeiros; mas, neste seo modo de proceder, de vez em quando soffriam grandes revezes, e as represalias por parte dos habitantes daquellas regiões, coadjuvados pelos caciques Condã e Viry, eram-lhes sempre funestas".

No entanto, de acordo com Telêmaco Borba, em 1882, apud Helm (1974), o grupo Kaingãng, historicamente, habitava o território compreendido entre os Rios Tibagi e Uruguai, e eram chefiados pelo cacique Viry que tinha bom entendimento com os criadores, sendo suas relações, em geral, pacíficas; o que fez com que esse grupo fosse usado para atrair outras hordas hostis. Pelas informações dos índios mais velhos, sabe-se também que os índios mais "mansos" eram utilizados para se fazer o contato com os novos grupos mais arredios, assim incorporando esses novos grupos, e as novas áreas por eles habitadas, à comunidade dominadora branca. Utilizavam-

-nos como mão-de-obra nas fazendas criadoras de gado e em atividades agrícolas, para a manutenção do núcleo de povoamento.

Posteriormente, no assim dito "ciclo da madeira", os brancos invadiram e tomaram áreas de suma importância para os índios, derrubando as principais árvores que lhes interessavam para o comércio madeireiro. Assim, os silvícolas ficaram sem grande parte das suas áreas destinadas à coleta e à caça, de onde retiravam sua alimentação, constituída dos frutos do pinheiro, que estocavam e reservavam para épocas difíceis. Utilizavam também o pinhão socado para fazer farinha, que lhes servia de subsistência.

À medida que as frentes pioneiras de colonização branca (franjas) foram avançando, os grupos arredios internaram-se pelas matas e ficaram encurralados em áreas que, mais tarde, serão desbravadas por novas frentes, notadamente pelas levas de imigrantes europeus que chegaram ao Paraná na segunda metade do século passado e início do atual. Os colonos que foram adquirindo lotes e desenvolvendo a agricultura e a criação de animais solicitaram ao governo central medidas no sentido de lhes dar proteção, pois se achavam seguidamente "ameaçados" pela presença de índios no interior das matas. Governo e clero procuraram reunir os índios em aldeamentos, dentro de reservas especialmente criadas para que os grupos tribais não se constituíssem em "perigo" aos novos colonizadores e também numa tentativa de inculcar nos silvícolas os "hábitos da civilização cristã".

Os missionários foram os primeiros encarregados de administrar os aldeamentos formados, que no caso dos Kaingãng, constituíam-se na maior quantidade de índios do sul do país. Esses missionários tinham grande interesse nos indígenas, pois estes serviriam de iniciadores da "fé cristã" no assim chamado "nôvo" continente. Porém, surgiram obstáculos sérios aos seus intuitos, como por exemplo os problemas econômicos, as fugas de índios para seus lugares de origem, o abandono dos "costumes cristãos", enfim uma grande inadaptação por parte dos silvícolas à nova maneira de viver que lhes queriam impor os catequistas. Apesar dos esforços feitos nesse senti-

do, e também da proteção que os missionários procuraram dar às populações indígenas, esses aldeamentos não alcançaram o sucesso esperado, fazendo com que muitos missionários desistissem de sua missão. Um dos principais fatores responsáveis pelo fracasso dos aldeamentos foi o comportamento dos colonos que, assustados, constantemente dizimavam grupos indígenas pelo simples fato dos mesmos "observarem" os sítios quando perambulavam pela mata a procura de alimentos. Então, o Governo Imperial, em 1843, resolveu confiar aos capuchinhos, que eram freis missionários de origem italiana, a conversão dos indígenas brasileiros. Segundo Moreira Neto (1971), essa ordem passou "a ter influência decisiva na condução da política indigenista do Império, cabendo frequentemente aos missionários o exercício de um poder completo sobre os índios, a despeito dos 'diretores de índios' e de funcionários leigos".

Em julho de 1845, foi promulgado o Decreto nº 426, chamado o "Regimento das Missões", que completava a lei de 1843, e assim, de acordo com Moreira Neto (1971), "a criação em cada província de uma Diretoria Geral dos Índios, provida por nomeação imperial. Em cada aldeia haveria um diretor, nomeado pelo Presidente da Província sob proposta do diretor geral. O regulamento previa também a presença necessária de um missionário em cada aldeia, com ampla autonomia em sua área de ação específica".

Os índios, pouco a pouco, foram perdendo terreno, em vista de que, os Kaingáng eram divididos em hordas, e os brancos colonizadores tinham interesses em conflitar umas hordas com as outras, para que, com isso tirassem vantagens devido ao enfraquecimento da tribo como um todo. As hordas entravam em disputas, lutando por áreas de caça e coleta, e até, em algumas vezes, por mulheres raptadas.

Paulatinamente os colonizadores foram se fortalecendo, com o enfraquecimento dos índios de um lado e com o apoio governamental de outro. Essa incompreensão e ignorância governamental chegou a tal ponto que na ocasião em que foi lavrada a Carta Régia de 1808, esta mandava fazer guerra aos índios.

Zacarias Goes e Vasconcelos (1854), o primeiro Presidente do Paraná, relata que: "Todos os índios aldeados haviam

sido expulsos desta vila (de Guarapuava), inclusive o cacique Viry e seu grupo, apesar de ser este um indivíduo a serviço dos fazendeiros da área, que o usavam para ataques a outros bandos. O grupo de Viry foi refugiar-se em Palmas". Continuando: "O chefe Victorino Condã, de Guarapuava, foi estimulado pelo comandante militar da colônia a atacar os grupos indígenas que se concentravam na região de Palmas, recebendo 220\$000 por sua participação", e foi nomeado comandante dos índios que viesse a reduzir.

E assim, sucederam-se mensagens oficiais e atitudes de cunho racista, inflamadas, muitas vezes, pelo ódio racial imposto aos indígenas. Como relata Helm (1974): "percebe-se uma constelação de estereótipos, especialmente criados para justificar a espoliação a que foram submetidas as populações tribais, localizadas no Sul do Brasil".

Por ocasião dos trabalhos na Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, os índios Kaingãng de São Paulo tentaram impedir a continuação da estrada. Logo surgiram inúmeros pedidos, por parte dos proprietários de terras, construtores da ferrovia e políticos, para que o governo federal, através da Fundação do Serviço de Proteção aos Índios, fundada em 7 de setembro de 1910, enviasse alguém para pacificar aquele grupo Kaingãng. E foi dessa forma que Horta Barbosa ficou encarregado de fazer a pacificação. Ribeiro (1956), referindo-se à aproximação com os brancos, chama a atenção para a depopulação havida, consequência, em grande parte, das epidemias ocorridas entre os Kaingãng de São Paulo.

Atualmente a grande parte dos grupos indígenas brasileiros se encontra no estado integrado, e conseqüentemente em processo de aculturação. Ribeiro (1957) situa a condição de grupos tribais integrados, dizendo que "participam intensamente da economia e das principais formas de comportamento institucionalizado da sociedade brasileira e sofrem profunda descaracterização em suas línguas e culturas". Explicando a classificação de determinados grupos indígenas na categoria de integrados, justifica que foram relacionados "os grupos que, tendo experimentado todas as compulsões referidas e conseguindo sobreviver, chegaram ao século XX ilhados em meio à

população nacional, a cuja vida econômica se haviam incorporado como reserva de mão-de-obra ou como produtores especializados de certos artigos para comércio. Estavam confinados em parcelas do antigo território ou despojados de suas terras, perambulavam de um lugar para outro, sempre escorraçados". Desde o início, a relação que se estabeleceu entre os indígenas e os europeus era do tipo colonialista, distinguindo-se no Paraná às frentes de expansão do tipo pastoril, agrícola e extrativa. Moreira Neto (1971) faz referência à frente de expansão agrícola que chegou até São Jerônimo, trazendo a plantação do café e expulsando os índios. Esta frente de expansão, segundo ele, devastou a mata tropical que ia desde as barrancas do Paranapanema, em Ourinhos, através dos vales do Tibagi e do Ivaí, até as margens do Paraná, pouco acima de Guaíra. Nesse momento, os Kaingãng começaram a sentir dificuldades para obter sua alimentação. Com a devastação de "suas" matas, a caça se escasseou e a coleta de vegetais, que lhes servia de alimento, também foi prejudicada. Então, iniciou-se a fase de plantio e cultivo, principalmente de milho e mandioca. Porém, surgiram problemas, como por exemplo onde arranjar sementes e ferramentas que lhes permitissem fazer suas plantações, que na falta de frutos e raízes e da caça e pesca iam substituir seus alimentos primitivos. Aí é que se viram praticamente obrigados a se refugiarem nos Postos Indígenas do S.P.I., ficando a mercê de legislações, invasões, matanças, explorações trabalhistas e comerciais, e outras formas de humilhações e injustiças.

Finalizando, achamos lastimável que uma cultura primitiva, tão rica em usos e costumes, e iniciadora do processo populacional brasileiro, esteja desaparecendo em nome da exploração, má administração, arrendamentos, falta de assistência e integração da comunidade indígena à "realidade nacional". Gostaríamos de poder ver os primeiros e legítimos donos das "nossas" terras vivendo em condições humanas, amparados por uma estrutura de apoio que preservasse sua cultura original.

Temos certeza, no entanto, que a história nos julgará e nos condenará, por termos simplesmente aceitado, fechado

os olhos ou participado desse extermínio infundado de homens e culturas.

3. ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM INDIVÍDUOS NORMAIS

3.1. Aneuploidias

Arnold (1879) analisando células tumorais, foi o primeiro a relatar sobre os cromossomos humanos, sem contudo poder contá-los ou identificá-los morfológicamente. Hansemann (1891) foi o primeiro a descrever o número de cromossomos da espécie humana. Em três células de tecido normal por ele analisadas, identificou: 18, 24 e mais de 40 cromossomos, respectivamente. Flemming (1898) concluiu que o número de cromossomos de nossa espécie deveria estar entre 22 e 28, provavelmente 24. De 1898 à 1911 vários trabalhos foram publicados relatando os mais diversos números cromossômicos nas células humanas (Von Bardeleden, 1898; Wilcox, 1900; Duesberg, 1906; Moore e Arnald, 1906; Guyer, 1909; e Branca, 1910).

Uma grande contribuição para a citogenética veio com o trabalho de Winiwarter (1912) que selecionou material de biópsias testiculares obtidas durante a cirurgia, e em seguida fixou e cortou esse material em camadas muito finas, nas quais identificou todo o conjunto cromossômico de uma célula. Dessa maneira, contou 47 cromossomos nas espermatogônias em metáfase, e 23 pares de cromossomos pareados, com um não pareado, nos espermatócitos primários. Baseado nestas observações ele concluiu que existia uma diferença no número de cromossomos de homens e mulheres, sendo para as mulheres 48 e para os homens 47, ficando assim o sexo determinado pelo número de cromossomos X presentes. As mulheres teriam então 23 pares de autossomos e dois cromossomos X, e os homens 23 pares de autossomos e um cromossomo X. Wieman (1917) usando tecido fetal, mostrou a presença de um cromossomo Y nos homens. Painter (1921) confirmou a presença do Y como um elemento não pareado na meiose de indivíduos do sexo masculino. Relatou

ainda que em metáfases espermatogoniais as contagens, aparentemente, variavam de 45 a 48 cromossomos, apesar de que em placas equatoriais mais claras tinha encontrado somente 46 cromossomos, sugerindo que o número de cromossomos do homem era 46 ou 48. Em 1923, este mesmo pesquisador concluiu que o número diplóide normal, para as células somáticas do homem, era de 48 cromossomos, para ambos os sexos. Depois disso, muitos trabalhos vieram confirmar o número de 48 cromossomos para a espécie humana (Evans e Swezy, 1929; Kemp, 1930; Andres e Vögel, 1936; King e Beams, 1936; Andres e Navashin, 1936; Andres e Jiv, 1936; Koller, 1937; La Cour, 1944; Mittwoch, 1952; Hsu, 1952; Sachs, 1954; e Darlington e Haque, 1955).

Outro passo importante foi dado por Hsu (1952), que observou que o choque hipotônico antes da fixação do material permitia uma dispersão dos cromossomos e facilitava enormemente sua individualização. Esse trabalho foi o precursor do trabalho de Tjio e Levan (1956), que determinou finalmente o número de 46 cromossomos para a espécie humana. Estes pesquisadores utilizaram para isso, as inovações técnicas introduzidas por Hsu (1952). O mesmo número cromossômico já havia sido encontrado por Hansen-Melander, Melander e Kulander, em preparações metafásicas de culturas de fígado de embrião humano, os quais não publicaram o trabalho por não terem achado o número de 48 cromossomos, considerado até então como correto (Mota 1964). Ford e Hamerton (1956) confirmaram as observações feitas por Tjio e Levan (1956), estudando tecido testicular de três indivíduos, onde encontraram, em espermátocitos primários 23 bivalentes, e em algumas espermatogônias 46 cromossomos. No Primeiro Congresso de Genética Humana, realizado em Copenhague em 1956, Tjio e Levan, Ford e Hamerton apresentaram seus trabalhos demonstrando que o número de cromossomos somáticos do homem era de 46.

Kodani (1957a, b, 1958a, b) e Chang (1959), estudando indivíduos japoneses e chineses, respectivamente, relataram ainda a ocorrência de 48 cromossomos. No entanto, o número de 46 cromossomos já era aceito por muitos pesquisadores, tendo sido amplamente confirmado por uma série de trabalhos (Chu e Giles, 1959; Tjio e Puck, 1960; Hamerton, 1961 e outros).

Principalmente os trabalhos de Hsu (1952) e de Tjio e Levan (1956) possibilitaram que Lejeune (1959) inaugurasse o estudo das cromossomopatias humanas, relatando a presença adicional de um cromossomo 21 nas células dos indivíduos afetados pelo síndrome de Down. Em apenas quatro anos, aberrações cromossômicas foram descritas como principal fator etiológico de uma série de síndromes (Jacobs e Strong, 1959; Jacobs, Baikie, Court Brown, MacGregor, MacLean e Harnden, 1959; Ford, Jones, Polani, Almeida e Briggs, 1959; Patau, Smith, Therman, Inhorn e Wagner, 1960; Edwards, Harnden, Cameron, Crosse e Wolff, 1960; Lejeune, Lafourcade, Berger, Vialatte, Boeswillwald, Seringe e Turpin, 1963).

Ao mesmo tempo veio um novo "momento" dentro da citogenética das populações humanas, iniciado pelo estudo das relações entre idade, sexo, raça e aneuploidias em várias amostras populacionais.

A grande maioria desses estudos analisava a variável aneuploidia em função da idade do indivíduo. Dentro desses, alguns se relacionam com o sexo, e muito poucos com a raça.

Makino e Sasaki (1961) estudaram os cromossomos somáticos em 41 abortos de ambos os sexos, de indivíduos japoneses. Analisaram células de diversos órgãos, entre eles: coração, pulmão, fígado, baço, pele, cérebro, músculo, rim, osso, olhos e intestino. Fizeram a contagem em 433 células, das quais 428 apresentaram 46 cromossomos, uma apresentou 47 e quatro apresentaram 92, mostrando assim 1,15% de células poliplóides e 0,23% de células aneuplóides. Estas observações permitiram a generalização de que, independentemente da idade, sexo, órgão, do meio de cultura e sua duração, o número cromossômico somático do homem era 46. No adendo desse trabalho os autores introduzem informações sobre estudos feitos em 1.422 células, de 54 diferentes abortos, nas quais foram encontradas 1.395 células com 46 cromossomos (98,1%) e somente 27 (1,9%) com número diferente de 46 cromossomos (92 cromossomos em 20 células, 69 cromossomos em 3 células, 47 em 2 células e 45 em 2 células), tendo, portanto, 0,21% de células aneuplóides.

Jacobs e Court Brown (1961) estudaram 97 indivíduos, dos quais 50 eram homens e 47 mulheres, variando dentro da

faixa etária de 5 meses a 82 anos. Os 97 indivíduos com a idade média de 34,42 anos foram divididos em 8 faixas etárias. O total de células analisadas foi de 3.528, e os resultados indicaram existir um significativo aumento das células aneuplóides com o aumento da idade, sendo mais frequente as células hipodiplóides. Considerando a amostra como um todo, sem dividi-la em faixas etárias, a porcentagem de células hipodiplóides foi de 5,13%, e das hiperdiplóides de 1,36%. Dando continuidade a esse estudo, Jacobs, Brunton, Court Brown, Doll e Goldstein (1963), aumentaram o número de células analisadas para 8.380, de 247 indivíduos com cariótipo normal. Esta amostra foi agora dividida por sexo cromossômico e faixa etária, sendo a idade média dos indivíduos de sexo masculino, 36,15 anos, e a dos indivíduos de sexo feminino 39,66 anos. A análise foi feita em 4.471 células de 123 indivíduos masculinos e em 3.909 células de 124 indivíduos femininos. Foi encontrada uma frequência de 5,22% de células hipodiplóides nos indivíduos masculinos, e de 5,55% nos indivíduos femininos. A frequência de células hiperdiplóides foi, respectivamente, 1,26% e 1,28%. Os resultados indicaram que a proporção de células aneuplóides aumentou com a idade em ambos os sexos, sendo nas mulheres baixa até a idade de 45 anos, alta entre as idades de 45 e 64 anos, e baixa novamente acima de 65 anos. Nos homens esse aumento foi contínuo com o aumento da idade. Analisando os tipos de cromossomos envolvidos na formação dessas células aneuplóides, esses autores verificaram que as hipodiplóides apresentavam um aumento significativo de perdas de cromossomos do grupo G nos homens, e do grupo C nas mulheres. Nesse trabalho, os autores salientam que poderia haver críticas quanto ao tipo de amostra estudada por eles, porque ela não era representativa da população em geral, já que foram incluídos indivíduos voluntários, pacientes de hospitais, pais de crianças com anormalidades cromossômicas, etc.

Jarvik (1963) propõe o problema da existência de uma situação, até certo ponto contraditória, relacionada com o envelhecimento celular. Por exemplo, existem células de "vida longa", como os neurônios, e células de "vida curta", como os linfócitos, sendo as primeiras bastante diferenciadas, com

poucas divisões mitóticas, e por isso ditas mais velhas. Por outro lado, nas segundas ocorre o contrário, uma vez que a idade das células é medida pela última divisão mitótica de sua precursora. Dessa maneira, os linfócitos teriam maior probabilidade de acúmulo e propagação de erros mitóticos do que os neurônios. Mas, levando-se em consideração o número de gerações que separam cada uma das células de seus zigotos originais, diríamos então que os neurônios é que seriam as células jovens e os linfócitos velhas. Conseqüência desse aspecto mitótico da idade é a relação aparentemente paradoxal entre idade e câncer, porque a maior freqüência de câncer ocorre em indivíduos mais velhos; porém, é raro ele ocorrer nas células nervosas, ditas mais velhas. Diante disso, a autora sugere o estudo de aneuploidias e idade, nesse tipo de células, pois aí teríamos uma melhor avaliação do processo de envelhecimento.

Jacobs, Brunton e Court Brown (1964) obtiveram uma nova amostra. Analisaram 189 indivíduos tomados ao acaso, sendo 87 homens e 102 mulheres, todos com idade acima de 65 anos. Observaram que os resultados concordavam com os obtidos nos trabalhos anteriores, mostrando que a proporção de células aneuplóides aumentava com a idade do indivíduo e também que havia uma maior perda de cromossomos do grupo G, nas células hipodiplóides dos homens, e do grupo C, nas células hipodiplóides das mulheres. Encontraram 109 células com 45 cromossomos, nos homens, das quais em 58 faltava um cromossomo acrocêntrico do grupo G. Admitindo-se que cada cromossomo tenha a mesma probabilidade de se perder esperava-se em somente 11,85, das células a falta de um cromossomo do grupo G. Das 58 células sem um cromossomo do grupo G, em 26 podia ser reconhecido que o cromossomo em falta era o Y. Enquanto que o número esperado, também admitindo a mesma condição acima, era 1,26. Nas 32 células restantes, puderam inferir, com certeza, que somente 9 células perderam um acrocêntrico autossômico pequeno, enquanto que nas 23 restantes o cromossomo do grupo G perdido não podia ser identificado. Nas mulheres foram encontradas 216 células com 45 cromossomos, das quais 208 tinham um cromossomo do grupo C faltando, sendo o esperado, para es-

se caso, 90,78 células.

Hungerford, Giles e Creech (1965) estudaram os cromossomos de 9 nativos da Nova Guiné Oriental (6 homens e 3 mulheres) e não encontraram desvio significativo do número diplóide de 46 cromossomos. Porém, nesse trabalho não se referem à ocorrência de células aneuplóides, nem à sua frequência nos indivíduos estudados.

Hamerton, Taylor, Angell e McGuire (1965) investigaram cromossomicamente a população da Ilha de Tristão da Cunha, que podia, na época, ser considerada um isolado constituído de indivíduos oriundos de uma mistura racial: Norte européia, Americana, Italiana e de cor. O objetivo era detectar anormalidades cromossômicas, relacionando-as à idade e ao sexo dos indivíduos. Analisaram 4.910 células de 200 indivíduos (92 homens e 108 mulheres), com a idade de 1 a 81 anos (idade média: mulheres=34,12 anos e homens=35,47 anos). Nas mulheres, a frequência de células aneuplóides foi de 8,3% (7,1% de células hipodiplóides e 1,2% de células hiperdiploides), num total de 2.796 células. Nos homens, esta frequência foi de 6,2% (5,3% de células hipodiplóides e 0,9% de células hiperdiploides), num total de 2.114 células. Os resultados obtidos foram semelhantes aos encontrados por Jacobs e cols. (1961, 1963, e 1964). Nas mulheres, não se observou um aumento tão pronunciado das células aneuplóides com a idade, o que foi observado nos homens. Quanto à perda de cromossomos do grupo G, nos homens, e do grupo C, nas mulheres, também não se verificou um aumento, comparado aos trabalhos de Jacobs e cols. Court Brown, Buckton, Jacobs, Tough, Kuenssberg e Knox (1966), em um trabalho em que juntaram os seus dados aos de Jacobs e cols. (1961, 1963 e 1964), confirmaram os achados obtidos por esses autores.

Chandra e Hungerford (1966), como parte de um programa contínuo de pesquisa sobre os polimorfismos cromossômicos em populações humanas, investigaram 11 TODAS* do sul da Índia, constituídas de 3 homens e 8 mulheres. Observaram em todos os indivíduos estudados o número diplóide de 46 cromossomos. Con-

*TODAS=povo quase selvagem da Índia que vive muito isolado.

tudo, nesse trabalho analisaram poucas células e não se preocuparam em averiguar a frequência de células aneuplóides.

Galán (1966) analisou 564 células de 10 indivíduos (5 homens e 5 mulheres), com idades entre 63 e 91 anos. Não foi constatado um aumento da frequência de aneuploidias com a idade do indivíduo, nem a perda maior dos cromossomos X, nas mulheres, e do Y, nos homens. Jacobs e Court Brown (1966) contestam estes resultados, argumentando que o número de células analisadas pela autora foi muito pequeno em relação às contagens realizadas até o momento por eles e por outros pesquisadores. Criticam também o fato da autora não ter citado porque excluiu um número tão grande de células da análise, ficando assim, conseqüentemente, impossível comparar os dados dela com os dos outros.

Sandberg, Cohen, Rimm e Levin (1967) estudaram a ocorrência de aneuploidias em 171 indivíduos (99 mulheres e 72 homens) divididos em faixas etárias e encontraram uma alta incidência de células hipodiplóides nas mulheres com idade superior a 65 anos. Esta alta incidência não foi encontrada nos homens, nem nas mulheres com idades entre 0 e 65 anos.

Mouriquand, Gilly, Patet e Jalbert (1967) observaram as células de 47 indivíduos normais (25 homens e 22 mulheres) da população francesa, com idades variando entre 19 e 65 anos (média=32,2 anos), e encontraram 9% de aneuploidias, em 611 células analisadas.

Mieler, em 1967, analisando leucócitos do sangue periférico, encontrou 24,3% de células aneuplóides, em 436 células de crianças normais (segundo Mattevi, 1974).

Bloom, Archer e Awa (1967) analisaram os cromossomos em mais de 18.000 células de 329 pessoas (135 homens e 194 mulheres) com idades de 20 a 88 anos. Essas pessoas pertenciam à população japonesa das cidades de Hiroshima e Nagasaki. Para esse estudo, foram selecionados indivíduos adultos e saudáveis de um grupo de 20.000 pessoas, que foram examinadas clinicamente durante 2 anos. Todas essas pessoas haviam estado naquelas cidades por ocasião dos bombardeios atômicos, tendo recebido 200 ou mais rads de uma mistura de radiação gama e de neutrons. Os controles foram pareados por idade,

sexo e cidade, estimando-se que tivessem recebido menos do que 1 rad, pois estavam distantes mais de 3.000 metros do hipocentro da bomba atômica. Como não existiu nenhuma diferença na distribuição do número cromossômico, entre as células dos indivíduos expostos à radiação e do controle, os dados desses dois grupos foram juntados. Os resultados mostraram que para 74 homens e 114 mulheres entre 20 e 49 anos, a frequência de células não modais variou de 2,2 a 5,6%, enquanto que para os que se achavam entre 50 e 88 anos (61 homens e 80 mulheres) esta frequência variou de 3,1 a 5,9%. Esses resultados indicam que a variação no número de cromossomos ocorre em uma estreita faixa etária dentro do período adulto e é devida, principalmente, ao aparecimento de células com 45 cromossomos. Pelas análises feitas, os desvios existentes do número diplóide normal não podem ser explicados, nem completamente por perdas ao acaso, nem completamente por perdas proporcionais ao tamanho cromossômico. Existiu pouca diferença entre os sexos e aneuploidias nos indivíduos velhos. Segundo esses autores, Court Brown, Buckton, Jacobs, Tough, Kuenssberg e Knox (1966) encontraram 7% de aneuploidias em homens mais velhos e 13% em mulheres mais velhas, enquanto que eles acharam, para todas as idades e ambos os sexos, que a frequência de células aneuplóides estava entre 2 e 6%. Em relação às perdas cromossômicas, foi encontrado um excesso de perdas de cromossomos do grupo G, nos homens.

Depois das novas discrepâncias observadas entre os resultados dessas pesquisas, Court Brown (1967) fez uma outra análise dos dados obtidos por Court Brown e cols. (1966), e mostrou que nessa amostra existia realmente não só a perda dos cromossomos sexuais, com a idade do indivíduo, mas também, uma maior frequência de células hipodiplóides em mulheres velhas. Goodman, Fechheimer, Miller e Zartman (1969) trabalharam com 70 mulheres da raça branca, distribuídas em três grupos etários, confirmando estes últimos achados de Court Brown (1967), com excessão, é óbvio, da maior perda de cromossomo Y com a idade.

Hungerford, Makino, Sasaki, Awa e Balaban (1969) obtiveram uma amostra de 22 indivíduos de uma população isolada

japonesa, a população Ainu de Hokkaido. Todos os indivíduos possuíam o número modal diplóide de 46 cromossomos.

Mattevi (1974) dividiu os 22 indivíduos que constituíram a amostra de Hungerford e cols. (1969) em dois grupos etários: de 11 a 56 anos (13 indivíduos) e de 62 a 72 anos (9 indivíduos). No primeiro grupo etário, a frequência de células aneuplóides foi de 5%, enquanto que no segundo foi de 11%. Houve, portanto, um acréscimo de 6% na frequência de células aneuplóides no grupo mais velho.

Resultados contraditórios foram encontrados por Neurath, DeRemer, Bell, Jarvik e Kato (1970) e Cadotte e Fraser (1970). Os primeiros encontraram uma correlação entre hipodiploidia e tamanho cromossômico em todas as idades, mostrando que quanto menor o cromossomo maior probabilidade ele tem de se perder. Os segundos verificaram que nas células hipodiplóides a perda dos diversos cromossomos ocorria ao acaso, independentemente do tamanho ou do grupo a que pertenciam, em todas as idades. Estes últimos acharam ainda uma maior frequência de aneuploidias em culturas de linfócitos, em homens e mulheres com mais de 60 anos, o que não foi possível demonstrar para as células de medula óssea.

Kadotani, Ohama, Nakayama, Takahara e Makino (1971), estudando os leucócitos do sangue periférico de indivíduos pertencentes à população japonesa normal, não encontraram em 49 casais analisados aberrações cromossômicas numéricas em nenhuma das faixas etárias. Seus dados mostram ainda uma frequência de aneuploidias de aproximadamente 6%.

Cavalli, Marçallo e Freire-Maia (1972) analisaram citogeneticamente uma amostra dos habitantes da Ilha dos Lençóis, no litoral do Estado do Maranhão. Nesta ilha, com 309 habitantes, que se caracterizava por apresentar uma alta frequência de albinos (3%) com um aparente envelhecimento precoce, foi feito um amplo estudo populacional por Freire-Maia, Laynes de Andrade, Athayde-Neto, Cavalli, Oliveira, Marçallo e Coelho (1978). Foram analisadas 230 células de 12 pessoas (7 albinos e 5 normais), com idades entre 5 e 22 anos, para os albinos ($\bar{X}=14,8\pm 0,5$) e 8 a 40 anos para os normais ($\bar{X}=19,3\pm 1,3$). Os resultados mostraram uma frequência de células

aneuplóides nos normais de 19% (N=95) e nos albinos de 12% (N=135), sendo que a frequência de células hipodiplóides era maior que a das hiperdiplóides, em ambas as amostras. Nenhuma dessas diferenças se mostraram estatisticamente significativas.

Mattevi (1974) faz uma ampla revisão sobre os efeitos da senescência no cariótipo humano. Da análise dos seus dados, em conjunto com os dados da literatura, conclui que ocorre um aumento das células aneuplóides, especialmente das hipodiplóides, com a idade do indivíduo, sendo observado, nas mulheres, um efeito mais marcante. Em relação às perdas cromossômicas, observou um excesso de perdas de cromossomos do grupo C, nas mulheres, e do grupo G, nos homens, concordando com a hipótese de que essas perdas seriam devido ao acaso. Concorda também com a hipótese de que essas perdas ocorrem inversamente proporcional ao tamanho cromossômico. Excetuam-se dessa última hipótese os cromossomos do grupo C, nas mulheres, para o que sugere a autora que a perda de um dos cromossomos X de natureza heterocromática não afetaria tanto a viabilidade celular. Também foi observada por ela uma diminuição de células aneuplóides com o tempo de cultura.

Jarvik, Yen, Fu e Matsuyama (1976) fizeram um estudo extensivo, realizado durante seis anos, correlacionando a idade dos indivíduos com a frequência de aneuploidias. Este estudo confirmou o aumento de aneuploidias com a idade, em mulheres, mas não em homens. As mulheres mostraram um significativo aumento na frequência de células hipodiplóides e hiperdiplóides, e entre as primeiras houve um aumento daquelas com monossomia de cromossomos do grupo C.

Num estudo em que relacionaram a frequência de células aneuplóides com a idade e sexo de 32 mulheres e 35 homens normais, Fitzgerald e McEwan (1977) encontraram 8% de linfócitos com aneuploidias, nas mulheres, e 4% nos homens. Segundo esses autores, ainda uma parte significativa destas aneuploidias foram caracterizadas pelo envolvimento dos cromossomos sexuais. Nos homens as células hiperdiplóides apresentavam excesso de cromossomos X ou Y e nas hipodiplóides faltava somente o Y. A incidência dessas aneuploidias foi positi-

vamente correlacionada com a idade dos indivíduos, em ambos os sexos. Quanto ao mecanismo responsável pelo aparecimento dessas aneuploidias, parece ser a não-disjunção, devido à prematura divisão do centrômero do cromossomo X, tanto nas mulheres como nos homens. Esta prematura divisão do centrômero sugere uma disfunção deste com o aumento da idade do indivíduo. Também no cromossomo Y, dos homens, pode agir esse mecanismo de não-disjunção, apesar de não estar claramente demonstrado devido à baixa incidência de aneuploidias do Y.

Podemos sintetizar os trabalhos acima descritos da seguinte forma:

- 1º) As mais baixas frequências de células aneuplóides, na espécie humana, foram encontradas em abortos. Makino e Sasaki (1961), analisando indivíduos japoneses, encontraram em vários tecidos estudados, independentemente do tecido e sexo, as frequências de 0,23% e 0,28%.
- 2º) Analisando a frequência de células aneuplóides em indivíduos normais, sem levar em conta idade, sexo, raça e tecido estudado, pode-se admitir como espectro representativo dessa frequência a faixa cujos valores extremos vão de 2 a 25% (baseado em Mattevi, 1974).
- 3º) Em relação à frequência de células aneuplóides com a idade do indivíduo, pode-se dizer que foi encontrado um aumento mais acentuado dessa frequência nas mulheres idosas.
- 4º) Em geral, esse aumento da frequência de células aneuplóides com a idade ocorre às expensas das células hipodiplóides, ficando para as hiperdiplóides uma contribuição bem menos acentuada.
- 5º) Quanto aos tipos de cromossomos perdidos com o aumento da idade do indivíduo, notou-se um excesso de perdas de cromossomos do grupo C (provavelmente do X) nas mulheres, e, com bem menos intensidade, de cromossomos do grupo G (possivelmente o Y) nos homens.
- 6º) Nada podemos concluir, devido à falta de trabalhos comparativos sobre a frequência de aneuploidias e raça.

3.2. Aberrações estruturais dos cromossomos

Um dos primeiros a estudar as aberrações cromossômicas espontâneas em cultura de fibroblastos humanos foi Puck(1958), que encontrou aproximadamente 20% de células com aberrações estruturais, sendo que a maioria delas apresentava deleções cromatídicas. Bender (1959) achou uma freqüência muito baixa de aberrações cromatídicas espontâneas, entre 0 a 1,2% de células com quebras, enquanto que Hsu e Manna (1959) acharam 40% de células com essas aberrações. Chu e Giles (1960) encontraram 10% de células com aberrações cromatídicas em fibroblastos.

Em vista dessas grandes discrepâncias encontradas entre os achados nas freqüências de aberrações estruturais, em indivíduos normais, houve uma orientação natural nos trabalhos, no sentido de relacionar estas aberrações com uma série de variáveis. Entre elas: tempo de cultura, tempo entre a coleta e incubação das células, adição de penicilina na cultura, concentração de fitohemaglutinina, uso de soro fetal, culturas de diferentes tecidos, culturas realizadas em diferentes épocas do ano, idade, sexo e raça dos indivíduos.

Sax e Passano (1961) mostraram um aumento na freqüência de aberrações cromossômicas espontâneas com o aumento do tempo da cultura de fibroblastos. Analisaram as aberrações na anáfase e telófase, e observaram uma freqüência inicial de 3,6% com um posterior acréscimo até 9,6%, quando a cultura atingia um tempo acima de três meses. Benn (1976) encontrou resultados contraditórios em relação aos de Sax e Passano (1961). Mostrou que em linhagens celulares de fibroblastos senescentes, retirados de embriões humanos, a freqüência de falhas e quebras permaneceu relativamente baixa, e que o envolvimento dos cromossomos era casual. Court Brown, Buckton, Jacobs, Tough, Kuenssberg e Knox (1966), Honda, Kamada e Bloom (1969), Hook, Healy, Powers e Hatcher (1972) e Mattevi (1974) compararam as freqüências de aberrações estruturais espontâneas, ao tempo de duração da cultura, e não encontraram relação entre as mesmas. Meist (1971) analisou os linfócitos do sangue periférico de 18 indivíduos normais e não en-

controu qualquer influência, do tempo entre a coleta do material e a sua incubação.

A adição de penicilina na cultura, a concentração de fitohemaglutinina e o uso de soro fetal de vitelo não influenciaram nas frequências de falhas e quebras espontâneas (Meist, 1971).

Bochkov, Kozlov, Sevankaev e Antochsina (1966) e Higurashi e Conen (1971) analisaram a variação nas frequências de aberrações estruturais espontâneas em diferentes tecidos. Estes últimos compararam o comportamento cromossômico em cultura de linfócitos e fibroblastos de indivíduos normais e de indivíduos com anormalidades cromossômicas. As análises metafásicas foram feitas em 600 linfócitos do sangue periférico e 600 fibroblastos da pele, de 30 indivíduos cariotipicamente normais, e em 820 linfócitos e 820 fibroblastos da pele, de 41 indivíduos com várias anormalidades cromossômicas. Os resultados indicaram que a incidência de quebras nos controles foi de 2,5% em linfócitos, e 4,2% em fibroblastos. Nos indivíduos com anormalidades cromossômicas estas frequências foram 5,5% e 15,2%, respectivamente. A diferença entre a frequência de quebras, entre os normais e os cariotipicamente anormais foi altamente significativa, em fibroblastos, mas não nos linfócitos. O excesso de quebras encontrado em fibroblastos, comparado com as dos linfócitos, em ambos os grupos, pode ser explicado, segundo os autores, pelo maior tempo de cultura dos fibroblastos, resultando num aumento do risco de danos, em relação aos linfócitos.

Um estudo feito por O'Riordan, Berry e Tough (1970), em medula óssea de 32 homens com idades entre 19 e 78 anos, mostrou que as frequências de falhas cromatídicas e isocromatídicas (3,19%) não foi diferente daquela encontrada por Court Brown e cols. (1966), em cultura de linfócitos (aproximadamente 3%). Somente em dois casos (10% e 24%) estas frequências subiram além de 3%.

Littlefield e Goh (1973) encontraram diferenças nas frequências médias de quebras em culturas feitas em diferentes épocas do ano. Observaram uma frequência aumentada de quebras entre os meses de abril a julho ($7,32 \pm 0,980$), tendo di-

minuído de agosto a novembro ($4,21 \pm 0,34$) e de dezembro a março ($4,85 \pm 0,39$), para os homens. Nas mulheres também verificaram os mesmos resultados. Uma frequência média de quebras de $9,43 \pm 0,84$ de abril a julho, e de $4,53 \pm 0,11$ de agosto a novembro e $5,46 \pm 0,55$ de dezembro a março. Aymé, Mattei, Mattei, Aurran e Giraud (1976) também encontraram um acréscimo de quebras durante certas épocas do ano. No entanto, seus dados não concordam com os do trabalho de Littlefield e Goh (1973), no que diz respeito aos meses em que ocorreram essas quebras. Acharam que a frequência de quebras mostrou-se maior que as frequências esperadas, durante os meses de março e abril, e menor em junho, julho e dezembro.

Outro ponto estudado foi a relação entre as frequências de aberrações estruturais dos cromossomos com a idade e sexo dos indivíduos. Tonomura (1962) encontrou 6% de quebras em cultura de células de fetos de três meses de idade. Jacobs, Brunton e Court Brown (1964), numa pesquisa em que estudaram indivíduos com idade superior a 65 anos, mostraram existir, nos homens, uma frequência de 2,3% de falhas cromatídicas, 0,3% de quebras cromatídicas e 0,8% de falhas isocromatídicas, em 2.600 células analisadas. Nas mulheres, em 3.046 células analisadas, essas frequências foram, respectivamente: 1,9%, 0,3% e 0,6%. Court Brown, Buckton, Jacobs, Tough, Kuenssberg e Knox (1966) observaram em indivíduos normais uma frequência em torno de 3% de aberrações cromatídicas e 3,5% de aberrações cromossômicas, entre os homens, e 2,5% e 4%, respectivamente, entre as mulheres. Lubs e Samuelson (1967) determinaram a ocorrência de falhas e quebras em 3.720 células de 10 indivíduos adultos normais. Encontraram 4,5% de falhas cromatídicas, 6% de quebras cromatídicas e 1% de quebras cromossômicas. Constataram também que as quebras cromatídicas não se distribuíam ao acaso, ocorrendo mais frequentemente quebras subterminais no braço longo do cromossomo 16, em ambos os sexos, e no braço curto do cromossomo 3, nas mulheres. Sandberg, Cohen, Rimm e Levin (1967) estudaram 171 indivíduos (99 mulheres e 72 homens) de uma população americana, verificando 1,78% de quebras nas células das mulheres, e 1,65% nas dos homens, em 10.393 células analisadas. Na população francesa,

Mouriquand, Gilly, Patet e Jalbert (1967) encontraram 8% de falhas cromatídicas, 6% de quebras cromatídicas e 0,5% de quebras cromossômicas, quando analisaram 1.000 cariótipos de indivíduos normais. Na amostra de 59 indivíduos, estudada por Bochkov, Kozlov, Pilosov e Sevanskaev (1968), não foi encontrada diferença significativa entre as seis diferentes faixas etárias comparadas, com exceção de quando compararam a faixa etária de 90-95 anos com a de 10-11 anos e a de 50-70 anos. Resultados até certo ponto inesperados foram achados por Goodman, Fechheimer, Miller e Zartman (1969), que analisaram células de 70 mulheres da raça branca, divididas em três grupos etários (2-8 dias; 19-21 anos e 67-93 anos), verificando um aumento dessas aberrações no grupo de 19-21 anos. Kadotani, Ohama, Nakayama, Takahara e Makino (1971), estudando 49 casais da população japonesa normal de Hiroshima, encontraram nos homens de uma faixa etária de 30-39 anos uma frequência de 1,1% de células com aberrações cromatídicas e 0,6% de células com aberrações cromossômicas. Para a faixa etária de 60 e mais anos, foram encontrados, respectivamente, 0,6% e 0,13%. Com relação às mulheres, nestas mesmas faixas etárias, estas frequências foram de 1,1% e 0% de aberrações cromatídicas, 1,1% e 8,3% de aberrações cromossômicas, respectivamente. Littlefield e Goh (1973) realizaram uma pesquisa em uma população controle, constituída de 31 indivíduos normais (10 homens e 21 mulheres), com as idades entre 20 e 40 anos. Foram feitas 305 culturas e analisadas 29.709 metáfases, obtidas em um período acima de três anos. Os resultados indicaram: a) variações nas frequências de quebras em culturas consecutivas da mesma pessoa, b) variações na média de quebras entre culturas de diferentes pessoas, e c) uma maior variabilidade nas quebras em culturas de mulheres do que nas dos homens.

Mattevi (1974) observou uma maior frequência de aberrações cromatídicas e cromossômicas com o aumento da idade do indivíduo. Na análise, onde compara os seus dados com os obtidos por vários outros autores, conclui que, apesar das discrepâncias encontradas por alguns, no geral ocorre um aumento de frequência de aberrações cromatídicas e cromossômicas com o aumento da idade. Mostrou ainda que não há diferença entre

os sexos, em relação às prevalências das aberrações estruturais. Posteriormente, Aymé e cols. (1976) confirmaram esses achados, mostrando que as frequências de aberrações estruturais aumentavam significativamente depois de 40 anos de idade. Analisaram 7.653 metáfases, obtidas de cultura de leucócitos de 524 indivíduos normais (278 homens e 246 mulheres), e encontraram 5% na frequência média de quebras (2,4% de quebras cromatídicas e 11,4% de quebras cromossômicas), para ambos os sexos.

Obe (1971) mostrou que as lesões acromáticas espontâneas e as quebras cromatídicas não ocorrem ao acaso em cultura de leucócitos, e que existe muito mais aberrações destes tipos no cromossomo 3. Essa distribuição não casual dessas aberrações é muito similar às distribuições desses mesmos tipos de aberrações induzidas quimicamente. O mesmo autor encontrou 7,49% para as lesões acromáticas espontâneas, 4,96% para as quebras cromatídicas e 0,61% de quebras isocromatídicas.

A distribuição não casual na localização das quebras foi também observada por Aymé e cols. (1976), mostrando que a frequência delas, para cada cromossomo, foi diferente de acordo com os tipos de quebras. Segundo esses autores, ficaria assim reforçado o argumento em favor da heterogeneidade estrutural dos cromossomos, mostrando que esta diferença significativa na localização dos diversos tipos de quebras parece ser causada por fenômenos biológicos distintos. Foi achado por eles um excesso de quebras nos cromossomos número 3, 7, 9, 14 e X, e uma falta nos de números 5, 6, 8, 12 e 20, e nenhuma quebra no cromossomo Y. Quanto à localização dessas quebras nas respectivas regiões cromossômicas, houve um acréscimo em relação ao esperado nas regiões: 3p1, 7p1, 7q3, 9p1, 9q1, 14q1, 14q3, 16q2 e Xq2, e falta nas regiões: 3q1, 8q1 e 12q1. Algumas bandas R (3p14, 7q35, 9q11, 14q13 e 16q23) apresentaram uma frequência muito alta de quebras, comparativamente às esperadas, de acordo com o tamanho relativo delas. O excesso de quebras no cromossomo 3 foi inteiramente devido a quebras cromatídicas. Também nos cromossomos 7, 11, 16 e X houve uma frequência maior do que a esperada, para quebras

cromatídicas, e no 12 menor. As quebras cromatídicas foram duas vezes mais frequentes nas bandas claras do que nas escuras. Aula e Koskull (1976), analisando a distribuição das quebras cromossômicas espontâneas, usando o método do bandeamento, localizaram em cromossomos de 264 culturas do sangue periférico, exatamente a banda ou região destas quebras. Encontraram um total de 369 quebras que não se distribuíram de uma forma casual. O cromossomo 3, isolado, tinha 23% de quebras, e a região 3p2 tinha 13% do total de quebras. Algumas outras regiões cromossômicas, tais como 5p1, 9q1, 14q2 e 16q2, também mostraram uma maior quantidade de quebras. Os cromossomos sexuais apresentaram um número menor de quebras do que o esperado, e de uma maneira geral as quebras eram do tipo cromatídica e cromossômica, e estavam quase que exclusivamente restritas às bandas G fracamente coradas.

São poucos os trabalhos que tem como objetivo específico o estudo citogenético de diferentes grupos raciais, tanto isolada como comparativamente.

Um estudo que relaciona diferentes raças é o de Bloom e cols. (1970), que trabalharam com os Índios Yanomama da Venezuela, assemelhando-se em alguns aspectos ao nosso estudo, feito nos Índios Kaingãng do Paraná. Assim, propositadamente deixamos esse trabalho para o final dessa revisão, porque pretendemos analisá-lo mais pormenorizadamente.

O trabalho de Bloom e cols. (1970) foi realizado comparando-se as frequências de vários tipos de aberrações cromossômicas estruturais, em 49 Índios Yanomama (32 homens e 17 mulheres) e dois tipos de controles; um constituído de indivíduos da própria expedição, dos quais foi retirado o sangue no mesmo local e sob as mesmas condições que o dos Índios, e outro formado por indivíduos japoneses, sobreviventes dos bombardeios atômicos de Hiroshima e Nagasaki.

Os resultados obtidos mostram que, para o total de todos os tipos de aberrações estruturais, os Índios Yanomama apresentaram um acréscimo em relação ao controle japonês. Particularizando para as frequências de quebras, encontraram: 0,65% de quebras cromatídicas simples e 0,14% de quebras isocromatídicas, em ambos os controles, e 2,30% e 0,68%, respec-

tivamente, nos indígenas. As frequências destas quebras distribuídas por sexo, indicaram que, das 3.175 células analisadas, nos homens, 2,52% delas apresentavam quebras cromatídicas simples e 0,63% apresentavam quebras isocromatídicas, enquanto que, das 1.700 células analisadas, nas mulheres, 1,88% apresentaram quebras cromatídicas simples e 0,76% quebras isocromatídicas. No segundo grupo controle chamado pelos autores de "do mato", e constituído de indivíduos que compunham a expedição, foram encontrados 2% de aberrações estruturais em geral. Porém, quando a coleta do material dos mesmos indivíduos que constituíram o controle "do mato" foi feita na cidade, a frequência de aberrações estruturais diminuiu para 1,75%. As frequências das aberrações estruturais encontradas nas duas situações, no grupo controle "do mato", ficaram intermediárias em relação às encontradas nos índios e japoneses sobreviventes de Hiroshima e Nagasaki.

Para testar os possíveis efeitos da droga anti-malárica, Camoprina, sobre os cromossomos humanos, e também para avaliar o efeito do atraso no tempo de início das culturas, o sangue de cada um dos indivíduos da expedição foi novamente colhido em Ann Arbor, após seis meses da suspensão da droga. Foram feitas culturas imediatamente depois da retirada do sangue e outras após o sangue ficar estocado por 48 horas à temperatura de 8°C, como foi procedido na Venezuela. Administraram novamente Camoprina nos indivíduos controle no intervalo de duas em duas semanas. Depois de 24 horas da última ingestão eram feitas culturas, e outras após o tempo de 48 horas à 8°C, para observar o efeito da Camoprina associada ao atraso no tempo de início da cultura. Os resultados estatísticos indicaram que não havia efeito da Camoprina na produção de aberrações cromossômicas estruturais, porém que era estatisticamente significativa ($P < 0,01$) a diferença nessas frequências entre as culturas realizadas com atraso de 48 horas e aquelas sem aquele atraso.

Neste mesmo trabalho, Bloom e cols. analisaram as variáveis sexo e idade em função da frequência de células com aberrações estruturais dos cromossomos. A amostra foi dividida em 7 faixas etárias, separadas por sexo, e os resultados

mostraram que os efeitos da idade e sexo, aparentemente, não contribuíram para o aparecimento das frequências destas aberrações.

Dos trabalhos acima descritos, podemos ressaltar o seguinte:

- 1º) Independente do tecido estudado, idade, sexo, raça e condições técnicas, as frequências de quebras cromatídicas variaram de 0 a 40%. As quebras cromossômicas foram bem menos frequentes, ficando entre 0,6 a 2,3%.
- 2º) Também independente dos fatores citados acima, podemos aceitar a faixa de 1 a 17% como indicativa das frequências de variação das falhas cromatídicas e cromossômicas em conjunto. Dos dados obtidos na literatura, podemos estabelecer para as falhas cromatídicas, a faixa de 2,8 a 17%, e para as falhas cromossômicas a frequência aproximada de 1%.
- 3º) Estas aberrações não ocorrem de uma forma casual, estando na dependência do cromossomo e mesmo de regiões cromossômicas. Assim, demonstra-se a heterogeneidade estrutural dos cromossomos, devido à diferença significativa na localização dos diferentes tipos de falhas e quebras. Acredita-se que estas diferenças sejam causadas por fenômenos biológicos distintos. Alguns autores constataram um excesso de quebras no cromossomo 3 (23%) havendo um excesso também nos cromossomos 7, 9, 14 e X, e uma falta nos cromossomos 5, 6, 8, 12 e 20, e uma ausência no cromossomo Y.
- 4º) Com o uso das técnicas de bandeamento, pode-se mostrar, através das bandas G, que houve um acréscimo de quebras nas regiões: 3p1, 3p2, 7p1, 7q3, 9p1, 9q1, 14q1, 14q3, 16q2 e Xq2, e uma falta nas regiões: 3q1, 8q1 e 12q1. Já as bandas R: 3p14, 7q35, 9q11, 14q13 e 16q23, apresentaram uma frequência muito alta de quebras, comparativamente às esperadas de acordo com o tamanho relativo das bandas. De uma maneira geral, as quebras espontâneas estavam quase que exclusivamente restritas às bandas G fracamente coradas. As quebras cromatídicas foram duas vezes mais frequentes nas bandas R claras do que nas escuras.

- 5º) Não foi encontrada influência na frequência de falhas e quebras espontâneas, dos seguintes fatores: tempo entre a coleta e a incubação do material, adição de penicilina e concentração de fitohemaglutinina na cultura, uso de soro fetal de vitelo e tempo de cultura.
- 6º) Foram constatadas diferenças significativas nas frequências de quebras: entre indivíduos, em culturas consecutivas do mesmo indivíduo e em culturas realizadas em diferentes épocas do ano.
- 7º) Não foram encontradas diferenças entre os sexos nas frequências de falhas e quebras.
- 8º) As frequências de aberrações cromatídicas e cromossômicas aumentaram com a idade do indivíduo.
- 9º) Do trabalho de Bloom e cols. (1970), constatou-se um acréscimo de aberrações estruturais nos índios. Foram encontrados para quebras cromatídicas simples 2,3% e 0,65%, e para isocromatídicas 0,68% e 0,14%, respectivamente, nos índios e nos controles. As frequências dessas aberrações nos controles brancos se mostraram numa posição intermediária à dos índios e japoneses. Além disso, não foi verificado nenhum efeito, na frequência de aberrações cromossômicas estruturais, das variáveis idade e sexo. Porém, foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa entre culturas realizadas logo após a retirada do sangue e aquelas incubadas 48 horas após a coleta do material.

3.3. Associação de acrocêntricos, satélites e regiões organizadoras do nucléolo

A associação dos cromossomos acrocêntricos foi um dos fenômenos que, desde o início, mais chamou a atenção dos citogeneticistas. Atualmente, já se conhece o geral do processo associação de acrocêntricos-formação nucleolar.

A história dessas investigações começou em 1912, quando Navashin, trabalhando com vegetais e animais, observou protuberâncias esféricas terminais em certos cromossomos, unidas

por finos filamentos ao restante do braço. A estas protuberâncias deu o nome de "sputnik", que significa satélite, e ao filamento que unia o satélite ao cromossomo, de "pedúnculo". Estas regiões dos pedúnculos foram posteriormente incluídas na denominação de constrições secundárias, devido ao fato delas nada mais serem, morfologicamente, do que constrições secundárias situadas em pontos quase terminais, dando assim, aspecto característico à porção terminal do cromossomo. Mais tarde, Heitz, em 1931, segundo Zang e Back (1968), supôs que os sítios heterocromáticos das constrições secundárias participavam na formação do nucléolo e chamou a estes sítios de zonas S.A.T. (Sine ácido timonucléico), devido a sua deficiência em ADN, o que não lhes dava a propriedade de corar-se com Feulgen. Os trabalhos de Heitz, em 1933, Dearing, em 1934, e Gates e Pathak, em 1938, segundo Ohno, Trujillo, Kaplan e Kinoshita (1961), confirmaram essa suposição.

Schultz e St. Lawrence (1949) pretenderam estabelecer uma base citológica para o mapeamento do cromossomo nucleolar no homem. Esses pesquisadores, estudando pela primeira vez os cromossomos de células meióticas humanas, no paquíteno, mostraram existir regiões cromossômicas específicas onde ficava associado o nucléolo. A este cromossomo deram o nome de "cromossomo nucleolar". Porém, nem sempre o nucléolo aparecia associado a um só local cromossômico. Na metade das vezes estava situado em posição terminal ou subterminal de um bivalente, e em outra metade, em posição mediana. Existiam duas possíveis hipóteses para explicar essas discrepâncias:

- 1º) o cromossomo nucleolar seria único e frequentemente quebrado durante o esmagamento do material.
- 2º) Havia dois cromossomos envolvidos, separados pelo nucléolo, o qual frequentemente estava fusionado.

A primeira hipótese pareceu-lhes mais provável, mas precisavam de provas para poder aceitá-la. Assim foi que encontraram uma prófase espermatogonial tardia, onde o nucléolo persistiu, e pelo número de braços cromossômicos visíveis ao redor dele, acharam tratar-se de apenas um "cromossomo nucleolar". Ainda uma confirmação maior poderia ser obtida através da observação dos centrômeros, mas nessas preparações não foi pos-

sível detectá-los. Entretanto, a evidência decisiva viria da comparação entre o tamanho dos nucléolos nos dois casos. Se existisse somente um "cromossomo nucleolar", quebrado nas diferentes preparações, o tamanho do nucléolo deveria ser constante. Porém, se existisse dois organizadores nucleolares, cada um produzindo nucléolo, deveria existir diferença no tamanho, quando esses nucléolos estivessem separados ou fusionados. Desde que não existiu diferença significativa no tamanho dos nucléolos nas diferentes células, Schultz e St. Lawrence concluíram nesse trabalho, que deveria existir um só "cromossomo nucleolar", onde o nucléolo estaria medianamente disposto.

Segundo Neel e Schull (1954), Kodani (não publicado) montou o mapa citológico de um segundo cromossomo meiótico, mostrando que neste também havia uma região em que o nucléolo estava em contato com o cromossomo em posição mediana. Yerganian (1957), trabalhando na construção de mapas citológicos de alguns cromossomos paquitênicos humanos, chegou às mesmas conclusões de Schultz e St. Lawrence (1949) e Kodani.

Outro ponto de dúvida era quanto ao número de cromossomos humanos mitóticos satelitados. Foi primeiramente proposta no trabalho de Tjio e Puck (1958) a existência de dois cromossomos portadores de satélites em seus braços curtos. Um no grupo G, designado por eles de 21, e outro no grupo D. Chu e Giles (1959) confirmaram os achados de Tjio e Puck, quanto ao número de satélites, e adiantaram que estes dois cromossomos possuidores de satélites deveriam ser os cromossomos organizadores do nucléolo, já que existiam dois pares de nucléolos, havendo assim uma correspondência entre o número de nucléolos e o número de cromossomos satelitados. Levan e Hsu (1959) concordaram em parte com os dois trabalhos acima citados, observando também dois cromossomos satelitados, mas o par satelitado do grupo D era o menor deles, e não o maior como tinham achado Tjio e Puck, e nem o médio como acharam Chu e Giles. Quanto ao grupo G, o possuidor de satélites seria, segundo esses autores, o menor do grupo, identificado como número 21. Tjio, Puck e Robinson (1960) encontraram seis cromossomos satelitados para o cariótipo humano, em vez de

quatro como era anteriormente aceito. Petersen e Therkelsen (1961) encontraram numa célula sete cromossomos com satélites claramente visíveis. Nos quatro cromossomos do grupo G, e em três, possivelmente em quatro, do grupo D. Miller e Mukherjee (1962), num estudo sobre as variações normais do cariótipo humano, analisaram os cromossomos acrocêntricos, quanto aos seus satélites, e chegaram às seguintes conclusões:

- a) O número e tamanho dos satélites nos cromossomos acrocêntricos são relativamente constantes de uma célula a outra, em cada indivíduo, variando muito de indivíduo para indivíduo.
- b) O número de cromossomos satelitados no grupo 13-15 está positivamente correlacionado com o número de cromossomos satelitados do grupo 21-22.
- c) A incidência de satélites aumentados em uma série selecionada de indivíduos foi de 25%.

Com o propósito de testar a variação individual existente na incidência de satélites, Engmann (1967) estudou essa distribuição em gêmeos monozigóticos e dizigóticos. Observou frequências semelhantes de satélites nos gêmeos monozigóticos e diferentes nos dizigóticos, substanciando assim a hipótese da variabilidade individual para a frequência de satélites.

No ano de 1961 surgiram vários trabalhos que vieram definir e dar nova orientação às investigações do fenômeno associação de acrocêntricos-formação nucleolar e do número de cromossomos satelitados. O primeiro desses trabalhos é o de Ferguson-Smith e Handmaker (1961), que apresentaram dois achados e uma proposição:

- 1º) Que os cinco pares de cromossomos acrocêntricos potencialmente possuem satélites.
- 2º) A descoberta do fenômeno da associação de satélites, que foi um achado novo.
- 3º) A proposição de que a associação de satélites seja uma das causas de certas anormalidades cromossômicas na espécie humana. Esta proposição lançou uma questão interpretativa ao achado novo.

A associação dos satélites consiste no aparecimento de cromossomos co-orientados através de seus satélites. Este

fenômeno foi em seguida amplamente confirmado por vários outros pesquisadores (Harden, 1961; Edwards, 1961; Ohno, Trujillo, Kaplan e Kinoshita, 1961; Petersen e Therkelsen, 1961; Shaw, 1961; Brink, Los e Nienhaus, 1962; Merrington e Penrose, 1964; Cohen e Shaw, 1967; Galperin, 1968; Zang e Back, 1968; Rosenkranz e Holzer, 1972; Cooke, 1972; e outros). Ferguson-Smith e Handmaker (1961) ainda comentam que "A associação de cromossomos satelitados, como ela é frequentemente vista, sugere que os satélites possuem uma propriedade especial de adesão, a qual está, provavelmente, relacionada com a formação do material nucleolar na região do satélite, e que a associação de satélites e fusão nucleolar são, provavelmente, manifestações do mesmo fenômeno". Além disso, esses autores acreditam que a associação de satélites seria um dos fatores determinantes da não-disjunção cromossômica durante a meiose, e possivelmente durante as divisões iniciais do zigoto. A probabilidade de ocorrência de translocações recíprocas seria maior entre os cromossomos satelitados do que entre os não satelitados, se ocorrerem quebras cromossômicas juntamente à associação de satélites, já que parece que os cromossomos envolvidos em associações de satélites são mais vulneráveis às quebras.

Dessa forma, através da observação de figuras paquí-tênicas, e de acordo com as evidências mostradas, Ferguson-Smith e Handmaker (1961) dão uma nova interpretação ao "cromossomo nucleolar". Acharam eles que muito provavelmente onde Schultz e St. Lawrence (1949) concluíram existir um só bivalente, que muitas vezes parecia quebrado junto ao nucléolo, apareciam realmente dois cromossomos acrocêntricos associados, e que onde foi postulado a existência de uma parte quebrada de cromossomo, havia na realidade somente um acrocêntrico associado ao nucléolo.

Shaw (1961) faz uma nova descoberta dentro do fenômeno de associação cromossômica. Mostra que os cromossomos acrocêntricos não têm só a propriedade de associarem-se entre si, mas também associam-se com outros cromossomos em regiões específicas, como a região centromérica do cromossomo número 1. Os seus resultados indicaram que em aproximadamente 24% das células o cromossomo número 1 estava associado com o 13,

14, 15, 21 ou 22, comparado com outras células que tinham 6% de associações em relação ao 16, 17, 18, 19 ou 20, as quais foram consideradas como controle. Assim, Shaw (1961) sugere que a explicação de Schultz e St. Lawrence (1949) para o "cromossomo nucleolar" poderia ser melhor reavaliada à luz de novas pesquisas que conduzam a mais claras evidências citológicas do "cromossomo nucleolar", observado no paquíteno. Shaw (1961) sugere ainda que poderia ser o cromossomo número 1 associado ao nucléolo, nas observações desses dois pesquisadores. Também Ferguson-Smith e Handmaker (1963) observaram associações entre os acrocêntricos e o cromossomo número 1. Porém, os cromossomos que apresentaram maior frequência de associações entre regiões não satelitadas e os braços curtos dos acrocêntricos foram os de número 2, 6, 18, 19, 21 e/ou 22, ficando o 1, 3 e 17, com frequências menores.

Outra contribuição importante foi dada por Ohno, Trujillo, Kaplan e Kinosita (1961), no trabalho em que tentam correlacionar os organizadores nucleolares à causa de anormalidades cromossômicas no homem. Os autores salientam que, apesar de todos os dez autossomos acrocêntricos apresentarem regiões organizadoras do nucléolo (RON), em seus braços curtos, no máximo seis cromossomos foram vistos associados para a formação do nucléolo. Verificaram também um máximo de seis nucléolos. Admitiram ser possível que um membro de cada par permaneça fisiologicamente inativo, não participando da organização nucleolar. Os cromossomos organizadores nucleolares tenderiam a cooperar na formação de um nucléolo comum, em vez de formarem nucléolos independentes.

Em relação ao número máximo de acrocêntricos numa associação, outros autores mostraram existir associações em que estavam envolvidos mais do que seis acrocêntricos. Cohen e Shaw (1967), por exemplo, encontraram nove acrocêntricos associados em indivíduos normais. Também foram encontrados mais do que seis nucléolos por célula, até 10 (Fraccaro e Lindstein, 1959; Petersen e Therkelsen, 1962; Hennen e Nichols, 1966; e Gonzales e Nardone, 1968), segundo Mutchinick (1976). Esse achado determina a ocorrência de 10 RON e 10 cromossomos organizadores nucleolares. Quanto à sugestão das fusões nu-

cleolares, é reforçada com a proposição de Prokofieva-Bielgovskaia (1966), segundo a qual existiriam atrações mútuas entre as regiões heterocromáticas dos acrocêntricos, que seriam as responsáveis pelas associações. Essas atrações poderiam ser, em última análise, a causa das fusões nucleolares.

3.3.1. Distribuição e posição dos cromossomos acrocêntricos

Muitos dos estudos feitos sobre as associações dos cromossomos acrocêntricos tiveram por objetivo obter informações sobre a casualidade da distribuição e posição dos cromossomos acrocêntricos na placa metafásica.

Merrington e Penrose (1964) mostraram existir uma forte evidência de que os acrocêntricos tendem a se localizar mais próximos uns dos outros do que seria esperado ao acaso, mas não acharam diferença estatisticamente significativa para as distâncias entre o cromossomo número 1 e o 21 ou 22. Quanto às posições relativas dos cromossomos na metáfase, Barton, David e Merrington (1965) calcularam todas as distâncias dos centrômeros dos cromossomos ao "centróide" da célula, através de um artifício matemático onde utilizaram uma transformação circularizante. Mostraram que os cromossomos números 13, 14, 15, 20, 21 e 22 tendem a se situar próximos do meio do núcleo, e o 6 e os sexuais mais na periferia do núcleo. Ainda em relação à posição, Lubinin, Goldman, Zolotarev e Iofa (1966) propuseram-se determinar a localização dos dez acrocêntricos em linfócitos humanos. Para isso usaram metáfases de forma arredondada que foram desenhadas ou fotografadas onde identificaram os cromossomos dos grupos D e G. Foram determinados geometricamente o centro metafásico e o ângulo do menor setor onde existiam de 5 a 10 acrocêntricos e o ângulo do maior setor onde não apareciam acrocêntricos. Os autores utilizaram também um criterioso modelo matemático, através do qual puderam verificar a regularidade de posição dos acrocêntricos, bem como sua distribuição constante em relação aos outros cromossomos. Concluíram que a distribuição dos acrocêntricos em linfócitos humanos não ocorre casualmente, tendendo a se distribuir em grupos, através das associa-

ções. Utilizando também medidas de distância, através do método matemático da transformação circularizante, Galperin (1968) determinou as "distâncias quadradas" entre os centrômeros dos cromossomos. Os resultados indicaram que os acrocêntricos se posicionam mais próximos uns dos outros do que todos os outros cromossomos da metáfase, confirmando assim, mais uma vez, a não-casualidade da distribuição metafásica dos acrocêntricos. Nesse trabalho surge também um achado muito interessante, relativo à diferença observada entre homens e mulheres quanto à proximidade dos acrocêntricos. Nas mulheres, os cromossomos acrocêntricos se acham significativamente mais próximos do que nos homens. Este achado, segundo a autora, levaria a uma maior frequência de não disjunções na ovogênese, aparecendo assim uma quantidade aumentada de indivíduos afetados com o síndrome de Down, devido imperfeições na gametogênese materna. Kirsch-Volders, Hens, Susanne e Galperin-Lemaitre (1977) confirmaram, em parte, o achado do trabalho de Barton, David e Merrington (1965). Analisaram a estabilidade da distância entre os centrômeros e o centro das metáfases, comparando essas distâncias à distribuição ao acaso de todos os cromossomos. Encontraram uma localização central, significativa, para os pares: 13, 15, 21 e 22, em metáfases masculinas, sugerindo assim uma distribuição não-casual.

Outro aspecto que tem sido analisado nas associações dos acrocêntricos refere-se aos tipos dos padrões de associações. Cohen e Shaw (1967) mostraram que em associações múltiplas, de tamanhos específicos, os tipos de associações pareciam ser casuais, mas que nas associações simples existia uma tendência maior para os cromossomos do grupo G se associarem do que os do grupo D, indicando uma não-casualidade. Zang e Back (1967), sugeriram que, como a distribuição dos satélites, também o padrão de associações dos cromossomos acrocêntricos tem um fator individual. No ano seguinte, Zang e Back (1968) encontraram um aumento na frequência de associações G/G em relação às D/G e D/D e uma alta estabilidade individual no padrão de associação. Através de estudos autorradiográficos, Nakagome (1969) mostrou que o envolvimento dos pares cromos-

sômicos do grupo D em associações era casual. Shaw, Craig e Ricciuti (1969) encontraram o mesmo tipo de distribuição (casual) em associações do tipo D/D e D/G. Cuevas-Sosa (1970) também quantificou os tipos de associações de acrocêntricos e obteve resultados que confirmaram a casualidade dessas associações dentro do grupo D, do grupo G, e entre ambos. Analisando uma amostra constituída de 22 pessoas normais, Cooke (1971) mostrou que a participação dos cromossomos 13, 14 e 15 em associações de acrocêntricos se dava de maneira não-casual. A autora atribuiu os resultados contrários aos seus ao pequeno número de indivíduos (um indivíduo) usado no trabalho de Shaw, Craig e Ricciuti (1969) e à heterogeneidade da amostra de Nakagome (1969), constituída de indivíduos com as síndromes de Down, Klinefelter, Turner, Edwards, Patau, trissomia do G- não-mongolóide, Down por translocação D/G e indivíduos normais, totalizando 21 pessoas com as idades variando desde recém-nascidos a 70 anos. A mesma crítica pode ser feita ao trabalho de Cuevas-Sosa (1970), que estuda apenas dois indivíduos (um homem e uma mulher). Usando a técnica de fluorescência, Patil e Lubs (1971) confirmaram a não-casualidade na distribuição dos tipos de associações de acrocêntricos. Também estudando os padrões de associações dos acrocêntricos pelo método de fluorescência, Alfi e Donnell (1972) analisaram 1.500 metáfases de indivíduos com várias anormalidades cromossômicas e indivíduos controles normais. Mostraram que nos indivíduos controle o par 14 é, significativamente, mais envolvido em associações do que o 13 e o 15. Este achado pode estar correlacionado com a alta frequência de cromossomos 14 envolvidos em translocações DqGq. Cooke (1972) mostrou que as frequências observadas de certas combinações de acrocêntricos numa associação diferem significativamente da frequência esperada ao acaso. Em relação à participação dos cromossomos do grupo G em associações, Nakagome (1973) encontrou o par 21 mais frequentemente associado do que o 22, utilizando a técnica de bandas G. Jacobs, Mayer e Morton (1976) deram evidências de que cada par de cromossomos acrocêntricos tem sua própria probabilidade característica de entrar numa associação. Os seus dados indicam que os cromossomos acrocêntricos

que entram em associações distribuem-se de maneira casual. Denton, Howell e Barrett (1976) empregaram a técnica da coloração pela prata, evidenciando assim as uniões entre os acrocêntricos participantes de uma associação. Analisaram 1.000 associações de 118 indivíduos normais, e os resultados demonstraram que as frequências dos padrões de associações de acrocêntricos, múltiplas ou simples, ocorreram dentro dos valores esperados pelo acaso.

Pelo que vimos até agora, podemos dizer que a distribuição dos cromossomos acrocêntricos na placa metafásica se dá de maneira não-casual. Esta não casualidade é devida aos fatores fisiológicos que determinam as chamadas associações de acrocêntricos. Porém, quanto aos padrões das associações dos acrocêntricos, ou seja, dos tipos de acrocêntricos envolvidos nas associações, os achados da literatura são muito contraditórios, não havendo um consenso geral a respeito da sua casualidade ou não-casualidade.

3.3.2. Localização, estrutura e fisiologia das RON

Kalmins, Stick e Bencosme (1964), segundo Cordeiro da Silva (1977), mostraram que as regiões das RON são formadas por fibras de cromatina de 100 Å de espessura, as quais estão contidas numa matriz protéica e polimerases de ARN, parecendo desespiralizadas. Mostraram também que em linfócitos é perceptível a alça de ADN que se projeta para o interior do nucléolo, como as alças dos cromossomos plumosos, e que com o decorrer da síntese os precursores de ARNr se situam junto a alça de cromatina, originando o nucleolonema. As provas de que aquelas regiões das RON estavam relacionadas diretamente com a produção de nucléolos foram dadas por vários autores, entre os quais Gimenez Martin (1972, 1974 e 1975), em diversos organismos e de várias formas. Ritossa e Spiegelman (1965), em Drosophila melanogaster, mostraram que a estrutura das RON compreendia muitas cópias (aproximadamente 130), de cada cistron de ADNr, os quais eram repetitivos dentro da fita dupla de ADN. Rafferty e Sherwin (1969), estudando um mutante da rã Xenopus laevis que tinha uma deleção da RON em um dos homólogos, determinaram que realmente aquela região era a única res-

ponsável pela formação do nucléolo, pois a quantidade de ADNr no heterozigoto estava reduzida à metade, o número de nucléolos foi reduzido a um e os indivíduos homozigotos para aquela mutação não formavam nucléolos, morrendo no início da vida embrionária sem a formação de ARNr. É interessante salientar que esses autores não observaram efeito do tamanho da RON na produção de ARNr e no tamanho do nucléolo, mas que o heterozigoto elaborava um só nucléolo de tamanho maior, e que a quantidade de ARNr era semelhante à do homozigoto normal. Demonstraram com isso que o indivíduo heterozigoto para esta mutação teria sua única RON produzindo, através dos cistrons de ADNr, o dobro de ARNr e outros materiais para a síntese protéica.

Estudos realizados por Spadari, Di Lernia, Simoni, Pedrali-Noy e De Carli (1973), com clones derivados de uma linhagem celular humana heteroplóide, que possuía números diferentes de cromossomos acrocêntricos, mostraram diferentes conteúdos de ADNr. Esses autores encontraram uma relação linear entre o conteúdo de ADNr e a massa relativa de cromossomos acrocêntricos (D + G), expressa pela proporção entre a massa de ADN desses cromossomos e a massa de ADN do complemento cromossômico total. Esses resultados sugerem que no homem os genes que codificam ARNr estão localizados exclusivamente nos cromossomos dos grupos D e G, e que todos estes cromossomos contêm aqueles genes. Essa exclusividade dos genes codificadores de ARNr nos cromossomos D e G está em oposição às sugestões de Hsu, Brinkley e Arrighi (1967), que acham que além das verdadeiras RON, situadas nos acrocêntricos, existiriam cistrons para ADNr localizados em outros cromossomos, o que explicaria o aparecimento de associações entre acrocêntricos e não acrocêntricos. Em seguida foi demonstrado, através da técnica da hibridação "in situ", que as RON estavam situadas nas constrictões secundárias dos 10 cromossomos acrocêntricos do homem (Henderson, Warburton e Atwood, 1973; Evans, Buckland e Pardue, 1974).

Por outro lado, uma outra série de autores indicaram a região dos satélites como a localização das RON (Funaki, Matsui e Sasaki, 1975; Howell, Denton e Diamond, 1975 e Den-

ton, Howell e Barret, 1976). Logo a seguir, Tantravani, Miller, Dev e Miller (1976), Goodpasture, Bloom, Hsu e Arrighi (1976) confirmaram novamente a localização das RON nas regiões das constrições secundárias dos acrocêntricos, empregando o mesmo método do uso da prata utilizado por estes últimos pesquisadores.

Whitehouse (1973) mostrou que as RON são formadas por seqüências repetidas de ADNr que codifica as cadeias de ARNr, 18S e 28S, possuindo ADNr de 45S não transcritores, entre uma seqüência e outra.

Warburton, Atwood e Henderson (1976) correlacionaram a variação no número de genes para ARNr, no homem, com a frequência de associação de satélites. Através da técnica de contagem de grãos, depois da hibridação ARNr-I, os cromossomos mostraram um polimorfismo numérico nos sítios de ADNr. Foi encontrada uma correlação positiva entre a frequência de participação de um determinado cromossomo em associações, e seu conteúdo de ADNr.

3.3.3. Algumas possíveis causas de variação na formação das associações de acrocêntricos

A associação dos cromossomos acrocêntricos, sendo um fenômeno basicamente fisiológico, pode sofrer a influência de vários fatores capazes de alterá-lo, como modificações morfológicas nas RON e nos satélites, idade, sexo e raça dos indivíduos sob análise e mesmo de fatores técnicos, onde se incluem: o meio de cultura, tipo de cultura (microcultura ou macrocultura), preparação citológica, tempo de incubação, tecido utilizado, etc.

1º) Condições técnicas de cultura e de obtenção de metáfases a) Meio e tipo de cultura

Zang e Back (1967 e 1968) e Back e Zang (1969) analisaram as associações dos cromossomos acrocêntricos em macroculturas realizadas com meio T.C. 199 da Difco, e em microculturas feitas com meio McCoy 5a da Gibco. Observaram 30% a mais de associações nas macroculturas. Hansson (1970) obteve resultados totalmente opostos. Analisou a diferença entre ma-

cro e microculturas, todas crescidas em meio T.C. 199, constatando um aumento nas freqüências de associações nas microculturas. Atribuiu estas contradições às diferenças nas preparações técnicas e obviamente aos diferentes meios de culturas usados por Zang e Back.

b) Preparação citológica

Foi observado um aumento na freqüência de associações de acrocêntricos, quando nas preparações citológicas as células eram ressuspensas em ácido acético a 70% (Back e Zang, 1969).

Nankin (1971), fazendo a hipotonia das células com citrato de sódio, constatou que à medida em que a concentração dessa substância era diminuída, diminuía também o número de cromossomos participantes das associações. Zhdanova (1972) verificou que a solução hipotônica e também a fixação das células alteram principalmente as associações múltiplas maiores, e secundariamente as múltiplas menores e as simples, confirmando, em parte, os achados de Nankin (1971).

c) Tempo de incubação

Back e Zang (1969), estudando a freqüência das associações de acrocêntricos em culturas de 70 e 72 horas não obtiveram resultados significativamente diferentes entre elas. Posteriormente, Nankin (1970), analisando linfócitos do sangue periférico de mulheres, mostrou que a freqüência de células com associações era maior em culturas de 48 horas (89,9%) do que nas de 96 horas (66,1%). Além disso, constatou que nas culturas incubadas por 48 horas, 33,7% dos acrocêntricos participavam de associações, enquanto que, em culturas de 72 e 96 horas esta freqüência decrescia para 30,7% e 17,7%, respectivamente. Este autor achou ainda que entre a prófase e prometáfase a freqüência de células com nucléolos era de 26,8%, em culturas de 48 horas, e 13,1%, em culturas de 96 horas, e que as associações de acrocêntricos e a persistência de nucléolos na mitose eram mais freqüentes em culturas realizadas a 48 horas, diminuindo com o aumento do tempo de incubação "in vitro". Baseado nestes achados, Nankin (1970) su-

gere a existência de uma possível relação entre a persistência nucleolar e associação de acrocêntricos. Zhdanova (1972) concorda com Nankin (1970), no que diz respeito à diminuição da frequência de associações de acrocêntricos com o aumento do tempo de incubação. Porém, salienta que o importante é se o linfócito está se dividindo pela primeira ou segunda vez "in vitro", já que a ação da fitohemaglutinina faz com que o início da síntese de ADN ocorra entre 24 e 60 horas de incubação, tendo assim em 72 horas uma faixa de linfócitos que estão ainda se dividindo pela primeira vez. Zhdanova (1972) encontrou 27% a mais de associações de acrocêntricos em células que se dividiam pela primeira vez, comparadas com as que se dividiam pela segunda vez, ambas em culturas realizadas a 72 horas de incubação. Também Mattevi e Salzano (1975) concordam com os resultados encontrados por Nankin (1970) e Zhdanova (1972).

d) Ação de drogas e outras substâncias

São muitas as substâncias capazes de afetar a síntese de ARNr, a síntese nucleolar, a síntese protéica, a atividade da ARN-polimerase, ou o ciclo nucleolar, estando dessa forma relacionadas com as associações de acrocêntricos. Porém não são muitas as substâncias que diretamente afetam as associações de acrocêntricos. Dentre elas podemos citar a glicose. Hoehn, Nagel e Krone (1971), duplicando a concentração de glicose na cultura, mostraram que há um decréscimo na frequência de associações de acrocêntricos. Estas frequências diminuíram mais ainda, quando antes da fixação a temperatura foi elevada à 41,5°C.

Bishun, Mills, Lloid, Williams e Cristwood (1972), estudando mulheres que usam pílulas anticoncepcionais, mostraram que elas possuíam uma frequência aumentada de associações de acrocêntricos, principalmente as do tipo D/D. Provavelmente, este aumento se deu às expensas do conteúdo hormonal dos anticoncepcionais. Cotton, Kaplan e Zsako (1973) relatam que nas situações em que a frequência de associações se apresenta muito elevada existe uma deficiência das enzimas que atuam na destruição do nucléolo.

Numa pesquisa realizada com células femininas, Samosh (1974), usando a droga policlorocanfeno em culturas de linfócitos, encontrou um aumento na frequência de associações de acrocêntricos. Também neste caso as associações que envolviam os cromossomos do grupo D tiveram um aumento mais acentuado.

2º) Variação entre: tecidos, segundo idade, sexo e raça

Analisando a variação na frequência de associações de acrocêntricos em diferentes tecidos, Shaw (1961) encontrou uma frequência maior de associações em fibroblastos (82%) do que em leucócitos (63%). Porém, em relação às associações entre os acrocêntricos e a região centromérica do cromossomo 1, o resultado foi inverso, encontrando uma frequência maior nos leucócitos (31%) do que nos fibroblastos (18%). Resultados contrários aos de Shaw (1961) foram observados por Frøland e Mikkelsen (1964), que acharam diferenças estatisticamente significativas entre as frequências de associações em leucócitos e fibroblastos. Estes autores mostraram que a frequência de associações nos leucócitos (1,32/célula) é bem superior à dos fibroblastos (0,49/célula). Estes resultados foram posteriormente confirmados por Gindilis e Pavulsonė (1967), segundo Mattevi (1974). Prokofieva-Belgovskaya, Gindilis, Grinberg, Bogomasov, Podugolnikova, Isaeva, Radjabli, Cellarius e Veschneva (1968), num trabalho em que relacionam a associação de cromossomos acrocêntricos ao tipo de célula e a idade dos indivíduos, mostraram mais uma vez existir variações nas frequências de associações de acrocêntricos entre tecidos (leucócitos e fibroblastos). Os resultados obtidos por esses autores indicam 0,35 associações por célula em fibroblastos, e 1,4 associações por célula em leucócitos do sangue periférico. Concluem eles ainda que a capacidade dos acrocêntricos formarem associações em cultura primária de fibroblastos embrionicos é muito menor do que em leucócitos, isto porque não foram observadas associações formadas por mais de três acrocêntricos nos fibroblastos. A explicação por esses últimos autores citados, quanto à variação tecidual da frequência de associações de acrocêntricos, relaciona-se à

especificidade do ciclo de vida e funcionamento dos leucócitos e dos fibroblastos. Dizem eles que os fibroblastos embrionários são células bem diferenciadas em divisão, nas quais as associações de acrocêntricas são formadas a cada nova geração celular ou são conservadas por um longo tempo, sendo transmitidas de uma geração a outra. Já os leucócitos do sangue periférico não estão em constante divisão, conservando não somente sua maior capacidade para formar associações, mas também a alta estabilidade destas associações. Higurashi e Conen (1971), entre outros achados, reafirmaram a maior frequência de associações de acrocêntricas em leucócitos do sangue periférico do que em fibroblastos.

Em relação à idade dos indivíduos estudados, Frøland e Mikkelsen (1964) não encontraram nenhuma influência desta variável sobre a frequência de associações dos cromossomos acrocêntricos. Segundo Mattevi (1974), Bishun (1966) mostrou que o número médio de associações por célula vai subindo com a idade dos indivíduos, até chegar a um máximo de 1,00, na faixa etária de 11 a 20 anos, e depois diminui até 0,80, na faixa etária de 41 a 75 anos. Mattevi (1974) diz que: "Embora a amostra estudada seja pequena, esses resultados poderiam indicar uma tendência a uma redução no número de associações com o envelhecimento". Os resultados de Prokofieva-Belgovskaya (1966) confirmam os de Bishun (1966). Argatsuni (1967), estudando a frequência de associações de acrocêntricas em indivíduos da faixa etária de 80 a 86 anos, encontrou resultados muito parecidos aos de Prokofieva-Belgovskaya (1966), concluindo que a incidência de associações de acrocêntricas baixa com o aumento da idade do indivíduo. Prokofieva-Belgovskaya, Gindilis, Grinberg, Bogomasov, Podugolnikova, Isaeva, Radjabli, Cellarius e Veschnova (1968) analisaram as frequências de associações em 1.481 células de 38 indivíduos, divididos em quatro faixas etárias: recém-nascidos, 1 a 18 anos, 26 a 40 anos e 53 a 92 anos. Os resultados, de certa forma, concordam com os de Bishun (1966) no que diz respeito à distribuição das frequências dessas associações nas diversas faixas etárias. Houve um aumento progressivo de associações, dos recém-nascidos até a faixa etária de 26 a 40 anos,

diminuindo em seguida e atingindo quase as frequências iniciais, na faixa etária de 53 a 92 anos. Além disso foi encontrado um número bem reduzido de associações formadas por mais de três cromossomos, nas faixas etárias de recém-nascidos e de 53 a 92 anos. Bogomazov e Dorchenko (1968) encontraram maior frequência de associações de acrocêntricos na faixa etária de 19 anos, e menores nas faixas etárias de 4 a 9 anos e 22 a 31 anos. Fica assim novamente comprovado o efeito da idade na frequência de associações de acrocêntricos.

Os achados de Goodman, Fechheimer, Miller e Zartman (1969) contrariam os anteriores. Estudando somente células femininas, observaram um aumento maior na frequência de células com associações, na faixa etária de 67 a 93 anos, e uma frequência menor na faixa etária de 19 a 21 anos, que até aquele momento havia se apresentado com a maior frequência. No grupo recém-nascido também houve contradição entre as frequências observadas e as esperadas segundo outros autores. Cooke (1972), utilizando uma amostra de mulheres, indicou um aumento dessas frequências até a faixa etária de 16 a 20 anos e um posterior decréscimo, chegando ao mínimo na faixa etária de 41 a 45 anos.

Mattevi e Salzano (1975) estudaram o efeito da idade, sexo e tempo de cultura nas associações de acrocêntricos, em 120 indivíduos (30 homens de 62 a 92 anos; 30 mulheres de 64 a 96 anos; 30 meninos de 11 a 13 anos e 30 meninas de 10 a 13 anos). Foram analisadas 3.900 células (3.600 em culturas de 3 dias e 300 em culturas de 2 dias). Incluíram também neste estudo a análise do número de satélites. Os resultados, em relação aos efeitos da idade, indicaram uma frequência mais baixa de células com associações de acrocêntricos e de cromossomos do grupo D satelitados, nos indivíduos mais velhos, enquanto que os padrões destas associações não pareceram variar com a idade. Também o número de cromossomos envolvidos nas associações não variou com a idade dos indivíduos. Mutchinick (1976) analisou as associações dos cromossomos do grupo G em indivíduos de alto e baixo risco para não disjunção. A caracterização, por esse autor, de alto e baixo risco

para não disjunção, se deu em função das idades dos indivíduos. Sendo assim, foram separados dois grupos de indivíduos; um, constituído de 10 pessoas de 20 anos; e outro de 10 pessoas de 40 anos, sendo que em cada grupo 5 eram do sexo masculino e 5 do sexo feminino. Analisou um total de 2.000 células (100 de cada indivíduo) e os resultados indicaram que não houve padrões típicos de associações dependentes da idade. Além disso, os homens de 20 anos mostraram padrões de associações menos complexos e comportamento mais homogêneo em relação ao número de associações por metáfase e frequência de metáfases com associações simples, múltiplas ou simples e múltiplas juntas. Liem, Denton e Cheng (1977), usando prata amoniaca, estudaram associações de acrocêntricos em 1.668 linfócitos de 167 indivíduos normais. Esses autores encontraram um pico máximo na frequência de associações de acrocêntricos, acima de 20 anos, nos homens, e de 25 anos nas mulheres. Nos indivíduos mais velhos ocorreu um decréscimo nas frequências de associações, e nenhuma associação de quatro ou mais cromossomos foi vista em recém-nascidos. Além disso, em recém-nascidos e nos indivíduos de idade superior a 50 anos as associações se mostraram com as mais baixas frequências.

As associações de acrocêntricos têm sido também analisadas em função da variável sexo. Frøland e Mikkelsen (1964), Zang e Back (1967 e 1968), Cuevas-Sosa (1970), Mattevi (1974) e Mutchinick (1976) não encontraram diferenças significativas nas associações de cromossomos acrocêntricos entre indivíduos do sexo masculino e feminino.

Galperin (1968) confirmou a distribuição não casual dos cromossomos acrocêntricos e, além disso, mostrou que esta não casualidade tem um efeito maior entre as mulheres do que entre os homens. Nos padrões de associações também foi observado, entre as mulheres, uma frequência maior de associações do tipo D/D (Galperin, 1969). Mattevi (1974) encontrou nos homens uma capacidade maior na formação de satélites e padrões de associações mais complexos nos grupos D e G. Num trabalho posterior, Mattevi e Salzano (1975) confirmaram a existência de uma frequência mais alta de satélites por células, nos homens, e mostraram um efeito significativo do maior número de

células com associações do tipo D/G, nas mulheres. Por último, Liem, Denton e Cheng (1977) mostraram que as frequências de associações de acrocêntricos são mais altas entre as mulheres do que entre os homens, considerando a faixa etária de 3 a 50 anos. Encontraram ainda um maior número de associações múltiplas em mulheres, ficando para os homens o número maior de associações simples.

As associações dos cromossomos acrocêntricos em raças diferentes foram muito pouco estudadas. Cohen e Shaw (1967) estudaram um total de 1.000 células de 10 indivíduos (100 células de cada indivíduo), todos do sexo masculino, e divididos em cinco grupos étnicos (indus, japoneses, negros, brancos judeus e brancos não judeus). Em seguida, relacionamos os parâmetros estudados e as respectivas médias e erro padrão dos resultados encontrados em 1.000 células analisadas:

- a) Número de associações por célula = $1,88 \pm 0,03$
 - b) Número de cromossomos associados por célula = $4,47 \pm 0,06$
 - c) Número de cromossomos por associação = $2,37 \pm 0,03$
 - d) Número de cromossomos D associados por célula = $2,45 \pm 0,06$
 - e) Número de cromossomos G associados por célula = $2,02 \pm 0,10$
- Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada entre os indivíduos dentro de um mesmo grupo étnico ou entre os indivíduos de diferentes grupos étnicos.

4. OBJETIVOS DO TRABALHO

Se aceitarmos como raças apenas as maiores (a indígena, a caucasóide, a negra e a mongol) seriam quatro as raças que estão contribuindo para a formação étnica do Brasil. Ao mesmo tempo que ainda podemos encontrar grupos raciais "isolados", o processo de miscigenação está cada vez mais tornando homogênea a população brasileira através da distribuição gênica.

Dos quatro grupos maiores antes referidos, o indígena, primeiros habitantes do Brasil, talvez desapareça num futuro próximo. Mantidos afastados da civilização branca, em postos

administrados pelo governo ou "isolados" e desamparados, com a mesma urgência determinada pelo processo de extermínio é necessário que objetive-se o estudo genético destes grupos representativos dos nossos indígenas.

O trabalho que realizamos no grupo indígena, faz parte de um amplo projeto de pesquisa, iniciado há quatro anos, que visa o estudo citogenético (com e sem identificação cromossômica) nos quatro grupos raciais maiores acima referidos e em indivíduos miscigenados, com o objetivo principal de contribuir para o delineamento da variabilidade cariotípica normal na espécie humana.

Foram analisadas as seguintes variáveis:

- a) O número de células aneuplóides.
- b) O número de células com aberrações estruturais cromatídicas e cromossômicas.
- c) O número de células com associações de acrocêntricos.
- d) Os padrões de associações de acrocêntricos por grupo cromossômico.
- e) Os padrões de associações de acrocêntricos por par cromossômico.
- f) O número médio de associações por célula.

II. MATERIAL E MÉTODOS

1. Aspectos demográficos e sócio-econômicos da população indígena

Para a coleta do material realizamos três excursões aos Postos Indígenas Ivaí, Apucarana e Rio das Cobras, todos os três administrados pela Fundação Nacional do Índio (FUNAI), (Fig. 1). A primeira excursão foi feita ao Posto Ivaí, localizado a aproximadamente 400 Km de Curitiba, no município de Manoel Ribas, na região centro-oeste do Paraná. Este Posto está situado no segundo planalto a 972m de altitude, possui uma área de 7.200 hectares e uma população de 412 índios, sendo 60% mulheres e 40% homens. O número de nascimentos é de 12 ao ano e a mortalidade infantil da ordem de 33%. O segundo Posto Indígena visitado foi o Posto Indígena Apuracana, localizado a 380 Km de Curitiba, no município de Londrina, Distrito de Tamarana, na região Norte do Paraná. Fica situado no terceiro planalto a uma altitude de 580 m. Possui uma área de 6.300 hectares e temperatura média anual variando de 20°C a 23°C. A população é de 300 indivíduos, distribuídos em 62 famílias. O outro Posto Indígena visitado foi o Posto Indígena Rio das Cobras, situado no município de Laranjeiras do Sul, no terceiro planalto, a uma altitude de 900 m. Fica na região sudoeste do Paraná e ocupa uma área de 7.781,51 hectares.

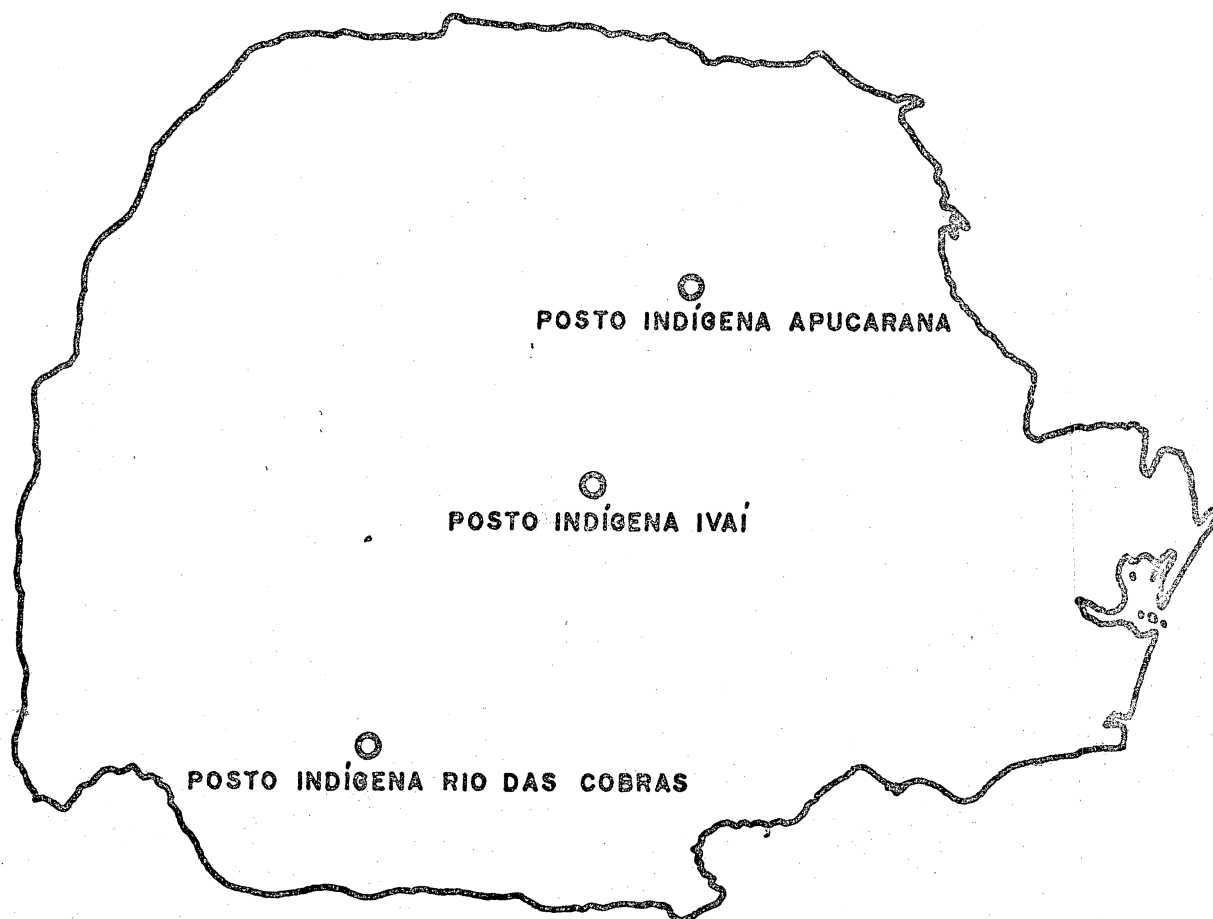


Fig. 1. Localização dos Postos Indígenas incluídos no trabalho.

Distancia-se 18 Km de Laranjeiras do Sul e 435 Km de Curitiba. A população total é de aproximadamente 1.200 indivíduos, incluindo também os índios Guarani que habitam este Posto.

As principais causas de mortalidade infantil nesses Postos são a desidratação e a subnutrição. A alimentação básica desses índios é farinha, feijão e carne (preferencialmente de porco). As principais atividades são a lavoura (feijão, milho e arroz) e o artesanato. A estrutura administrativa do Posto está dividida entre o responsável pela reserva, um enfermeiro, uma professora e um monitor indígena bilíngue. Além disso, existe uma escola dentro da reserva que ensina a língua nacional, preservando o máximo possível a cultura Kaingãng. A população vive distribuída pela reserva, morando uma família em cada casa, a qual possui ao seu redor uma pequena área destinada à plantação doméstica. As casas são feitas de madeira ou palha e de chão batido. A água usada pela grande maioria dos índios é de nascente, vindo em seguida a água de córrego e rio. Como líder da tribo existe ainda o chefe, que determina as atitudes que devem ser tomadas por toda a comunidade, e também ajuda o responsável pelo Posto, fazendo com que os índios acatem suas deliberações. A religião foi introduzida entre os índios por missionários, em geral, católicos ou protestantes. Já as feitiçarias, rezas e outras crenças ficam por conta do feiticeiro, que é o encarregado da parte espiritual da tribo. O sistema de casamento envolve um interessante mecanismo de preservação da não-consangüinidade próxima. Segundo o depoimento de alguns índios, existiriam famílias com "marcas", por exemplo, os riscados e os redondos, não podendo haver casamento de indivíduos da mesma marca.

Um ponto comum à grande maioria dos postos indígenas são as lavouras, que em geral faziam parte de toda comunidade. Ali todos plantavam, colhiam e no final recebiam a sua cota do todo. Se houvesse sobra, era vendida. Hoje em dia, essas lavouras, quando existem, são na maioria das vezes insuficientes para a subsistência dos próprios índios, fazendo com que eles, muitas vezes, sejam usados como mão-de-obra barata para os grandes fazendeiros da região, na forma de bóias

frias, ou prestem serviços a arrendatários que ocupam as suas melhores terras, pagando-lhes diárias irrisórias.

2. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

2.1. Número, sexo, idade e raça

Foram estudados indivíduos de duas raças diferentes: índios e brancos. A faixa etária padronizada foi de 10 a 40 anos, considerando-se de uma forma aproximada, pois os índios, algumas vezes, não sabiam com precisão a sua idade.

Na raça indígena foi coletado material de 105 indivíduos, dos quais foram selecionados, segundo os critérios de idade e não haver parentesco declarado, 30 indivíduos para a análise, sendo 15 homens e 15 mulheres. Para melhor caracterizar a ascendência indígena, tipamos os índios para os sistemas sanguíneos ABO e Rh. Todas as tipagens deram dentro do esperado, ORh⁺.

A amostra branca analisada é constituída também de 30 indivíduos (15 homens e 15 mulheres). Essa amostra compreende indivíduos da população de Curitiba (10 mulheres e 8 homens) e da Ilha dos Lençóis (5 mulheres e 7 homens). A finalidade de termos usado essas duas subamostras é explicada melhor nos capítulos subseqüentes.

3. MÉTODOS DE COLETA, CULTURA E PREPARAÇÃO DAS CÉLULAS

3.1. Coleta do sangue

O sangue dos índios foi coletado dentro do próprio posto indígena, nos postos de enfermagem ou, algumas vezes, nas casas dos índios. As seringas utilizadas eram do tipo descartável e foram heparinizadas com liquêmine Roche 5000 U.I./ml, no local de retirada do sangue. Este foi retirado por punção venosa, na quantidade de 10 ml por indivíduo. Após a reti-

rada do sangue, introduzia-se uma rolha de penicilina esterelizada na ponta da agulha e misturava-se bem o sangue com a heparina, invertendo-se várias vezes a seringa. Em seguida, as seringas eram fixadas na parede de uma caixa de isopor, voltadas com a agulha para cima, e transportadas em automóvel para Curitiba, onde era semeada a cultura. Todas as culturas foram semeadas com no máximo, 10 horas após a retirada do sangue.

A coleta do sangue dos indivíduos da Ilha dos Lençóis, obtida por Cavalli e cols. (1972), foi realizada aproximadamente da mesma forma que a citada acima. Já o sangue dos brancos de Curitiba foi retirado no nosso laboratório.

3.2. Cultura

As culturas foram realizadas com os linfócitos do sangue periférico.

Para os índios e brancos de Curitiba, a técnica usada foi a macrotécnica, e para os brancos da Ilha dos Lençóis foi a microtécnica (2 gotas de sangue num tubo Kit do tipo 1A da Grand Island Co., que tem 5 ml de meio 199 e fitohemaglutinina). As culturas realizadas pela macrotécnica foram feitas em recipientes de 60 ml, onde eram colocados 7 ml de meio 199 da Difco, 3 ml de "pool" de soro humano, inativado a 56°C, 0,2 ml de fitohemaglutinina M da Difco e 0,8 ml de plasma do indivíduo. Em seguida, os recipientes com as culturas eram colocados em estufa a 37°C, onde ficavam incubando por 72 horas. Duas horas antes das culturas serem "sacrificadas" era feita a interrupção com 0,1 ml de colchicina "Houdée" na concentração de 4×10^{-5} (0,05 ml na microtécnica). Completadas as 72 horas era iniciada a preparação citológica.

3.3. Preparação citológica

- 1º) As culturas eram transferidas para tubos de centrífuga, os quais foram tarados. Em seguida centrifugava-se as culturas a 900 rpm por 5 minutos.
- 2º) O sobrenadante era retirado, e no sedimento adicionava-se

1 ml da solução hipotônica de cloreto de potássio (0,075 M) aquecida a 37°C. Em seguida, ressuspensava-se com cuidado e adicionava-se mais 2 ml.

3º) Os tubos com o material eram novamente tarados e colocados em centrífuga a 900 rpm por 5 minutos.

Obs.: O tempo de hipotonia sempre era controlado para 10 minutos (5 minutos fora da centrífuga e 5 minutos centrifugando).

4º) Depois de retirado o sobrenadante era feita a fixação com metanol e ácido acético (3:1). Inicialmente colocava-se 1 ml de fixador, ressuspensava-se e completava-se com mais 2 ml, ressuspensando novamente.

5º) O material era centrifugado a 900 rpm por 5 minutos, retirado o sobrenadante, e ao sedimento eram acrescentados 3 ml de fixador.

6º) Após todas essas operações, o material era ressuspensado e deixado em repouso na temperatura ambiente de 30 a 60 minutos.

7º) Terminado o tempo de fixação, os tubos eram tarados e levados à centrífuga por 5 minutos a 900 rpm.

8º) Novamente era retirado o sobrenadante e colocado de 0,5 a 1 ml de fixador, conforme a quantidade de material existente.

9º) Nesse momento iniciava-se o processo de preparação de lâminas, as quais deveriam estar bem limpas e imersas em álcool 70, na geladeira. Colocava-se de três a quatro gotas do material na lâmina e secava-se ao ar.

10º) A coloração era feita com o corante Giemsa, utilizando-se para isso uma camada de água destilada sobre a lâmina, em cima da qual eram gotejadas de 5 a 8 gotas do corante. Posteriormente, homogeneizava-se a distribuição do corante na lâmina.

4. CRITÉRIOS DE ESCOLHA E ANÁLISE DAS CÉLULAS

De posse da lâmina pronta, procurávamos em aumento

pequeno (10X) metáfases que estivessem dentro de um padrão determinado. O padrão requerido era que a célula não estivesse estourada, possuindo uma boa identificação dos cromossomos. Isto era verificado pela forma da célula, que deveria ser arredondada, e pela disposição dos cromossomos na placa metafásica. Dessa maneira eram escolhidas 30 metáfases e pontuadas em uma lâmina branca, que teria agora pontos correspondentes às 30 metáfases escolhidas. Após este procedimento, cada uma das metáfases era analisada em objetiva de imersão (100X) e ocular de 10X. Depois da análise de todas as metáfases, eram escolhidas duas delas, as de melhor qualidade, para serem fotografadas. As fotografias eram feitas em foto microscópio ótico Leitz, com filme "high contrast" 12 ASAS, e objetiva de imersão. Com essas fotos eram montados dois cariótipos de cada indivíduo da amostra, para constatar a normalidade cariotípica deles, dentro dos padrões convencionais.

Todas as análises foram feitas por uma pessoa e conferidas por outra sem conhecimento dos primeiros resultados. As análises foram divididas dentro de três variáveis:

1º) Aneuploidias

Para a análise dessa variável, o primeiro analisador contava diretamente no microscópio o número de cromossomos existentes na metáfase. O segundo observador procedia da mesma forma, e posteriormente eram comparadas as duas observações.

2º) Aberrações estruturais

O primeiro cuidado que se teve foi desprezar as células com número cromossômico diferente de 46. Dentro destas foram analisadas, também diretamente ao microscópio, as aberrações estruturais classificadas segundo os critérios propostos por Court Brown, Buckton, Jacobs, Tough, Kuenssberg e Knox (1966), e utilizadas por outros pesquisadores, entre os quais Mattevi (1974), com os dados da qual comparamos nossos dados. Aqui também a análise foi feita independentemente por dois observadores.

A classificação de Court Brown e cols. (1966) divide as células em três tipos:

A - Sem aberrações estruturais (células normais).

- B - Com aberrações cromatídicas (células com falhas isocromatídicas e/ou falhas cromatídicas e/ou quebras cromatídicas e/ou trocas cromatídicas).
- C - Com aberrações cromossômicas, incluindo as aberrações instáveis (fragmentos acêntricos e/ou cromossomos dicêntricos e/ou cromossomos em anel), e as estáveis (cromossomos monocêntricos anormais em um ou mais grupos).

3º) Associações de acrocêntricos

As células selecionadas para o estudo das associações de cromossomos acrocêntricos foram aquelas com 46 cromossomos, e eventualmente aquelas com número menor (45 ou 44 cromossomos), ou maior (47 cromossomos). Assegurava-se, porém, que em todas as células analisadas não havia falta ou excesso de cromossomos acrocêntricos.

Para caracterizar uma associação os dois observadores utilizaram os critérios estabelecidos por Cohen e Shaw (1967), itens a e b, com uma modificação proposta por Zang e Back (1968), item c.

- a) Os acrocêntricos deveriam estar orientados para um ponto comum pelos seus finais satelitados.
- b) A distância entre seus finais satelitados não deveria ser maior do que o comprimento do braço longo do maior cromossomo do grupo G daquela metáfase.
- c) Distâncias maiores que as referidas no item b só eram aceitas quando havia uma clara conexão, através de um filamento, unindo os cromossomos em associação.

III. RESULTADOS

A diretriz usada, para a realização das comparações, foi a seguinte:

1º) Comparação entre raças diferentes, índios x brancos.

a) índios x brancos (nossa amostra)

b) índios x brancos jovens (10-13 anos), da amostra de Mattevi (1974)

c) índios x brancos velhos (62-96 anos), da amostra de Mattevi (1974).

2º) Comparação entre os sexos, dentro de cada raça e no total delas.

Todas essas comparações foram efetuadas para ANEUPLOIDIAS e ABERRAÇÕES ESTRUTURAIS, enquanto que, para as ASSOCIAÇÕES DE ACROCÊNTRICOS não incluímos as comparações referentes aos itens b e c.

1. ANEUPLOIDIAS

A TABELA 1 mostra a distribuição das células normais, hipodiplóides e hiperdiplóides, analisadas de um total de 1.695 células de 60 indivíduos normais. Essa distribuição não evidenciou diferença estatisticamente significativa, ao nível

de 5%, entre os indivíduos da RAÇA INDÍGENA e BRANCA.

Em seguida, comparamos os nossos dados obtidos nos indivíduos indígenas com os dos brancos de Mattevi (1974), por se tratar de amostra mais semelhante à nossa (TABELAS 2 e 3). A análise estatística indicou resultados discrepantes entre: índios x brancos da faixa etária mais jovem (10-13 anos), e índios x brancos da faixa etária mais velha (62-96 anos). Ocorreu uma diferença altamente significativa para a primeira comparação, e não-significativa para a segunda. A escassez de trabalhos que estudam o nível de aneuploidias, de uma maneira comparativa, nas diferentes raças, nos impossibilitou de fazer outras comparações.

Quanto à frequência de aneuploidias em relação ao sexo dos indivíduos, os resultados são apresentados nas TABELAS 4, 5 e 6. Nenhum deles se mostrou estatisticamente significativo, ao nível de 5%.

2. ABERRAÇÕES ESTRUTURAIS: CROMOSSÔMICAS E/OU CROMATÍDICAS

Para a comparação entre raças, utilizamos como controle branco os dados da população da Ilha dos Lençóis, porque as condições de transporte do sangue dos indivíduos estudados foram as mesmas que as dos índios (TABELA 7).

Uma outra comparação efetuada, entre os índios e os brancos da amostra de Mattevi (1974), foi analisada separadamente para os jovens (10-13 anos) e velhos (62-96 anos). Com os brancos jovens existiu uma diferença altamente significativa, enquanto que com os velhos não houve diferença estatisticamente significativa (TABELAS 8 e 9). Nas TABELAS 10, 11 e 12, são apresentados os resultados dos três tipos de células em função do sexo dos indivíduos do grupo indígena, branco e do total. Os homens índios mostraram um número significativamente maior de aberrações estruturais, tanto cromatídicas, como cromossômicas, em relação às mulheres índias. Na amostra branca, e no total (índios mais brancos), não houve diferença significativa nestas aberrações.

3. ASSOCIAÇÕES DE ACROCÊNTRICOS

Para a análise desta variável utilizamos como controle a população branca de Curitiba, uma vez que o procedimento técnico nesta amostra foi semelhante ao procedimento técnico da amostra indígena.

3.1. Número de células com e sem associações

A frequência de células com e sem associações, classificadas quanto ao número destas, nas duas raças estudadas, estão indicadas na TABELA 13. Os resultados não se mostraram estatisticamente significativos, ao nível de 5%, demonstrando assim uma "igualdade" racial nesta distribuição.

O número de células com e sem associações, separado por sexo, apontou uma diferença significativa entre homens e mulheres da raça indígena (TABELA 14). Já entre brancos e no total esses resultados foram não-significativos (TABELAS 15 e 16).

3.2. Número de células classificadas pelos tipos de associações

As TABELAS 17, 20 e 21 mostram os resultados obtidos dos tipos de associações D/D, D/G e G/G nas raças indígena e branca. Só apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação à raça, as associações do tipo G/G. A distribuição dos tipos de associações D/G, respectivamente à raça e sexo dos indivíduos, está indicada nas TABELAS 18 e 19. Para a confecção da TABELA 20, os tipos de associações D/G, das TABELAS 18 e 19, foram agrupados pelo número de cromossomos envolvidos nestas associações.

Entre os sexos foi feita a comparação dentro de cada um dos grupos raciais (índios e brancos), e para o total deles, nas três categorias de associações: D/D, D/G e G/G (TABELAS 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 e 30). Destas, a única comparação que resultou significativa foi: homens brancos x mulheres brancas, para as associações D/D. Todas as outras in-

dicaram resultados estatisticamente não-significativos, ao nível de 5%.

Em seguida classificamos os tipos de associações de acrocêntricos, por par cromossômico, conforme van Brink e Nienhaus (1962), Zang e Back (1968) e Mattevi (1974). Nessa análise consideramos cada par cromossômico como uma associação separada. Por exemplo, nas associações do tipo D/D foram incluídas, além daquelas que envolviam somente cromossomos do grupo D, todas as D/D que puderam ser compostas a partir das associações D/G. O mesmo ocorrendo com as G/G. Assim, se temos uma associação de dois D's, uma de três D's, e uma de dois D's e um G, teremos, para o cálculo do número de associações D/D por par cromossômico, os valores de: 1, 3 e 1, respectivamente, totalizando 5 associações D/D. Os valores esperados foram calculados na base da ocorrência ao acaso dessas associações. Os resultados dessas análises estatísticas, referentes à raça, estão indicados nas TABELAS 31 e 32. Como se vê, existiu uma diferença altamente significativa entre os brancos, sem considerar o sexo. Dessa forma, podemos dizer que, em relação aos valores esperados ao acaso nos indivíduos brancos, não houve concordância entre as frequências observadas dessas associações. Já os índios mostraram essa concordância. Dos resultados analisados, levando-se em conta o sexo e raça dos indivíduos, somente as mulheres brancas e o total das mulheres (índias mais brancas) apresentaram uma diferença altamente significativa (TABELAS 36 e 38). Nas outras comparações realizadas: homens índios, mulheres índias, homens brancos e total dos homens, não houve significância estatística (TABELAS 33, 34, 35 e 37).

3.3. Número médio de associações por célula

Nas TABELAS 39, 40 e 41 estão indicados o número médio de associações por célula, nas seguintes comparações:

- a) índios x brancos;
- b) homens índios x mulheres índias; e
- c) homens brancos x mulheres brancas.

Em a e b os resultados se mostraram estatisticamente significativos, enquanto que em c não foram.

TABELA 1. Distribuição e comparação das células aneuplóides e normais nas duas raças.

RAÇA	NÚMERO DE CÉLULAS						TOTAL
	HIPODIPLÓIDES		NORMAIS		HIPERDIPLÓIDES		
	N	%	N	%	N	%	
INDÍGENA	125	14,27	732	83,56	19	2,17	876
BRANCA	146	17,83	656	80,10	17	2,08	819
TOTAL	271	15,99	1.388	81,89	36	2,12	1.695

$\chi^2=3,99$; G.L.=2; $0,20>P>0,10$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 2. Distribuição e comparação das células aneuplóides e normais nas duas raças usando a amostra branca (jovens) de Mattevi (1974).

RAÇA	NÚMERO DE CÉLULAS						TOTAL
	HIPODIPLÓIDES		NORMAIS		HIPERDIPLÓIDES		
	N	%	N	%	N	%	
INDÍGENA	125	14,27	732	83,56	19	2,17	876
BRANCA	76	4,22	1.717	95,39	7	0,39	1.800
TOTAL	201	7,51	2.449	91,52	26	0,97	2.676

$\chi^2=107,41$; G.L.=2; $0,01>P$; significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 3. Distribuição e comparação das células aneuplóides e normais nas duas raças usando a amostra branca (velhos) de Mattevi (1974).

RAÇA	NÚMERO DE CÉLULAS						TOTAL
	HIPODIPLÓIDES		NORMAIS		HIPERDIPLÓIDES		
	N	%	N	%	N	%	
INDÍGENA	125	14,27	732	83,56	19	2,17	876
BRANCA	216	12,00	1.556	86,44	28	1,56	1.800
TOTAL	341	12,74	2.288	85,50	47	1,76	2.676

$\chi^2=4,22$; G.L.=2; $0,20>P>0,10$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 4. Distribuição e comparação das células aneuplóides e normais em homens e mulheres da raça indígena.

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS						TOTAL
	HIPODIPLÓIDES		NORMAIS		HIPERDIPLÓIDES		
	N	%	N	%	N	%	
HOMENS	57	13,44	353	83,26	14	3,30	424
MULHERES	68	15,04	379	83,85	5	1,11	452
TOTAL	125	14,27	732	83,56	19	2,17	876

$\chi^2=5,27$; G.L.=2; $0,10>P>0,05$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 5. Distribuição e comparação das células aneuplóides e normais em homens e mulheres da raça branca.

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS						TOTAL
	HIPODIPLÓIDES		NORMAIS		HIPERDIPLÓIDES		
	N	%	N	%	N	%	
HOMENS	72	19,05	298	78,84	8	2,12	378
MULHERES	74	16,78	358	81,18	9	2,04	441
TOTAL	146	17,83	656	80,10	17	2,08	819

$\chi^2=0,73$; G.L.=2; $0,70>P>0,50$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 6. Distribuição e comparação das células aneuplóides e normais em homens e mulheres (total = índios + brancos).

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS						TOTAL
	HIPODIPLÓIDES		NORMAIS		HIPERDIPLÓIDES		
	N	%	N	%	N	%	
HOMENS	129	16,09	651	81,17	22	2,74	802
MULHERES	142	15,90	737	82,53	14	1,57	893
TOTAL	271	15,99	1.388	81,89	36	2,12	1.695

$\chi^2=2,85$; G.L.=2; $0,30>P>0,20$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 7. Distribuição e comparação das células com aberrações estruturais e normais nas duas raças.

RAÇA	NÚMERO DE CÉLULAS DO TIPO						TOTAL
	A		B		C		
	N	%	N	%	N	%	
INDÍGENA	578	87,98	67	10,20	12	1,83	657
BRANCA	246	88,81	29	10,47	2	0,72	277
TOTAL	824	88,22	96	10,28	14	1,50	934

$\chi^2=1,62$; G.L.=2; $0,50>P>0,30$; não significativo ao nível de 5% de significância.

A = células normais; B = células com aberrações cromatídicas; C = células com aberrações cromosômicas.

TABELA 8. Distribuição e comparação das células com aberrações estruturais e normais nas duas raças usando a amostra branca (jovens) de Mattevi (1974).

RAÇA	NÚMERO DE CÉLULAS DO TIPO						TOTAL
	A		B		C		
	N	%	N	%	N	%	
INDÍGENA	578	87,98	67	10,20	12	1,83	657
BRANCA	1.675	93,06	122	6,78	3	0,17	1.800
TOTAL	2.253	91,70	189	7,69	15	0,61	2.457

$\chi^2=30,39$; G.L.=2; $0,001>P$; significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 9. Distribuição e comparação das células com aberrações estruturais e normais nas duas raças usando a amostra branca (velhos) de Mattevi (1974).

RAÇA	NÚMERO DE CÉLULAS DO TIPO						TOTAL
	A		B		C		
	N	%	N	%	N	%	
INDÍGENA	578	87,98	67	10,20	12	1,83	657
BRANCA	1.593	88,50	188	10,44	19	1,06	1.800
TOTAL	2.171	88,36	255	10,38	31	1,26	2.457

$\chi^2=2,31$; G.L.=2; $0,50>P>0,30$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 10. Distribuição e comparação das células com aberrações estruturais e normais em homens e mulheres da raça indígena.

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS DO TIPO						TOTAL
	A		B		C		
	N	%	N	%	N	%	
HOMENS	248	83,50	41	13,80	8	2,69	297
MULHERES	330	91,67	26	7,22	4	1,11	360
TOTAL	578	87,98	67	10,20	12	1,83	657

$\chi^2=10,38$; G.L.=2; $0,01>P>0,001$; significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 11. Distribuição e comparação das células com aberrações estruturais e normais em homens e mulheres da raça branca.

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS DO TIPO						TOTAL
	A		B		C		
	N	%	N	%	N	%	
HOMENS	125	89,29	12	8,57	3	2,14	140
MULHERES	121	86,43	17	12,14	2	1,43	140
TOTAL	246	87,86	29	10,36	5	1,79	280

$\chi^2=1,13$; G.L.=2; $0,70 > P > 0,50$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 12. Distribuição e comparação das células com aberrações estruturais e normais em homens e mulheres (total = índios + brancos).

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS DO TIPO						TOTAL
	A		B		C		
	N	%	N	%	N	%	
HOMENS	373	85,35	53	12,13	11	2,52	437
MULHERES	451	90,20	43	8,60	6	1,20	500
TOTAL	824	87,94	96	10,25	17	1,81	937

$\chi^2=5,69$; G.L.=2; $0,10>P>0,05$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 13. Distribuição e comparação do número de células sem e com associações de cromossomos acrocêntricos nas duas raças.

RAÇA	NÚMERO DE CÉLULAS										TOTAL
	SEM ASSOCIAÇÃO		COM ASSOCIAÇÕES								
	N	%	1		2		3		4		
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
INDÍGENA	140	16,15	370	42,68	282	32,53	71	8,19	4	0,46	867
BRANCA	67	12,36	219	40,41	196	36,16	56	10,33	4	0,74	542
TOTAL	207	14,69	589	41,80	478	33,92	127	9,01	8	0,57	1.409

$\chi^2=7,12$; G.L.=4; $0,20 > P > 0,10$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 14. Distribuição e comparação do número de células sem e com associações de cromossomos acrocêntricos em homens e mulheres da raça indígena.

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS										
	SEM ASSOCIAÇÃO		COM ASSOCIAÇÕES								TOTAL
	N	%	1		2		3		4		
		N	%	N	%	N	%	N	%		
HOMENS	86	20,05	185	43,12	133	31,00	25	5,83	0	0,00	429
MULHERES	54	12,33	185	42,24	149	34,02	46	10,50	4	0,91	438
TOTAL	140	16,15	370	42,68	282	32,53	71	8,19	4	0,46	867

$\chi^2=18,34$; G.L.=4; $0,01>P>0,001$; significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 15. Distribuição e comparação do número de células sem e com associações de cromossomos acrocêntricos em homens e mulheres da raça branca.

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS										
	SEM ASSOCIAÇÃO		COM ASSOCIAÇÕES								TOTAL
	N	%	1		2		3		4		
N			%	N	%	N	%	N	%		
HOMENS	30	12,50	94	39,17	88	36,67	25	10,42	3	1,25	240
MULHERES	37	12,25	125	41,39	108	35,76	31	10,26	1	0,33	302
TOTAL	67	12,36	219	40,41	196	36,16	56	10,33	4	0,74	542

$\chi^2=1,73$; G.L.=4; $0,90>P>0,70$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 16. Distribuição e comparação do número de células sem e com associações de cromossomos acrocêntricos em homens e mulheres (total = índios + brancos).

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS										
	SEM ASSOCIAÇÃO		COM ASSOCIAÇÕES								TOTAL
	N	%	1		2		3		4		
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
HOMENS	116	17,34	279	41,70	221	33,03	50	7,47	3	0,45	669
MULHERES	91	12,30	310	41,89	257	34,73	77	10,41	5	0,68	740
TOTAL	207	14,69	589	41,80	478	33,92	127	9,01	8	0,57	1.409

$\chi^2=10,05$; G.L.=4; $0,05>P>0,01$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 17. Distribuição e comparação do número de células com diferentes tipos de associações D/D nas duas raças.

RAÇA	NÚMERO DE CÉLULAS COM ASSOCIAÇÕES DE								TOTAL
	0D		2D		3D		4D		
	N	%	N	%	N	%	N	%	
INDÍGENA	565	62,78	305	91,05	26	7,76	4	1,19	335
BRANCA	333	59,68	201	89,33	20	8,89	4	1,78	225
TOTAL	898	61,59	506	90,36	46	8,21	8	1,43	560

$\chi^2=0,57$; G.L.=2; $0,90>P>0,70$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 18. Distribuição dos
mulheres da raça

TIPOS	HOMENS	
	N	%
0D/0G	180	52,17
1D/1G	219	47,30
1D/2G	17	33,33
1D/3G	3	42,86
2D/1G	45	44,12
2D/2G	12	57,14
2D/3G	0	0,00
3D/1G	7	43,75
3D/2G	1	33,33
4D/1G	1	33,33
4D/2G	0	0,00
5D/1G	0	0,00
TOTAL	485	

tipos de associações D/G em homens e indígena.

MULHERES		TOTAL
N	%	
165	47,83	345
244	52,70	463
34	66,67	51
4	57,14	7
57	55,88	102
9	42,86	21
2	100,00	2
9	56,25	16
2	66,67	3
2	66,67	3
1	100,00	1
1	100,00	1
530		1.015

TABELA 19. Distribuição dos tipos de associações D/G em homens e mulheres da raça branca.

TIPOS	HOMENS		MULHERES		TOTAL
	N	%	N	%	
0D/0G	80	40,40	118	59,60	198
1D/1G	143	46,89	162	53,11	305
1D/2G	22	44,90	27	55,10	49
1D/3G	1	100,00	0	0,00	1
2D/1G	33	53,23	29	46,77	62
2D/2G	6	37,50	10	62,50	16
3D/1G	5	62,50	3	37,50	8
3D/2G	3	42,86	4	57,14	7
3D/3G	3	60,00	2	40,00	5
4D/1G	1	50,00	1	50,00	2
TOTAL	297		356		653

TABELA 20. Comparação entre as associações D/G classificadas de acordo com o número de cromossomos nas duas raças.

RAÇA	ASSOCIAÇÕES D/G COM										TOTAL
	(a)		(b)		(c)		(d)		(e)		
	2 CROMOSSOMOS		3 CROMOSSOMOS		4 CROMOSSOMOS		5 CROMOSSOMOS		6 CROMOSSOMOS		
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
INDÍGENA	463	69,10	153	22,84	44	6,57	8	1,19	2	0,30	670
BRANCA	305	67,03	111	24,40	25	5,49	9	1,98	5	1,10	455
TOTAL	768	68,27	264	23,47	69	6,13	17	1,51	7	0,62	1.125

$\chi^2=4,85$; G.L.=4; $0,50>P>0,30$; não significativo ao nível de 5% de significância.

(a) 2 cromossomos = 1D/1G

(b) 3 cromossomos = 1D/2G e 2D/1G

(c) 4 cromossomos = 1D/3G; 2D/2G e 3D/1G

(d) 5 cromossomos = 2D/3G; 3D/2G e 4D/1G

(e) 6 cromossomos = 4D/2G; 5D/1G e 3D/3G

TABELA 21. Distribuição e comparação do número de células com diferentes tipos de associações G/G nas duas raças.

RAÇA	NÚMERO DE CÉLULAS COM ASSOCIAÇÕES DE						TOTAL
	0G		2G		3G		
	N	%	N	%	N	%	
INDÍGENA	715	82,00	149	94,90	8	5,10	157
BRANCA	431	79,67	97	88,18	13	11,82	110
TOTAL	1.146	81,10	246	92,13	21	7,87	267

$\chi^2=4,03$; G.L.=1; $0,05>P>0,02$; significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 22. Distribuição e comparação do número de células com diferentes tipos de associações D/D nos homens e mulheres da raça indígena.

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS COM ASSOCIAÇÕES DE										TOTAL
	0D		2D		3D		4D		6D		
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
HOMENS	293	66,90	130	89,66	13	8,97	1	0,69	1	0,69	145
MULHERES	272	58,75	175	91,62	13	6,81	3	1,57	0	0,00	191
TOTAL	565	62,71	305	90,77	26	7,74	4	1,19	1	0,30	336

$\chi^2=2,40$; G.L.=3; $0,50>P>0,30$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 23. Comparação entre as associações D/G classificadas de acordo com o número de cromossomos em homens e mulheres da raça indígena.

SEXO	ASSOCIAÇÕES D/G COM										
	(a)		(b)		(c)		(d)		(e)		TOTAL
	2 CROMOSSOMOS		3 CROMOSSOMOS		4 CROMOSSOMOS		5 CROMOSSOMOS		6 CROMOSSOMOS		
N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
HOMENS	219	71,80	62	20,33	22	7,21	2	0,66	0	0,00	305
MULHERES	244	66,85	91	24,93	22	6,03	6	1,64	2	0,55	365
TOTAL	463	69,10	153	22,84	44	6,57	8	1,19	2	0,30	670

$\chi^2=5,51$; G.L.=4; $0,30 > P > 0,20$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 24. Distribuição e comparação do número de células com diferentes tipos de associações G/G em homens e mulheres da raça indígena.

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS COM ASSOCIAÇÕES DE						TOTAL
	0G		2G		3G		
	N	%	N	%	N	%	
HOMENS	356	82,60	70	93,33	5	6,67	75
MULHERES	359	81,41	79	96,34	3	3,66	82
TOTAL	715	82,00	149	94,90	8	5,10	157

$\chi^2=0,73$; G.L.=1; $0,50>P>0,30$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 25. Distribuição e comparação do número de células com diferentes tipos de associações D/D nos homens e mulheres da raça branca.

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS COM ASSOCIAÇÕES DE								TOTAL
	0D		2D		3D		4D		
	N	%	N	%	N	%	N	%	
HOMENS	149	60,82	80	83,33	14	14,58	2	2,08	96
MULHERES	184	58,79	121	93,80	6	4,65	2	1,55	129
TOTAL	333	59,68	201	89,33	20	8,89	4	1,78	225

$\chi^2=6,87$; G.L.=2; $0,05>P>0,02$; significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 26. Comparação entre as associações D/G classificadas de acordo com o número de cromossomos em homens e mulheres da raça branca.

SEXO	ASSOCIAÇÕES D/G COM										
	(a)		(b)		(c)		(d)		(e)		TOTAL
	2 CROMOSSOMOS		3 CROMOSSOMOS		4 CROMOSSOMOS		5 CROMOSSOMOS		6 CROMOSSOMOS		
N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
HOMENS	143	65,90	55	25,35	12	5,53	4	1,84	3	1,38	217
MULHERES	162	68,07	56	23,53	13	5,46	5	2,10	2	0,84	238
TOTAL	305	67,03	111	24,40	25	5,49	9	1,98	5	1,10	455

$\chi^2=0,58$; G.L.=4; $P>0,95$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 27. Distribuição e comparação do número de células com diferentes tipos de associações G/G em homens e mulheres da raça branca.

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS COM ASSOCIAÇÕES DE						TOTAL
	0G		2G		3G		
	N	%	N	%	N	%	
HOMENS	198	82,85	35	85,37	6	14,63	41
MULHERES	233	77,15	62	89,86	7	10,14	69
TOTAL	431	79,67	97	88,18	13	11,82	110

$\chi^2=0,50$; G.L.=1; $0,50>P>0,30$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 28. Distribuição e comparação do número de células com diferentes tipos de associações D/D nos homens e mulheres (total = índios + brancos).

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS COM ASSOCIAÇÕES DE								TOTAL
	0D		2D		3D		4D		
	N	%	N	%	N	%	N	%	
HOMENS	442	64,81	210	87,50	27	11,25	3	1,25	240
MULHERES	456	58,76	296	92,50	19	5,94	5	1,56	320
TOTAL	898	61,59	506	90,36	46	8,21	8	1,43	560

$\chi^2=5,19$; G.L.=2; $0,10>P>0,05$, não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 29. Comparação entre as associações D/G classificadas de acordo com o número de cromossomos em homens e mulheres (total = índios + brancos).

SEXO	ASSOCIAÇÕES D/G COM										TOTAL
	(a)		(b)		(c)		(d)		(e)		
	2 CROMOSSOMOS		3 CROMOSSOMOS		4 CROMOSSOMOS		5 CROMOSSOMOS		6 CROMOSSOMOS		
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
HOMENS	362	69,35	117	22,41	34	6,51	6	1,15	3	0,57	522
MULHERES	406	67,33	147	24,38	35	5,80	11	1,82	4	0,66	603
TOTAL	768	68,27	264	23,47	69	6,13	17	1,51	7	0,62	1.125

$\chi^2=1,74$; G.L.=4; $0,90>P>0,70$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 30. Distribuição e comparação do número de células com diferentes tipos de associações G/G em homens e mulheres (total = índios + brancos).

SEXO	NÚMERO DE CÉLULAS COM ASSOCIAÇÕES DE						TOTAL
	0G		2G		3G		
	N	%	N	%	N	%	
HOMENS	554	82,69	105	90,52	11	9,48	116
MULHERES	592	79,68	141	93,38	10	6,62	151
TOTAL	1.146	81,10	246	92,13	21	7,87	267

$\chi^2=0,74$; G.L.=1; $0,50>P>0,30$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 31. Distribuição e comparação dos tipos de associações classificadas por pares cromossômicos na raça indígena.

RAÇA	PARES DE ASSOCIAÇÕES			TOTAL
	D/D	D/G	G/G	
INDÍGENA				
OBSERVADO	638	977	276	1.891
ESPERADO	630,27	1.008,47	252,07	-1.891

$\chi^2=3,35$; G.L.=2; $0,20>P>0,10$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 32. Distribuição e comparação dos tipos de associações classificadas por pares cromossômicos na raça branca.

RAÇA	PARES DE ASSOCIAÇÕES			TOTAL
	D/D	D/G	G/G	
BRANCA				
OBSERVADO	441	725	235	1.401
ESPERADO	466,95	747,15	186,75	~1.401

$\chi^2=14,56$; G.L.=2; $0,001>P$; significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 33. Distribuição e comparação dos tipos de associações classificadas por pares cromossômicos nos homens índios.

HOMENS ÍNDIOS	PARES DE ASSOCIAÇÕES			TOTAL
	D/D	D/G	G/G	
OBSERVADO	277	431	124	832
ESPERADO	277,31	443,71	110,91	~832

$\chi^2=1,91$; G.L.=2; $0,50>P>0,30$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 34. Distribuição e comparação dos tipos de associações classificadas por pares cromossômicos nas mulheres índias.

MULHERES ÍNDIAS	PARES DE ASSOCIAÇÕES			TOTAL
	D/D	D/G	G/G	
OBSERVADO	361	546	152	1.059
ESPERADO	352,97	564,77	141,17	1.059

$\chi^2=1,64$; G.L.=2; $0,50>P>0,30$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 35. Distribuição e comparação dos tipos de associações classificadas por pares cromossômicos nos homens brancos.

HOMENS BRANCOS	PARES DE ASSOCIAÇÕES			TOTAL
	D/D	D/G	G/G	
OBSERVADO	212	344	102	658
ESPERADO	219,31	350,91	87,71	~658

$\chi^2=2,71$; G.L.=2; $0,30 > P > 0,20$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 36. Distribuição e comparação dos tipos de associações classificadas por pares cromossômicos nas mulheres brancas.

MULHERES BRANCAS	PARES DE ASSOCIAÇÕES			TOTAL
	D/D	D/G	G/G	
OBSERVADO	229	381	133	743
ESPERADO	247,64	396,24	99,04	-743

$\chi^2=13,63$; G.L.=2; $0,01>P>0,001$; significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 37. Distribuição e comparação dos tipos de associações classificadas por pares cromossômicos nos homens (total = índios + brancos).

HOMENS (TOTAL)	PARES DE ASSOCIAÇÕES			TOTAL
	D/D	D/G	G/G	
OBSERVADO	489	775	226	1.490
ESPERADO	496,62	794,62	198,62	-1.490

$\chi^2=4,38$; G.L.=2; $0,20>P>0,10$; não significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 38. Distribuição e comparação dos tipos de associações classificadas por pares cromossômicos nas mulheres (total = índias + brancas).

MULHERES (TOTAL)	PARES DE ASSOCIAÇÕES			TOTAL
	D/D	D/G	G/G	
OBSERVADO	590	927	285	1.802
ESPERADO	600,61	961,01	240,21	-1.802

$\chi^2=9,74$; G.L.=2; $0,01>P>0,001$; significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 39. Distribuição e comparação do número médio de associações de acrocêntricos por célula nas duas raças.

RAÇA	TOTAL DE ASSOCIAÇÕES	TOTAL DE CÉLULAS	$\bar{X}/E.P.$
INDÍGENA	1.163	868	1,34 ± 0,03
BRANCA	795	542	1,47 ± 0,04

$t'=2,69$; G.L.= ∞ ; $0,01 > P > 0,001$; significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 40. Distribuição e comparação do número médio de associações de acrocêntricos por célula em homens e mulheres da raça indígena.

<u>SEXO</u>	<u>TOTAL DE ASSOCIAÇÕES</u>	<u>TOTAL DE CÉLULAS</u>	<u>\bar{X}/E.P.</u>
HOMENS	526	429	1,23 ± 0,04
MULHERES	637	438	1,45 ± 0,04

$t'=3,97$; G.L.= ∞ ; $0,001 > P$; significativo ao nível de 5% de significância.

TABELA 41. Distribuição e comparação do número médio de associações de acrocêntricos por célula em homens e mulheres da raça branca.

<u>SEXO</u>	<u>TOTAL DE ASSOCIAÇÕES</u>	<u>TOTAL DE CÉLULAS</u>	<u>\bar{X}/E.P.</u>
HOMENS	357	240	1,49 ± 0,06
MULHERES	438	302	1,45 ± 0,05

$t'=0,50$; G.L.= ∞ ; $0,70 > P > 0,60$; não significativo ao nível de 5% de significância.

IV. DISCUSSÃO

1. ANEUPLOIDIAS

Na comparação do número de células normais, hipodiplóides e hiperdiploides, entre indivíduos brancos e índios, não observamos diferença significativa quando usamos a nossa própria amostra branca. Apesar dessa não significância, nos brancos a frequência de células aneuploides (19,91%) foi superior à dos índios (16,44%). Ambas as frequências situam-se dentro da faixa representativa das células aneuploides para a espécie humana (2 a 25%), conforme os resultados dos trabalhos de diversos autores (Jacobs e col., 1961; Jacobs e cols., 1963; Jacobs e col., 1964; Hamerton e col., 1965; Mouriquand e cols., 1967; Mieler, 1967; Bloom e col., 1967; Hungerford e col., 1969; Kadotani e cols., 1971; Cavalli e cols., 1972; Mattevi, 1974; Jarvik e cols., 1976 e Fitzgerald e McEwan, 1977). Por outro lado, quando comparamos os dados dos índios com os dos brancos da amostra de Mattevi (1974), coletados em Porto Alegre, houve diferença altamente significativa, quando a comparação foi realizada com os jovens (10-13 anos), e não significativa quando feita com os velhos (62-96 anos). Provavelmente estes resultados indicam um efeito de técnica. Acreditamos que, nesse caso, não se possa supor efeito racial, uma vez que a amostra indígena quando comparada com a branca de Curi-

tiba não resultou em diferenças significativas. Também não encontramos diferença significativa entre os sexos, nos índios, nos brancos e no total (índios mais brancos).

2. ABERRAÇÕES ESTRUTURAIS

Para a análise dessa variável, escolhemos para controle branco os indivíduos da população da Ilha dos Lençóis, estudados por Cavalli e cols. (1972). A seleção desse controle deveu-se à similaridade das condições de vida das duas populações. Com isso, pretendemos uniformizar desde as condições sócio-econômicas das duas populações até a coleta e transporte do material. Os resultados dos índios não se mostraram estatisticamente diferentes dos brancos da Ilha dos Lençóis. Os nossos resultados estão em contradição com os obtidos por Bloom e cols. (1970), nos índios Yanomama da Venezuela. Estes autores mostraram existir um acréscimo de aberrações estruturais nos índios em relação aos controles. A frequência de aberrações estruturais encontrada por eles nos brancos está situada entre a dos japoneses e índios, estes últimos possuindo, como já foi dito anteriormente, um acréscimo em relação às duas outras amostras. Bloom, Neel, Tsuchimoto e Meilinger (1973) citam que os estudos citogenéticos feitos em 1969, 1970 e 1971 mostraram um decréscimo progressivo nas frequências de aberrações estruturais de 4,2% em 1969, para 2,6% e 1,4%, em 1970 e 1971, respectivamente. Bloom e cols. (1973) postularam ainda que os fatores, ou fator responsável pela maior frequência encontrada nos índios Yanomama em 1969, não deveriam estar atuando em 1970 e 1971. Não acredita, por diversas ordens de razões, que este achado de 1969 tenha sido originado por artifícios de técnica, isto é, que essa alta frequência de quebras não tenha se originado "in vivo", mas depois de coletadas as amostras de sangue. Uma indicação muito forte disso é a não casualidade na frequência de células com quebras, obtida na frustrada tentativa de encaixar esses dados dentro da distribuição de Poisson, sugerindo assim uma

base biológica "in vivo" para estas quebras. Outras explicações, além da postulada por Bloom e cols. (1973), poderiam ser levantadas com base nos resultados encontrados por Littlefield e Goh (1973), segundo os quais algumas diferenças nas frequências de quebras foram constatadas entre diferentes indivíduos de uma mesma amostra em culturas consecutivas do mesmo indivíduo e também em culturas realizadas em diferentes épocas do ano. Todos esses fatores seriam fontes de variações capazes de levar qualquer amostra a oscilar as suas frequências de aberrações estruturais.

Um outro trabalho que também mostrou um aumento na frequência de aberrações estruturais foi o de Heltne e Singer (1971), nos Hottentotes sul africanos. Os indivíduos dessa população possuíam uma alta incidência de células que tinham um fragmento simples.

Sabe-se que falhas e quebras cromossômicas ou cromatídicas não ocorrem ao acaso ao longo dos cromossomos. Aymé e cols. (1976) demonstraram que as regiões das bandas claras quebram-se duas vezes mais do que as escuras. Aula e Koskull (1976) também mostraram que estas quebras estavam restritas quase que exclusivamente às bandas G fracamente coradas. Diferentes e continuados fenômenos biológicos podem determinar em diferentes populações heterogeneidades cromossômicas estruturais, levando esses cromossomos a possuir uma maior ou menor susceptibilidade às aberrações estruturais, espontâneas ou não. Essas heterogeneidades estruturais já foram descritas, e como por exemplo citamos:

- a) o aumento ou diminuição do comprimento do cromossomo Y (Cohen e Shaw, 1967; Monsalve, 1974 e Ribeiro, Cavalli, Fontoura Jr., Sbalqueiro, Maia e Muniz, 1977),
- b) o aumento ou diminuição no tamanho e mudança de morfologia nos braços curtos dos cromossomos acrocêntricos (Starkman e Shaw, 1967),
- c) cromossomos C metacêntricos, com constrição secundária adjacente ao centrômero (Lubs e Ruddle, 1971). Todos esses três fatores podem determinar variações em diferentes populações.

Porém, nas nossas amostras, no que diz respeito às aberrações estruturais, não encontramos diferença significativa entre brancos e índios, indicando assim uma ausência de efeito racial. Acreditamos que estes achados resultam do fato de termos como controle uma amostra branca em condições mais próximas possíveis das dos índios, uma vez que de outra forma podemos obter diferenças significativas devido às diferentes condições das duas populações, em vez do efeito racial postulado. Assim, conforme explicamos acima, pretendemos ter escolhido uma amostra branca mais homogênea à dos índios, no que diz respeito às condições sócio-econômicas, coleta do sangue e transporte do material. Dessa forma, os resultados obtidos por Bloom e cols. (1970) podem tanto ter sido ocasionados por uma causa biológica "in vivo" como por discrepâncias entre as duas amostras, devido às diferentes condições sócio-econômicas, ambientais, etc. Da outra forma também seria difícil explicar os nossos achados, quando comparados com os de Mattevi (1974). Na comparação entre índios e brancos-jovens foi encontrada uma diferença significativa, e com os brancos-velhos, não significativa.

Para o parâmetro sexo, encontramos uma diferença significativa entre homens índios e mulheres índias. Esta diferença não foi encontrada para o controle branco. Nem Bloom (1970), nem Mattevi (1974) encontraram efeito do sexo para as aberrações estruturais. Uma possível causa para explicar essa diferença encontrada em nossos dados, nos índios, diz respeito aos hábitos de vida dos mesmos. Pelo fato de que foi observado maior incidência de células com aberrações estruturais, cromatídicas e cromossômicas, nos homens, e também pelo fato de que são estes mesmos homens que diariamente saem para trabalhar na lavoura, ficando expostos a quantidades de radiações solares intensas, pode-se supor a existência de um efeito destas radiações na produção das aberrações estruturais referidas acima. Uma outra explicação que nos parece bem razoável baseia-se no achado de Mitelman e Wadstein (1978), onde eles relatam haver encontrado diferença significativa entre as frequências de aberrações estruturais de alcoólatras crônicos e do controle normal. Os alcoólatras mostraram uma maior quantidade des-

tas aberrações em relação ao controle normal. Nos postos indígenas estudados, o alcoolismo é um vício largamente difundido entre os índios, podendo ser um dos fatores responsáveis pela diferença encontrada, já que a ingestão do álcool é preferencialmente realizada pelos homens índios.

3. ASSOCIAÇÕES DE ACROCÊNTRICOS

Para efeito de análise, dividimos as associações de acrocêntricos dentro de três aspectos:

- a) número de células com associação
- b) tipos de associações:
 - b.1. por grupo cromossômico
 - b.2. por par cromossômico
- c) número médio de associações por célula.

A análise do número de células com associações indicou um único resultado significativo que foi na diferença entre homens e mulheres indígenas, estas últimas mostrando um aumento no número de células com associações. Galperin (1968), como citamos na introdução, relata ter encontrado diferença significativa na proximidade dos acrocêntricos de homens e mulheres. As mulheres apresentaram uma maior proximidade entre os acrocêntricos do que os homens. Liem, Denton e Cheng (1977) mostraram que as mulheres possuem frequências de associações de acrocêntricos mais altas do que os homens. Como os achados sugestivos sobre um efeito do sexo na variável analisada são bastante escassos, seria prematuro concluir em função dos mesmos.

De todas as comparações feitas entre raças (índios x brancos), para os tipos de associações por grupo cromossômico, não encontramos significância no número de células com associações que envolvessem 2, 3, 4 e 6 cromossomos do grupo D, e 2, 3, 4, 5 e 6 cromossomos dos grupos D e G. Porém, foi verificada uma diferença estatisticamente significativa para as células com associações que envolvessem 2 e 3 cromossomos do grupo G, sendo menor para os indivíduos indígenas. Foi também

verificada uma diferença significativa entre os homens e mulheres nos brancos. Os homens brancos apresentaram um acréscimo de associações D/D, principalmente do tipo 3D e 4D, em relação às mulheres brancas. Para esses achados não vemos explicações mais consistentes, podendo os mesmos serem puramente casuais.

Dentro dos tipos de associações por par cromossômico, encontramos resultados altamente significativos na distribuição das associações de pares D/D, D/G e G/G, entre os brancos, entre as mulheres brancas e entre o total das mulheres (índias mais brancas). O ponto comum verificado nesses três resultados foi no sentido do aumento do número de pares G/G associados, ficando em menor número os pares D/D e D/G. Esses resultados concordam com os do trabalho de Zang e Back (1968), onde foi mostrado ter ocorrido um aumento de associações G/G em detrimento das D/D e D/G. Segundo esses autores, a explicação para esse aumento poderia ser em função de um efeito sistemático na preparação citológica, pois supõe eles que os acrocêntricos pequenos estão menos expostos a influências mecânicas, durante o processo de preparação, do que os acrocêntricos grandes. Outra hipótese poderia ser também de que um par de cromossomos D separar-se-ia mais facilmente do que um par de cromossomos G, levando assim a uma diminuição da frequência de associações D/D e provavelmente D/G, em relação às G/G. Os nossos resultados demonstram ainda que, mesmo sem significância estatística, as frequências observadas de associações G/G foi sempre superior à frequência esperada. Já as associações D/D e D/G quase sempre se mostraram com frequências inferiores às esperadas.

Quanto ao número médio de associações por célula, achamos resultados significativos nas comparações feitas entre índios x brancos e homens índios x mulheres índias. Os índios mostraram um número médio de associações por célula menor do que os brancos, enquanto que, as mulheres índias apresentaram um número médio de associações por célula maior que o dos homens. Para o resultado significativo surgido entre índios e brancos, não conseguimos outra explicação que não aquela devida ao efeito racial existente entre eles, já que outras va-

riáveis como faixa etária, meio de cultura, coleta de material, preparação das células, etc., foram padronizadas. Os nossos resultados não concordam com os de Cohen e Shaw (1967), quando elas comparam indivíduos das raças indiana, japonesa, negra, branca não judia e branca judia, encontrando resultados não significativos.

Com relação à diferença entre os sexos dos indivíduos indígenas, podemos fazer a mesma suposição já discutida anteriormente, e que se baseou nos trabalhos de Galperin (1968) e Liem, Denton e Cheng (1977).

Finalizando, gostaríamos de enfatizar a necessidade de que os estudos citogenéticos populacionais, em indivíduos de diferentes origens raciais, sejam intensificados a fim de que se possa ter uma delimitação ótima da variabilidade cariotípica normal na espécie humana.

V. SUMÁRIO E CONCLUSÕES

O nosso trabalho teve como objetivo principal o de contribuir para o delineamento da variabilidade cariotípica normal na espécie humana. A variável básica escolhida foi a RACA, e dentro desta analisamos a variável SEXO.

Os grupos raciais estudados foram: INDÍGENA e BRANCO. O primeiro, pela sua importância no processo de formação da população brasileira, e por estar em vias de extinção, quer seja pela integração do índio à comunidade branca, quer seja pelo seu extermínio como grupo racial. O segundo foi usado como controle para o primeiro.

Foram estudadas 876 células de 30 indígenas (15 homens e 15 mulheres) e 819 células de 30 brancos (15 homens e 15 mulheres) da faixa etária de 10 a 40 anos. A amostra branca foi constituída de duas subamostras, coletadas da população normal de Curitiba (8 homens e 10 mulheres) e de indivíduos da população da Ilha dos Lençóis (7 homens e 5 mulheres). A finalidade do uso dessas duas subamostras foi explicada nos capítulos precedentes.

As análises citogenéticas foram feitas em metáfases de leucócitos do sangue periférico mantidos em cultura por 72 horas.

Estas análises efetuaram-se dentro dos seguintes aspectos:

- a) número de células aneuplóides,
- b) número de células com aberrações estruturais,

- c) número de células com associações de cromossomos acrocêntricos,
- d) padrões de associações dos cromossomos acrocêntricos, classificados por grupo cromossômico,
- e) padrões de associações dos cromossomos acrocêntricos, classificados por par cromossômico,
- f) número médio de associações por célula.

Os resultados ^{e conclusões} foram os seguintes:

- 1º) Uma ausência de efeito racial entre brancos e índios, quanto ao número de células aneuplóides.
- 2º) Em relação ao sexo, não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre homens e mulheres de cor branca e homens e mulheres indígenas, para o número de células aneuplóides.
- 3º) Para as aberrações estruturais não houve diferenças significativas entre as duas raças.
- 4º) Quanto às aberrações estruturais distribuídas nos dois sexos, foi encontrada uma diferença altamente significativa entre homens e mulheres indígenas. Já na amostra branca essa diferença não foi observada.
- 5º) O número de células com associações de cromossomos acrocêntricos não se mostrou estatisticamente diferente nas duas raças.
- 6º) Houve diferença altamente significativa entre os sexos, indicando uma maior quantidade no número de células com associações de acrocêntricos nas mulheres indígenas do que nos homens. Entre os brancos essa diferença não foi verificada.
- 7º) Na distribuição dos padrões de associações, o número de células classificadas por grupo cromossômico indicou uma diferença significativa para as associações do tipo G/G e não significativa para as do tipo D/D e D/G, na comparação entre as duas raças estudadas.
- 8º) Essa mesma distribuição entre os sexos se apresentou não significativa nos índios para os tipos D/D, D/G e G/G e para os brancos nos tipos D/G e G/G. A única comparação que se mostrou significativa foi entre homens e mulheres brancas quanto às associações D/D.

- 9º) Na distribuição dos padrões de associações classificados por par cromossômico, foi encontrada diferença altamente significativa na amostra branca, sem contudo ter havido diferença entre os indígenas. Sendo assim, como os valores esperados das associações D/D, D/G e G/G são calculados com base na probabilidade de ocorrência casual dessas associações, podemos dizer que entre os indígenas houve concordância entre as frequências observadas e as esperadas ao acaso, enquanto que na amostra branca não houve.
- 10º) Para essa mesma distribuição citada acima, levando-se em conta o sexo dentro de cada um dos grupos raciais, encontramos resultados significativos somente para as mulheres brancas. Entre os homens brancos, homens indígenas e mulheres indígenas não foi verificada diferença estatisticamente significativa.
- 11º) Os indivíduos da raça indígena mostraram um número médio de associações por célula significativamente menor do que os indivíduos da raça branca.
- 12º) Também entre homens e mulheres da raça indígena foi encontrada significância na diferença do número médio de associações por célula. As mulheres apresentaram uma maior quantidade de associações por célula do que os homens. Esse efeito significativo não foi encontrado entre homens e mulheres da raça branca.

VI. BIBLIOGRAFIA CITADA

- ALFI, O. S. e G. N. DONNELL, 1972. Patterns of associations of acrocentric chromosomes studied by quinacrine fluorescence. Am. J. Hum. Genet., 24:10a.
- ANDRES, A. H. e B. V. JIV, 1936. Somatic chromosome complex of the human embryo. Cytologia, 7:371-388.
- ANDRES, A. H. e I. I. VOGEL, 1936. Karyologische studien der menschenovogenese. 1. Ebryonale ovogenese. Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat., 24:552-568.
- ANDRES, A. H. e M. S. NAVASHIN, 1936. Ein beitrag zur morphologisēhen analyse der chromosomen des menschen. Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat., 24:411-426.
- ARGATSUNI, K. B., 1967. Associações de cromossomos acrocêntricos em indivíduos de idade de 80-86 anos. Genetika, 6:79-85. (Em russo).
- ARNOLD, J., 1879. Veber feinere struktur der zellen unter normalen und pathologischen bedingungen. Arch. Pathol. Anat. Physiol., 77:181-206.
- AULA, P. e H. von KOSKULL, 1976. Distribution of spontaneous chromosome breaks in human chromosomes. Hum. Genet., 32:143-148.

- AYMÉ, S., J. F. MATTEI, M. G. MATTEI, Y. AURRAN e F. GIRAUD, 1976. Nonrandom distribution of chromosome breaks in cultured lymphocytes of normal subjects. Hum. Genet., 31: 161-175.
- BACK, E. e K. D. ZANG, 1969. Quantitative studies on the arrangement of human metaphase chromosomes. II. Influence of the preparation technique on the association pattern of the acrocentric chromosomes. Cytogenetics, 8:304-314.
- BARDELEDEN (von), 1898. Weitere beiträge zur spermatogenese beim menschen. Jen. Z. Nat., 31.
- BARRAI, I., 1971. A raça humana vista por um geneticista. A Saúde do Mundo, págs. 3-9.
- BARTON, D. E., F. N. DAVID e M. MERRINGTON, 1965. The relative positions of the chromosomes in the human cell in mitosis. Ann. Hum. Genet., 29:139-146.
- BENDER, M. A., 1959. X-ray-induced chromosome aberrations in mammalian cells in vivo and in vitro. In Symposium on Immediate and Low Level Effects of Ionizing Radiations. Suppl. to Int. J. Rad. Biol., ed. by A. A. Buzzati-Traverso Taylor and Francis, Londres.
- BENN, P. A., 1976. Specific chromosome aberrations in senescent fibroblast cell lines derived from human embryos. Am. J. Hum. Genet., 28:465-473.
- BISHUN, N., J. MILLS, N. LLOYD, D. C. WILLIAMS e E. CRISTWOOD, 1972. Chromosomal satellite association in women using oral contraceptives and their progeny. Cytologia, 37: 639-642. (Citado por Cordeiro da Silva, 1977).
- BLOOM, A., P. ARCHER e A. AWA, 1967. Variation in the human chromosome number. Nature, 216:487-489.
- BLOOM, A. D., J. V. NEEL, K. W. CHOI, S. IIDA e N. CHAGNON, 1970. Chromosome aberrations among the Yanomama Indians. Proc. Natl. Acad. Sci., 66:920-927.
- BLOOM, A. D., J. V. NEEL, T. TSUCHIMOTO e K. MEILINGER, 1973. Chromosomal breakage in leukocytes of South American Indians. Cytogenet. Cell Genet., 12:175-185.

- BOCHKOV, N., V. KOZLOV, A. SEVANKAEV e M. ANTOCHSINA, 1966. Aberrações cromossômicas e perdas de cromossomos em células humanas "in vivo" e "in vitro". Genética Experimental, 2:90-93 (Em russo). (Citado por Mattevi, 1974).
- BOCHKOV, N., V. KOZLOV, P. PILOSOV e A. SEVANSKAEV, 1968. Nível de aberrações espontâneas dos cromossomos em cultura de leucócitos do homem. Genetika, 4:93-97. (Em russo). (Citado por Mattevi, 1974).
- BOGOMAZOV, E. A. e N. K. DORCHENKO, 1968. Associações de cromossomos acrocêntricos humanos e sua correlação com a idade dos indivíduos. Genetika, 7:167-169. (Em russo).
- BRANCA, A., 1910. Précis d'histologie. Vol. 1, Editora Bailière, Paris.
- BRINK, van, J. e A. NIENHAUS, 1962. Satellite associations and identification of the Y chromosome in man. Genetica, 33:45-51.
- CADOTTE, M. e D. FRASER, 1970. Etude de l'aneuploidie observée dans les cultures de sang et de moelle en fonction du nombre et de la longueur des chromosomes de chaque group et de l'âge et du sexe des sujets. L'Union Méd. Can., 99: 2003-2007.
- CAVALLI, I. J., F. A. MARÇALLO e N. FREIRE-MAIA, 1972. Estudos médicos e genéticos na população da Ilha dos Lençóis, Maranhão. IV. Aspectos citogenéticos. Ciên. e Cult. (Supl.), 24:178.
- CHANDRA, H. e D. HUNGERFORD, 1966. Chromosome studies of Todas of Southern India. Hum. Biol., 38:194-198.
- CHANG, C. P., 1959. Studies on the chromosomes of human oogonia. Japan J. Hum. Genet., 4:196-208.
- CHU, E. H. Y. e N. H. GILES, 1959. Human chromosome complements in normal somatic cells in culture. Am. J. Hum. Genet., 11:63-79.
- CHU, E. H. Y. e N. GILES, 1960. Types and frequencies of human chromosome aberrations induced by X-rays (in press) (Citado por Sax e Passano, 1961).

- COHEN, M. M. e M. W. SHAW, 1967. The association of acrocentric chromosomes in 1000 normal human male metaphase cells. Ann. Hum. Genet., 31:129-140.
- COOKE, P., 1971. Non-random participation of chromosomes 13, 14 and 15 in acrocentric associations. Humangenetik, 13:309-314.
- COOKE, P., 1972. Patterns of secondary association between the acrocentric autosomes of man. Chromosoma, 36:221-240.
- COON, S. C., S. M. GARN e J. B. BIRDSELL, 1950. Races, a Study of the Problems of Race Formation in Man. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois.
- CORDEIRO DA SILVA, R. M. P., 1977. Estudo das Associações de Cromossomos Acrocêntricos na Espécie Humana. Tese de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- COTTON, J. E., A. R. KAPLAN e S. ZSAKO, 1973. Acrocentric chromosomes in cultured leukocytes from mothers of children affected with the G_1 - trisomy syndrome. Am. J. Mental Defic., 78:249-254.
- COUNT, G. W., 1950. This is Race. Henry Schuman, Nova York.
- COURT BROWN, W., 1967. Human Population Cytogenetics. North-Holland Res. Monogr. Frontiers of Biol. Vol. 5, North-Holland Publishing Comp., Amsterdam
- COURT BROWN, W., K. BUCKTON, P. A. JACOBS, I. TOUGH, E. KUENSSBERG e J. KNOX, 1966. Chromosome Studies on Adults. Eugenics Laboratory Memoir Series, 42, Cambridge University Press.
- CUEVAS-SOSA, A., 1970. Human chromosomology: random association of acrocentrics. Genetica, 41:626-634.
- DARLINGTON, C. D. e A. HAQUE, 1955. Chromosomes of monkeys and men. Nature, 175:32.
- DENTON, T. E., W. M. HOWELL e J. V. BARRET, 1976. Human nucleolar organizer chromosomes: satellite associations. Chromosoma, 55:81-84.
- DOBZHANSKY, Th., 1973. Genética do Processo Evolutivo. Editora Polígono, São Paulo.

- DUESBERG, J., 1906. Sur le nombre des chromosomes chez l'homme. Anat. Anz., 28.
- DUNN, L. C. e Th. DOBZHANSKY, 1962. Herança, Raça e Sociedade. Livraria Pioneira Editora, São Paulo.
- EDWARDS, J. H., 1961. Chromosomal association in man. Lancet, ii:317-318.
- EDWARDS, J. H., D. G. HARNDEN; A. H. CAMERON, V. M. GROSSE e O. H. WOLFF, 1960. A new trisomic syndrome. Lancet, i: 787-789.
- ENGMANN, F. R., 1967. Satellite counts on mitotic chromosomes of monozygotic and dizygotic human twins. Lancet, ii: 1114-1116.
- ESPONDA, P. e G. GIMENEZ-MARTIN, 1972. Ultrastructural morphology of the nucleolar organizing region. J. Ultrastruct. Res., 39:509-519.
- ESPONDA, P. e G. GIMENEZ-MARTIN, 1974. Cytochemical aspects of the nucleolar organizer in Allium cepa microspores. Chromosoma, 45:203-213.
- ESPONDA, P. e G. GIMENEZ-MARTIN, 1975. Nucleolar organizer ultrastructure in Allium cepa. Chromosoma, 52:73-87.
- EVANS, H. M. e O. SWEZY, 1929. The chromosomes in man: sex somatic. Memb. Univ. Calif., 9:1-64.
- EVANS, H. J., R. A. BUCKLAND e M. L. PARDUE, 1974. Location of the genes coding for 18S and 28S ribosomal RNA in the human genome. Chromosoma, 48:405-426.
- FERGUSON-SMITH, M. A. e S. D. HANDMAKER, 1961. Observations on the satellited human chromosomes. Lancet, i:638-640.
- FERGUSON-SMITH, M. A. e S. D. HANDMAKER, 1963. The association of satellited chromosomes with specific chromosomal regions in cultured human somatic cells. Ann. Hum. Genet., 27:143-156.
- FITZGERALD, P. H. e C. McEWAN, 1977. Total aneuploidy and age-related sex chromosome aneuploidy in cultured lymphocytes of normal men and women. Hum. Genet., 39:329-337.

FLEMMING, W., 1882. Beiträge zur kenntniss der zelle und ihrer lebenserscheinungen. III. Arch. Mikroskop Anat. Entwicklungsmech., 20:1-86.

FLEMMING, W., 1898. Veber die chromosomenzahl beim menschen. Anat. Anz., 14:171-174.

FORD, C. E. e J. L. HAMERTON, 1956. The chromosomes of man. Nature, 178:1010-1023.

FORD, C. E., K. W. JONES, P. E. POLANI, J. C. DE ALMEIDA e J. H. BRIGGS, 1959. A sex chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's syndrome). Lancet, i: 711-713.

* *

FREIRE-MAIA, N., 1979. Brasil: Laboratório Racial. Editora Vozes, Rio de Janeiro.

FRØLAND, A. e M. MIKKELSEN, 1964. Studies on satellite associations in human cells. Hereditas, 52:248.

FUNAKI, K., S. MATSUI e M. SASAKI, 1975. Location of nucleolar organizers in animal and plant chromosomes by means of an improved N-banding technique. Chromosoma, 49:357-370.

GALÁN, E. DE, 1966. Age and chromosomes. Nature, 211: 1324-1325.

GALPERIN, H., 1968. Comparative study of the association of human acrocentric chromosomes in male and female mitoses. Cytogenetics, 7:447-454.

GALPERIN, H., 1969. Relative positions of homologous chromosomes or groups in male and female metaphase figures. Humangenetik, 7:265-274.

GOODMAN, R. M., N. S. FECHHEIMER, F. MILLER, R. MILLER e D. ZARTMAN, 1969. Chromosomal alterations in three age groups of human females. Am. J. Med. Sci., 258:26-33.

GOODPASTURE, C., S. E. BLOOM, T. C. HSU e F. E. ARRIGHI, 1976. Human nucleolus organizers: the satellites or the stalks? Am. J. Hum. Genet., 28:559-566.

GUYER, M. F., 1909. Accessory chromosome in man. Bull. Biol., 19.

* *

FREIRE-MAIA, N., F. LAYNES DE ANDRADE, A. DE ATHAYDE NETO, I. J. CAVALLI, J. C. OLIVEIRA, F. A. MARCALLO e A. COELHO, 1978. Genetic investigations in a northern brazilian island. II. Random drift. Hum. Hered., 28: 401-410.

- HAMERTON, J. L., 1961. Sex chromatin and human chromosomes. Intern. Rev. Cytol., 12:1-68.
- HAMERTON, J. L., A. TAYLOR, R. ANGELL e V. McGUIRE, 1965. Chromosome investigations of a small isolated human population: chromosome abnormalities and distribution of chromosome counts according to age and sex among the population of Tristan da Cunha. Nature, 206:1232-1234.
- HANSEMANN, D., 1891. Veber pathologische mitosen. Arch. Pathol. Anat. Physiol., 123:356-370.
- HANSSON, A., 1970. The influence of culture method on the satellite association pattern in human lymphocytes: macroculture versus microculture. Hereditas, 66:31-34.
- HARNDEN, D. S., 1961. The chromosomes. In Penrose, L. S. ed. Recent Advances in Human Genetics. Churchill, Londres.
- HELM, C. M. V., 1974. A Integração do Índio na Estrutura Agrária do Paraná: O caso Kaingãng. Tese de Livre Docência, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- HELTNE, P. G. e S. SINGER, 1971. Cytogenetic studies in the Hottentot population: count distribution, report of a fragment and preliminary description of morphology. Am. J. Phys. Antropol., 34:1-34.
- HENDERSON, A. S., D. WARBURTON e K. C. ATWOOD, 1973. Ribosomal DNA connectives between human acrocentric chromosomes. Nature, 245:95-97.
- HIGURASHI, M. e P. E. CONEN, 1971. Comparison of chromosomal behavior in cultured lymphocytes and fibroblasts from patients with chromosomal disorders and controls. Cytogenetics, 10:273-285.
- HOEHN, H., M. NAGEL e W. KRONE, 1971. In vitro alteration of association patterns of human chromosomes. Humangenetik, 11:146-154.
- HONDA, T., N. KAMADA e A. BLOOM, 1969. Chromosome aberrations and culture time. Cytogenetics, 8:117-124.

- HOOK, E., K. HEALY, M. POWERS e N. HATCHER, 1972. A pilot screening study of chromosome breakage in cultured blood cells from newborn infants. Mut. Res., 16:428-430.
- HOWELL, W. M., T. E. DENTON e J. R. DIAMOND, 1975. Differential staining of the satellite regions of human acrocentric chromosomes. Experientia, 31:260-262.
- HSU, T. C., 1952. Mammalian chromosomes in vitro. 1. The karyotype of man. J. Hered., 43:167-172.
- HSU, T. C. e G. K. MANNA, 1959. High frequency of chromatid breaks in two in vitro cell populations. Am. Nat., 43:207-208.
- HSU, T. C., B. R. BRINKLEY e F. E. ARRIGHI, 1967. The structure and behavior of the nucleolus organizers in mammalian cells. Chromosoma, 23:137-153.
- HUNGERFORD, D., E. GILES e G. CREECH, 1965. Chromosome studies of Eastern New Guinea natives. Curr. Anthropol., 6:107-110.
- HUNGERFORD, D., S. MAKINO, M. SASAKI, A. AWA e G. BALADAN, 1969. Chromosome studies of the Ainu population of Hokkaido. Cytogenetics, 8:74-79.
- JACOBS, P. A., A. G. BAIKIE, W. M. COURT BROWN, D. N. MACGREGOR, M. MACLEAN e D. G. HARNDEN, 1959. Evidence for the existence of the human super female. Lancet, ii:423-425.
- JACOBS, P. A. e J. A. STRONG, 1959. A case of human intersexuality having a possible XXY sex determining mechanism. Nature, 183:302-303.
- JACOBS, P. A., W. COURT BROWN e R. DOLL, 1961. Distribution of human chromosome counts in relation to age. Nature, 191:1178-1180.
- JACOBS, P. A., M. BRUNTON, W. COURT BROWN, R. DOLL e H. GOLDSTEIN, 1963. Change of human chromosome count distribution with age: evidence for a sex difference. Nature, 197:1080-1081.

- JACOBS, P. A., M. BRUNTON e W. COURT BROWN, 1964. Cytogenetic studies on the general population: subjects of ages 65 years and more. Ann. Hum. Genet., 27:353-365.
- JACOBS, P. A. e W. COURT BROWN, 1966. Age and chromosomes. Nature, 212:823-824.
- JACOBS, P. A., M. MAYER e N. E. MORTON, 1976. Acrocentric chromosome associations in man. Am. J. Hum. Genet., 28:567-576.
- JARVIK, L., 1963. Senescence and chromosomal changes. Lancet, i:114-115.
- JARVIK, L. F., F. YEN, T. FU, S. S. MATSUYAMA, 1976. Chromosomes in old age: a six year longitudinal study. Hum. Genet., 33:17-22.
- JDANOVA, N. S., 1972. Associações de cromossomos acrocêntricos em linfócitos humanos. Citologia, 16:1098-1105. (Em russo).
- KADOTANI, T., K. OHAMA, T. NAKAYAMA, H. TAKAHARA e S. MAKINO, 1971. Chromosome aberrations in leucocytes of normal human adults from 49 couples. Proc. Japan Acad., 47:724-728.
- KALMINS, V. I., H. F. STICK e S. A. BENCOSME, 1964. Fine structure of the nucleolar organizer of salivary gland chromosome of chironomids. J. Ultrastruct. Res., 11:282-291. (Citado por Cordeiro da Silva, 1977).
- KEMP, T., 1930. Uber die somatischen mitosen bei menschen und warmblütigen tieren unter normalen und pathologischen verhältnissen. Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat., 11:429-444.
- KING, R. L. e H. W. BEANS, 1936. The sex chromosomes in man, with particular reference to the first spermatocyte. Anat. Rec., 65:165-175.
- KIRSCH-VOLDERS, M., L. HENS, C. SUSANNE e H. GALPERIN-LEMAITRE, 1977. Stability of centromere-center distances in normal human metaphases. Cytogenet. Cell Genet., 18:61-74.
- KODANI, M., 1957a. Three diploid chromosome numbers of man. Proc. Natl. Acad. Sci., 43:285-292.

- KODANI, M., 1957b. The karyotype of man with the diploid chromosome number of 48. Cytologia Suppl. Vol., 103-107.
- KODANI, M., 1958a. Three chromosome numbers in Whites and Japanese. Science, 127:1339-1340.
- KODANI, M., 1958b. The supernumerary chromosome of man. Am. J. Hum. Genet., 10:125-140.
- KOLLER, P. C., 1937. The genetical and mechanical properties of sex chromosomes. III. Man. Proc. Roy. Soc. Edinb., B57:194-214.
- LACOUR, L. F., 1944. Mitosis and cell differentiation in the blood. Proc. Roy. Soc. Edinb., B62:73-85.
- LEJEUNE, J., 1959. Le mongolisme. Premier exemple d'aberration autosomique humaine. Ann. Génét., 1:41-49.
- LEJEUNE, J., J. LAFOURCADE, R. BERGER, J. VIALATTE, M. BOESWILLWALD, P. SERINGE e R. TURPIN, 1963. Trois cas de délétion partielle du bras court d'un chromosome 5. C. R. Acad. Sci., 257:3098-3102.
- LEVAN, A. e T. C. HSU, 1959. The human idiogram. Hereditas, 45:665-674.
- LIEM, S. L., T. E. DENTON e K. M. CHENG, 1977. Distribution patterns of satellite associations in human lymphocytes relative to age and sex. Clin. Genet., 12:104-110.
- LITTLEFIELD, L. G. e K-O. GOH, 1973. Cytogenetic studies in control men and women. I. Variations in aberrations frequencies in 29,709 metaphases from 305 cultures obtained over a three-year period. Cytogenet. Cell Genet., 12:17-34.
- LUBININ, N. I., I. L. GOLDMAN, V. M. ZOLOTAREV e E. L. IOFA, 1966. Distribuição dos cromossomos acrocêntricos na área do núcleo celular de tecido somático humano. Citologia, 8:178-187. (Em russo).
- LUBS, H. e J. SAMUELSON, 1967. Chromosome abnormalities in lymphocytes from normal human subjects. Cytogenetics, 6:402-411.

- LUBS, H. A. e F. H. RUDDLE, 1971. Chromosome polymorphism in American Negro and White populations. Nature, 233:134-136.
- MAKINO, S. e M. SASAKI, 1961. A study of somatic chromosomes in a Japanese population. Am. J. Hum. Genet., 13:47-63.
- MATTEVI, M. S., 1974. Efeitos da Senescência no Cariótipo Humano. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- MATTEVI, M. S. e F. M. SALZANO, 1975. Effect of sex, age and cultivation time on number of satellites and acrocentric association in man. Humangenetik, 29:265-270.
- MEIST, H., 1971. Strukturelle chromosomenaberrationen in den lymphozyten gesunder probanden unter dem einfluss verschiedener kulturbedingungen. Acta Genet. Med. Gemellool., 20:174-188.
- MERRINGTON, M. e L. S. PENROSE, 1964. Distances which involve satellited chromosomes in metaphase preparations. Ann. Hum. Genet., 27:257-259.
- MIELER, W., 1967. Die artefaktrate bei chromosomen analysen. Kinderheilkunde, 22:2234-2235.
- MILLER, O. J., B. B. MUKHERJEE e W. R. BREG, 1962. Section of biological and medical sciences. I. Normal variations in the human karyotype. Trans. N. Y. Acad. Sci., 24:372-382.
- MITELMAN, F. e J. WADSTEIN, 1978. Chromosome aberrations in chronic alcoholics. Lancet, i:216.
- MITTWOCH, V., 1952. The chromosome complement in a mongolian imbecile. Ann. Eugen., 17:37.
- MONSALVE, M. V., 1974. Diferença no Comprimento do Cromossomo Y entre Italianos e Japoneses. Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- MOORE, J. E. S. e G. ARNALD, 1906. On the constancy of form among the synaptic-gemini (heterotype chromosomes) in certain animals. Proc. Roy. Soc. Lond., 77.

- MOREIRA NETO, C. DE A., 1971. Alguns dados para a história recente dos Índios Kaingãng. In La Situación del Indígena en América del Sur. Tierra Nueva, Montevideo.
- MOTA, M. E. G. DE M. E., 1964. Os cromosomas do homem-revisão histórica. Brotéria, 33:3-16.
- MOURIQUAND, C., C. GILLY, J. PATET e P. JALBERT, 1967. Étude de 1000 caryotypes chez des sujets non irradiés. C. R. Séances Soc. Biol., 161:341-347.
- MUTCHINICK, O. M., 1976. Estudo Comparativo das Associações dos Cromossomos Acrocêntricos do Grupo G em Indivíduos de Alto e Baixo Risco para Não Disjunção. Tese de Doutoramemto, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- NAKAGOME, Y., 1969. DNA replication studies of human D-group chromosomes in satellite associations. Cytogenetics, 8: 296-303.
- NAKAGOME, Y., 1973. G-group chromosomes in satellite associations. Cytogenet. Cell Genet., 12:336-341.
- NANKIN, H. R., 1970. In vitro alteration of satellite association and nucleolar persistence in mitotic human lymphocytes. Cytogenetics, 9:42-51.
- NANKIN, H. R., 1971. Satellite association in human lymphocytes and sodium citrate concentration of hypotonic (spreading) solution. Canad. J. Genet. Cytol., 13:115-118.
- NAVASHIN, S., 1912. On the nuclear dimorphism of somatic cells of Galtonia candicans. Bull. Acad. Isnp. Sci. St. Petesburg, 6:373. (Em russo). (Citado por Ferguson-Smith e Handmaker, 1963).
- NEEL, J. V. e W. J. SCHULL, 1954. Human Heredity. Univ. Chicago Press, Chicago.
- NEURATH, P., K. DEREMER, B. BELL, L. JARVIK e T. KATO, 1970. Chromosome loss compared with chromosome size, age and sex of subjects. Nature, 225:281-282.
- OBE, G., 1971. Inter-und intrachromosomale verteilung spontaner achromatischer läsionen und chromotidbrüche. Chromosoma, 33:403-408.

- OHNO, S., J. M. TRUJILLO, W. D. KAPLAN e R. KINOSITA, 1961. Nucleolus-organisers in the causation of chromosomal anomalies in man. Lancet, ii:123-126.
- O'RIORDAN, M., E. BERRY e I. TOUGH, 1970. Chromosome studies on bone marrow from a male control population. Brit. J. Haemat., 19:83-90.
- PAINTER, T. S., 1921. The Y-chromosome in mammals. Science, 53:503-504.
- PAINTER, T. S., 1923. Studies in mammalian spermatogenesis. II. The spermatogenesis of man. J. Exp. Zool., 37:291-335.
- PATAU, K., D. W. SMITH, E. THERMAN, S. L. INHORN e H. P. WAGNER, 1960. Multiple congenital anomaly caused by an extra autosome. Lancet, i:790-793.
- PATIL, S. R. e H. A. LUBS, 1971. Non-random association of human acrocentric chromosomes. Humangenetik, 13:157-159.
- PETERSEN, G. B. e A. J. THERKELSEN, 1961. Observations on satellite human chromosomes. Lancet, i:1229.
- PROKOFIEVA-BELGOVSKAIA, A. A., 1966. A natureza das associações de cromossomos acrocêntricos no homem. Citologia, 8:169-178. (Em russo).
- PROKOFIEVA-BELGOVSKAYA, A. A., V. M. GINDILIS, K. N. GRIMBERG, E. A. BOGOMASOV, O. A. PODUGOLNIKOVA, I. I. ISAEVA, S. I. RADJABLI, S. P.H. CELLARIUS e I. V. VESCHNEVA, 1968. Association of acrocentric chromosomes in relation to cell type and age of individuals. Exp. Cell Res., 49:612-625.
- PUCK, T. T., 1958. Action of radiation on mammalian cells. III. Proc. Natl. Acad. Sci., 44:772-780.
- RAFFERTY, K. A. e R. W. SHERWIN, 1969. The length of secondary chromosomal constrictions in normal individuals and in a nucleolar mutant of Xenopus Laevis. Cytogenetics, 8:427-438.
- RIBEIRO, D., 1956. Convívio e contaminação - efeitos dissociativos da depopulação provocada por epidemias em grupos indígenas. Sociologia, 18:3-50.

- RIBEIRO, D., 1957. Culturas e línguas indígenas do Brasil. Educação e Ciências Sociais, 2:5-102.
- RIBEIRO, L. R., I. J. CAVALLI, E. FONTOURA Jr., I. J. SBALQUEIRO, N. A. MAIA e E. C. N. MUNIZ, 1977. Estudo do tamanho do cromossomo Y de índios. Ciên. e Cult. (Supl.), 29:727.
- RITOSSA, F. M. e S. SPIEGELMAN, 1965. Localization of DNA complementary to ribosomal RNA in the nucleolus-organizer region of Drosophila melanogaster. Proc. Natl. Acad. Sci., 53:737-745.
- RODRIGUES, A. D. A., 1971. Língua. In Grande Enciclopédia Delta-Larousse. Editora Delta, Rio de Janeiro.
- ROSENKRANZ, W. e S. HOLZER, 1972. Satellite association. A possible cause of chromosome aberrations. Humangenetik, 16:147-150.
- SACHS, L., 1954. Sex-linkage and the sex chromosomes in man. Ann. Eugen., 18:255-261.
- SALZANO, F. M., 1975. Padrões de variação biológica e cultural em índios sul-americanos. Ciên. e Cult., 27:1202-1208.
- SALZANO, F. M., 1976. Cultura, estrutura populacional e variabilidade genética em índios sul-americanos. Interciência, 1:155-158.
- SALZANO, F. M. e N. FREIRE-MAIA, 1967. Populações Brasileiras. Companhia Editora Nacional, São Paulo.
- SALZANO, F. M. e N. FREIRE-MAIA, 1970. Problems in Human Biology. Wayne State University Press, Detroit.
- SALZANO, F. M., J. P. WOODALL, F. L. BLACK, L. R. WEITKAMP e M. HELENA L. P. FRANCO, 1974. Blood groups, serum proteins and hemoglobins of Brazilian Tiriyo Indians. Hum. Biol., 46:81-87.
- SALZANO, F. M., J. V. NEEL, H. GERSHOWITZ e E. C. MIGLIAZZA, 1977. Intra and intertribal genetic variation within a linguistic group: the Ge-speaking Indians of Brazil. Am. J. Phys. Anthrop., 47:337-348.

- SAMOSH, L. V., 1974. Chromosome aberration and character of satellite associations under causal action of polychloro-camphene on the human organism. Tsitol. Genet., 8:24-27.
- SANDBERG, A., M. COHEN, A. RIMM e M. LEVIN, 1967. Aneuploidy and age in a population survey. Am. J. Hum. Genet., 19: 633-643.
- SAX, H. J. e K. N. PASSANO, 1961. Spontaneous chromosome aberrations in human tissue culture cells. Am. Nat., 95: 97-102.
- SCHULTZ, J. e P. St. LAWRENCE, 1949. A cytological basis for map of the nucleolar chromosome in man. J. Hered., 40: 31-38.
- SHAW, M. W., 1961. Association of acrocentric chromosomes with the centromere region of chromosome no. 1. Lancet, i: 1351-1352.
- SHAW, M. W., A. P. CRAIG e F. C. RICCIUTI, 1969. Random association of human acrocentric chromosomes. Am. J. Hum. Genet., 17:191-201.
- SPADARI, S., R. Di LERNIA, G. SIMONI, G. PEDRALI-NOY e L. DE CARLI, 1973. Localization of ribosomal RNA genes on human acrocentric chromosomes. Molec. Gen. Genet., 127:57-67.
- STARKMAN, M. N. e M. W. SHAW, 1967. Atypical acrocentric chromosomes in Negro and Caucasian mongols. Am. J. Hum. Genet., 19:162-173.
- TANTRAVAHU, R., D. A. MILLER, V. G. DEV e O. J. MILLER, 1976. Detection of nucleolus organizer regions in chromosomes of human, chimpanzee, gorilla, orangutan e gibbon. Chromosoma, 56:15-27.
- TJIO, J. H. e A. LEVAN, 1956. The chromosome number of man. Hereditas, 42:1-6.
- TJIO, J. H. e T. T. PUCK, 1958. The somatic chromosomes of man. Proc. Natl. Acad. Sci., 44:1229-1237.
- TJIO, J. H., T. T. PUCK e A. ROBINSON, 1960. The human chromosomal satellites in normal persons and in two patients with Marfan's syndrome. Proc. Natl. Acad. Sci., 46:532-539.

- TONOMURA, A., 1962. Spontaneous and induced chromatid aberrations in human cells cultivated in vitro. Nat. Inst. Genet., Anual Report, nº 13, 106-107.
- VASCONCELOS, Z. G. E., 1854. Relatório do Presidente da Província do Paraná, o Conselheiro Zacarias Goes de Vasconcellos, na abertura da Assembléia Legislativa Provincial em 15 de julho de 1854. (Citado por Helm, 1974).
- WARBURTON, D., K. C. ATWOOD e A. S. HENDERSON, 1976. Variation in the number of genes for rRNA among human acrocentric chromosomes: correlation with frequency of satellite association. Cytogenet. Cell Genet., 17:221-230.
- WHITEHOUSE, H. L. K., 1973. Towards and Understanding of the Mechanism of Heredity. Edwards Arnoud, 3a. edição, Londres.
- WIEMAN, H. L., 1917. The chromosomes of human spermatocytes. Am. J. Anat., 21:1-21.
- WIESEMANN, V., 1967. Introdução na Língua Kaingãng. Summer Institute of Linguistics (Citado por Helm, 1974).
- WILCOX, E. V., 1900. Human spermatogenesis. Anat. Anz. Bd., 17.
- WINIWARTER, H. DE, 1912. Etudes sur la spermatogénèse humaine. Arch. Biol., 27:91-189.
- YERGANIAN, G., 1957. Cytologic maps of some isolated human pachytene chromosomes. Am. J. Hum. Genet., 9:42-54.
- ZANG, K. D. e E. BACK, 1967. Individual satellite-association patterns. Lancet, ii:1423.
- ZANG, K. D. e E. BACK, 1968. Quantitative studies on the arrangement of human metaphase chromosomes. I. Individual features in the association pattern of the acrocentric chromosomes of normal males and females. Cytogenetics, 7: 455-470.