

5 DISCUSSÃO

5.1 Freqüências das mutações Δ F508, G542X, G551D, N1303K, W1282X e R553X nas quatro amostras populacionais normais coletadas no Maranhão

Dentre as seis mutações do gene CFTR, consideradas mais comuns no mundo (Δ F508, G542X, G551D, N1303K, W1282X e R553X; CFGAC, <http://www.genet.sickkids.on.ca>), apenas a deleção Δ F508 foi detectada em apenas duas das quatro amostras de indivíduos normais para a fibrose cística. Isso faz sentido, considerando-se a origem étnica desses grupos populacionais.

A população do Maranhão é formada pela mistura de três principais grupos étnicos: o índio, o europeu (representado preponderantemente pelo português) e o negro (LOPES, 1970). O isolado, ou melhor, o semi-isolado populacional de Santa Flor (Bequimão-MA) é constituído principalmente de indivíduos brancos, enquanto os outros dois, o do Pontal (Bequimão-MA) e o do Cajual (Alcântara-MA), têm uma população basicamente formada por negros, sendo estes remanescentes de quilombos.

As mutações G542X, G551D, N1303K, W1282X e R553X, apesar de serem as mais freqüentes depois de Δ F508, possuem freqüências relativas bem mais baixas e com prevalências específicas (TABELA 1; CFGAC, <http://www.genet.sickkids.on.ca>). Na Itália, as freqüências das mutações G542X e N1303K foram de 5% em uma triagem de pacientes com FC (RENDINE et al., 1997). Na Espanha, observa-se uma maior prevalência da mutação G542X (LOIRAT et al., 1997). Na TABELA 1, observa-se também que as mutações G551D, W1282X e R553X têm freqüências elevadas na Inglaterra, nos judeus-Ashkenazi e na Alemanha, respectivamente. Assim, a ausência dessas mutações nas amostras do presente trabalho seria explicada pelo fato de não termos ascendência característica de nenhuma dessas etnias.

Por outro lado, como em Portugal, a mutação Δ F508 ocorre com uma freqüência de 52,3% entre os cromossomos com FC (CFGAC, <http://www.genet.sickkids.on.ca>; PACHECO, comunicação oral) e, como o

português foi o principal representante do branco na nossa população, é de se esperar a ocorrência de indivíduos brancos normais heterozigotos para $\Delta F508$ em populações que tenham origem portuguesa. Segundo WEISS (1997), o Efeito do Fundador é uma forma de deriva que pode aumentar a frequência de alelos raros em uma população pequena, como a de um isolado. A elevada frequência de $\Delta F508$ em Santa Flor (5,4%) poderia então ser explicada pelo Efeito do Fundador, considerando-se que esse isolado populacional é descendente de portugueses.

Houve diferença estatisticamente significativa entre o isolado de Santa Flor e os miscigenados do Maranhão ($P=0,018 < 0,05$) e entre Santa Flor e o isolado do Pontal ($P=0,026 < 0,05$). Uma frequência menor nos indivíduos miscigenados (0,8%) se explicaria pela contribuição étnica do índio e do negro africano. Já a diferença entre Santa Flor e Pontal estaria relacionada à origem africana deste último.

Ainda sobre a origem portuguesa de Santa Flor, outras mutações mereceriam uma próxima investigação. Como anteriormente mencionado, as mutações R1066C, R334W, 3272-26A→G e A561E apresentam frequências significativas para os pacientes portugueses com FC (PACHECO, comunicação oral, <http://www.genet.sickkids.on.ca>).

5.2 Frequência da mutação 3120+1G→A nos isolados negróides do Pontal e do Cajual

A mutação 3120+1G→A tem sido considerada de origem africana (CARLES et al., 1996). Entretanto, PADOA et al. (1999), encontraram frequências muito baixas ou inexistentes dessa mutação em 1152 negros africanos normais para FC (TABELA 14). A comparação entre as amostras africanas e os negróides do Maranhão, nos quais não foi identificada essa mutação, não mostrou diferença significativa (teste exato de Fisher).

A ausência de indivíduos normais portadores da mutação 3120+1G→A nos remanescentes de quilombos poderia ser um reflexo da origem africana dos negros do Maranhão. A distribuição geográfica de algumas populações africanas (CAVALLI-SFORZA, 1996) e as diferentes correntes migratórias dos negros africanos para o Maranhão (LOPES, 1970; SANTOS, 1983; MEIRELES, 1994) talvez expliquem as frequências de

heterozigotos da mutação 3120+1G→A encontradas para algumas etnias africanas (TABELA 14).

Estudos de haplótipos ligados ao gene da Anemia Falciforme e ao loco da Síndrome do X Frágil têm confirmado a contribuição africana para o Brasil e, em particular, para esses dois isolados populacionais do Maranhão (MINGRONI-NETTO et al., 2000; SOUSA et al., 2000; PERNA et al., 2000). No isolado do Pontal, ocorrem os haplótipos bantu e senegal associados ao gene da hemoglobina S, sugerindo mais de uma etnia africana (PERNA et al., 2000). Dessa forma, a mistura de vários grupos africanos entre os remanescentes de quilombos pode ter contribuído para a não ocorrência da mutação 3120+1G→A.

5.3 Frequência do polimorfismo 4002A/G em indivíduos normais

BOMBIERI et al. (2000) encontraram o polimorfismo 4002A/G com uma frequência de 2,9% em 4 amostras populacionais, num total de 190 indivíduos normais da Europa (nordeste e centro da Itália, sul da França e Espanha). Esse polimorfismo foi detectado em todos os 4 grupos populacionais do Maranhão, mas com frequência aumentada em Pontal (TABELA 10). A análise das frequências entre as populações do Pontal (23,1%) e da Europa (2,9%) mostrou uma diferença significativa ($X^2=50,970$; $P < 0,05$), sugerindo que polimorfismo seja mais comum em populações negróides.

5.4 Frequências das mutações Δ F508, G542X, G551D, N1303K, W1282X e R553X em indivíduos com características sugestivas de fibrose cística

Na amostra de 21 indivíduos maranhenses e 19 paraenses, (brancos, miscigenados e negros), a frequência de Δ F508 foi de 7,1% (sendo um homozigoto e o outro heterozigoto) e 18,4% (dois homozigotos e três heterozigotos), respectivamente, enquanto para as mutações G542X, G551D, N1303K, W1282X e R553X, foi de 0%, talvez devido ao pequeno tamanho da amostra. A comparação entre os pacientes maranhenses e os paraenses não mostrou diferença significativa, portanto a frequência total de Δ F508 nessa amostra de suspeitos de FC foi de 12,5%.

A frequência de 12,5% de $\Delta F508$ entre os indivíduos com características sugestivas de FC está diminuída tanto em relação às populações caucasóides (66%), quanto à encontrada até então para os brasileiros com FC (48,8%; BERANARDINO et al., 2000). Várias são as hipóteses aqui levantadas. Uma seria a origem étnica da população do Maranhão e do Pará, como já visto anteriormente. Outra seria a falta de diagnóstico clínico dos pacientes com FC, isto é, os indivíduos com características sugestivas de FC estariam sendo subdiagnosticados ou diagnosticados incorretamente como FC.

RABBI-BORTOLINI et al. (1998), encontraram frequências muito baixas em uma amostra de suspeitos de FC do Espírito Santo ($\Delta F508$: 3%; G542X: 0,2%; R553X: 0,2% e W1282X: 0,2%). A ocorrência de G542X e R553X, por exemplo, estaria relacionada aos imigrantes italianos e alemães, respectivamente. Os autores também levantam a hipótese da falta de um diagnóstico correto da fibrose cística, considerando o baixo índice de detecção das mutações nos afetados.

O diagnóstico preciso de FC requer não só uma correta avaliação clínica, mas também testes positivos de suor. Tanto nas amostras do Maranhão e do Pará, quanto em outras amostras de pacientes brasileiros (FERRI, 1995; RABBI-BORTOLINI et al., 1998), alguns valores dos testes de suor foram limítrofes ou considerados negativos.

Outro fator importante é o momento em que o diagnóstico é realizado. Por causa da sua incidência, a fibrose cística vem sendo considerada uma patologia de países desenvolvidos como os EUA, Canadá, e os países europeus (principalmente os da região noroeste da Europa; CFGAC, <http://www.genet.sickkids.on.ca>). Por isso, no Brasil, assim como em outros países em desenvolvimento ou mesmo subdesenvolvidos, não se considera relevante a FC, o que contribui para o atraso no diagnóstico. O diagnóstico tardio, assim como a sua falta, faz com que muitos dos afetados venham a óbito antes que pudessem ser analisados molecularmente (SPENCER et al., 1993; FERRI, 1995; RABBI-BORTOLINI et al., 1998).

O resultado deste trabalho, considerando-se a contribuição portuguesa, tanto no Maranhão quanto no Pará, sugere que pacientes com FC, de origem maranhense ou paraense, sejam analisados também

para as mutações R1066C, R334W, 3272-26A→G e A561E do gene CFTR (CFGAC, <http://www.genet.sickkids.on.ca>, PACHECO, comunicação oral).

5.5 Comparação entre os indivíduos normais e os com características sugestivas de Fibrose Cística

A comparação da frequência de $\Delta F508$ entre os grupos normais e a da amostra de suspeitos de FC mostra uma semelhança entre esta última e Santa Flor (comunidade descendente de portugueses). Por isso, considera-se importante a triagem dessa mutação nesses caucasóides maranhenses, para fins de aconselhamento genético.

Apesar da baixa frequência de $\Delta F508$ na população miscigenada e na de suspeitos de FC quando comparada com a população mundial e com outras amostras brasileiras, essa mutação tem importância na triagem de pacientes maranhenses e paraenses, pois os indivíduos que tiveram diagnósticos clínicos mais conclusivos apresentaram a deleção.

A frequência do polimorfismo 4002A/G foi semelhante entre os suspeitos de FC, os isolados de Santa Flor e Cajual e os miscigenados do Maranhão, estando aumentada em Pontal. A análise dessas frequências mostrou que Pontal é estatisticamente diferente ($P=0,000 < 0,05$). O porquê disso poderia estar relacionado à origem étnica, pois na amostra do Pontal, todos os indivíduos são negros e normais para FC. Entretanto, outros estudos são necessários para um melhor entendimento desse polimorfismo.

6 RESUMO E CONCLUSÕES

Neste trabalho, realizou-se a análise molecular do gene CFTR em indivíduos com e sem características sugestivas de fibrose cística (FC), em diferentes grupos populacionais do Estado do Maranhão e do Pará, com o objetivo de determinar a frequência das mutações $\Delta F508$, G542X, G551D, N1303K, W1282X e R553X, consideradas as mais comuns do gene CFTR, e do polimorfismo 4002A/G (localizado no exon 20, o mesmo da mutação W1282X). Em dois isolados afro-brasileiros verificou-se, também, a frequência da mutação 3120+1G→A, cuja prevalência está aumentada em populações de origem africana.

A frequência da deleção $\Delta F508$ foi de 0,8%, enquanto a das mutações G542X, G551D, N1303K, W1282X e R553X foi de 0% entre os 180 indivíduos da população miscigenada do Maranhão. Nessa amostra, a frequência do polimorfismo 4002A/G foi de 8,3%, tendo sido encontrado tanto em heterozigose (24) quanto em homozigose (03).

Entre os 37 indivíduos de origem caucasóide (ascendência portuguesa) do isolado populacional de Santa Flor (Bequimão-MA), $\Delta F508$ teve uma frequência de 5,4%. Nenhuma das outras 5 mutações foi identificada nessa amostra. Quanto ao polimorfismo 4002A/G, a frequência foi de 4,1%, tendo ocorrido apenas em heterozigose.

Nenhuma das 6 mutações mais comuns do gene CFTR foi detectada nos remanescentes de quilombos do Pontal (54 indivíduos) e do Cajual (39 indivíduos), assim como a mutação 3120+1G→A também não foi encontrada entre esses negróides do Maranhão. Já o polimorfismo 4002A/G teve uma frequência de 23,15% no Pontal e de 9% no Cajual.

A comparação das frequências da mutação $\Delta F508$ nos 4 grupos (população miscigenada do Maranhão; Santa Flor-Bequimão, MA; Pontal-Bequimão, MA; Cajual-Alcântara, MA) mostra diferenças significativas entre a amostra tri-híbrida e os caucasóides de Santa Flor, e entre estes e os negróides do Pontal. Essa elevada frequência de $\Delta F508$ em Santa Flor pode ser explicada pelo princípio do Efeito do Fundador, considerando-se que este isolado populacional é descendente de portugueses. Uma frequência menor nos indivíduos miscigenados seria devida à contribuição étnica do índio e do negro africano.

Considerando-se a origem étnica da população do Maranhão e dos isolados populacionais aqui estudados, não é surpreendente que as mutações G542X, G551D, N1303K, W1282X e R553X não tenham sido identificadas na população normal.

Uma possível explicação para a ausência da mutação 3120+1G→A nos remanescentes de quilombos seria a região africana da qual vieram os negros para o Maranhão.

Na amostra de 21 pacientes maranhenses e 19 paraenses, (brancos, miscigenados e negros), a frequência de Δ F508 foi de 7,1% (sendo um homozigoto e o outro heterozigoto) e 18,4% (dois homozigotos e três heterozigotos), respectivamente, enquanto a das mutações G542X, G551D, N1303K, W1282X e R553X foi de 0%. A ausência dessas mutações nos afetados é compatível com os achados populacionais.

A comparação entre os indivíduos maranhenses e os paraenses não mostrou diferença significativa, portanto a frequência total de Δ F508 nessa amostra de suspeitos de FC foi de 12,5%. Esta frequência está diminuída tanto em relação às populações caucasóides (66%), quanto à encontrada até então para os brasileiros com FC (48,8%). As causas disso seriam: a origem étnica dessa amostra; os pacientes com FC estariam sendo subdiagnosticados ou diagnosticados incorretamente como FC.

A comparação da frequência de Δ F508 entre os grupos normais e a da amostra de suspeitos de FC mostra uma semelhança entre esta última e Santa Flor (comunidade descendente de portugueses). Considera-se importante, então, a triagem dessa mutação nesses dois grupos para diagnóstico e aconselhamento genético em famílias com afetados.

Além disso, apesar da baixa frequência de Δ F508 na população miscigenada e na de suspeitos de FC, ela tem importância na triagem de pacientes maranhenses e paraenses, pois os indivíduos que tiveram um diagnóstico mais conclusivo apresentaram a mutação.

O polimorfismo 4002A/G foi detectado em todas amostras de indivíduos normais para FC, mas tem frequência aumentada em Pontal, inclusive quando se compara a frequência de Pontal (23,1%) com a da

Europa (2,9%). Talvez esse polimorfismo seja mais comum em populações negróides.

Entre os pacientes maranhenses e paraenses, o polimorfismo 4002A/G teve freqüências respectivas de 2,4% e 5,3%. Como as duas amostras são estatisticamente semelhantes, a freqüência total foi de 3,7%.

A análise estatística mostrou que as freqüências do polimorfismo 4002A/G foi semelhante entre todos os grupos analisados, com exceção de Pontal, onde a freqüência dessa variante encontra-se aumentada. A origem étnica e a ausência de FC poderiam explicar esta diferença. Na amostra do Pontal, todos os indivíduos são negros e normais para FC.

Com base nesses dados, pode-se concluir que:

- a) Para pacientes com FC nascidos nos Estados do Maranhão e do Pará ou de origem étnica semelhante, a mutação $\Delta F508$ deve constar da análise molecular do gene CFTR;
- b) Mutações específicas nessa população devem ser investigadas, contribuindo, assim, para o aconselhamento genético e diagnóstico pré-natal de casais em risco;
- c) Em isolados como o de Santa Flor, a triagem de heterozigotos normais para $\Delta F508$ é fundamental, dada a sua elevada freqüência;
- d) Outros estudos de freqüência da mutação $3120+1G \rightarrow A$ devem ser realizados em populações de origem afro-brasileira, assim como para o polimorfismo 4002A/G.

ABSTRACT

The present study aimed the molecular analysis of the CFTR gene in individuals with/without possible characteristics of Cystic Fibrosis (CF), in different population groups from Maranhão and Pará State, with the objective of determining the frequency of $\Delta F508$, G542X, G551D, N1303K, W1282X and R553X, the most common mutations of CF gene as well as the 4002A/G polymorphism (localized at exon 20, the same from the W1282X mutation). The mutation frequency of 3120+1G→A in two Afro-Brazilian isolated groups which is increased in African populations was also assessed.

The frequency of the $\Delta F508$ deletion was 0,8% while the frequency of the G542X, G551D, N1303K, W1282X and R553X mutations was 0% among 180 individuals of the mixed population from Maranhão State. In this sample, the frequency of the 4002A/G polymorphism was 8,3%, 24 in heterozygosity and 3 in homozygosity.

Among 37 Caucasian individuals (Portuguese ancestry) of the isolated population group from Santa Flor (Bequimão-MA), the $\Delta F508$ frequency was 5,4%. The five other mutations were not found in this sample. The frequency of the 4002A/G polymorphism, was 4,1%, but just in heterozygosity.

The six most common mutations of CF gene were not detected in the remaining groups of Africans (quilombos) from Pontal (54 individuals) and from Cajual (39 individuals). The 3120+1G→A mutation in these groups from Maranhão State was not detected either. On the other hand, the polymorphism 4002A/G had a frequency of 23,15% in Pontal and 9% in Cajual.

The comparison between the frequencies of the $\Delta F508$ mutation in the 4 groups (from the mixed population from Maranhão; Santa Flor – Bequimão, MA; Pontal – Bequimão, MA; Cajual – Alcântara, MA) showed statistically significant differences between the tri-hybrid sample and the Caucasians from Santa Flor and between those and the Africans from Pontal. The high frequency of $\Delta F508$ at Santa Flor could be explained by a Founder Effect if it is considered as an isolated population of Portuguese

descent. The lower frequency in the mixed population could be explained by the ethnic contribution of Indians and Africans.

Taking into account the ethnic origin of the population from Maranhão and also from the other studied isolated population groups it will not be surprising that the G542X, G551D, N1303K, W1282X and R553X mutations were not present.

A possible explanation for the absence of the 3120+1G→A mutation among the quilombos could be the origin of our African population.

In the sample of 21 patients from Maranhão and 19 from Pará (Caucasians, Africans and the mixed groups), the frequency of $\Delta F508$ was 7,1% (one homozygote and one heterozygote) and 18,4% (two homozygotes and three heterozygotes), respectively, while no G542X, G551D, N1303K, W1282X or R553X mutations was found. The comparison between subjects from Maranhão and Pará did not show significant differences, therefore, the total frequency of $\Delta F508$ in this sample of individuals with a suggestive diagnosis of the CF was 12,5%.

The frequency of 12,5% of $\Delta F508$ among individuals with possible diagnosis of the CF has decreased in relation to Caucasian population and also among other Brazilian CF affected patients. The possible explanation could be the ethnic origin of this sample and/or that the individuals affected by CF might have been underdiagnosed or misdiagnosed.

The frequency of $\Delta F508$ in normal groups and patients with a suggestive diagnosis of CF was similar between the latter and Santa Flor (community of Portuguese descent). Therefore, it is important the screening of this mutation among Caucasians from Maranhão for diagnosis and genetic counseling.

In addition, despite the low frequency of $\Delta F508$ in the mixed population and in the individuals with a suggestive diagnosis of CF, screening them is very important, because the individuals that had the mutation were those who had typical characteristics of CF.

The 4002A/G polymorphism was detected in normal groups, but its frequency was increased in Pontal, particularly if when the frequency

of Pontal (23,1%) is compared with Europe (2,9%). It suggests that this polymorphism is more common in Africans.

In the patients from Maranhão and Pará the frequencies of this polymorphism were 2,4% e 5,3%, respectively, with no statistically significant differences. The total frequency was 3,7%.

The frequencies of the 4002A/G polymorfism were similar among the individuals with a possible diagnosis of CF, and among Santa Flor and Cajual, except Pontal, probably due to their ethnic origin.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELIOVICH, D.; LAVON, I. P.; LERER, COHEN, T.; SPRINGER, C.; AVITAL, A.; CUTTING, G. R. Screening for five mutations detects 97% of cystic fibrosis (CF) chromosomes and predicts a carrier frequency of 1:29 in the Jewish Ashkenazi population. **American Journal of Human Genetics**, v. 51, p. 951-956, 1992.

BARRETO, C. **Povoamento e população**: política populacional brasileira. 2. ed. Rio de Janeiro : J. Olympio, 1959.

BEIGUELMAN, B. **Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações**. Ribeirão Preto, 1994.

BERNARDINO, A. L. F.; FERRI, A.; PASSOS-BUENO, M. R.; KIM, C. E. A.; NAKAIE, C. M. A.; GOMES, C. E. T.; DAMACENO, N.; ZATZ, M. Molecular analysis in brazilian cystic fibrosis patients reveals five novel mutations. **Genetic Testing**, v. 4, p. 69-74, 2000.

BOAT, T. F.; WELSH, M. J.; BEAUDET, A. L. Cystic fibrosis. In: SCRIVER, C. R.; BEAUDET, A. L.; SLY, W. S.; VALLE, D.(Ed.). **The metabolic basis of inherited disease**, 6. ed. New York : McGraw-Hill, 1989. v. 2, p. 2649-2680.

BOMBIERI C.; GIORGI S.; CARLES S.; CID, R. de, BELPINATI F.; TANDOI C.; PALLARES-RUIZ, N.; LAZARO, C.; CIMINELLI, B. M.; ROMÉY, M. C.; CASALS, T.; POMPEI, F.; GANDINI, G.; CLAUSTRES, M.; ESTIVILL, X.; PIGNATTI, P.; FRANCO, MODIANO, G. A new approach for identifying non-pathogenic mutations. An analysis of the cystic fibrosis transmembrane regulator gene in normal individuals. **Human Genetics**, v. 106, p. 172-178, 2000.

CARLES, S.; DESGEORGES, M.; GOLDMAN, A. et al. First report of CFTR mutations in black cystic fibrosis patients of southern african origin. **Journal of Medical Genetics**, v. 33, p.802-4, 1996.

CARNEIRO DA CUNHA, M. Introdução a uma história indígena. In: **História**

dos Índios do Brasil. São Paulo : Companhia das Letras, 1992. v. 1, p. 9-24.

CASALS, T.; VÁZQUEZ, C.; LÁZARO, C.; GIRBAU, E.; GIMÉNEZ, F. J.; ESTIVILL, X. Cystic fibrosis in the basque country: high frequency of mutation $\Delta F508$ in patients of basque origin. **American Journal of Human Genetics**, v. 50, p. 404-410, 1992.

CASTALDO, G.; FUCCIO, A.; CAZENEUVE, C.; PICCI, L.; SALVATORE, D.; RAIÁ, V.; SCARPA, M.; GOOSSENS, M.; SALVATORE, F. Detection of five rare cystic fibrosis mutations peculiar to Southern Italy: implications in screening for the disease and phenotype characterization for patients with homozygote mutations. **Clinical Chemistry**, v. 45, n. 7, p. 957-962, 1999.

CAVALLI-SFORZA, L. L.; MENOZZI, P.; PIAZZA, A. **The history and geography of human genes.** Chichester : Princeton University Press, 1996.

CRUZ, E. **História do Pará.** Belém : Governo do Estado do Pará, 1973.

DODGE, J. A.; BROCK, D. J. H.; WIDDICOMBE, J. H. **Cystic fibrosis: current topics.** New York : John Wiley & Sons, 1994.

ERRERA, F. I. V.; ALECRIM, O.; BERNARDINO, A. L.; RABBI-BORTOLINI, E. Estudo da mutação $\Delta F508$ em indígenas do Espírito Santo. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 617, 2000. Supplement.

ESTIVILL, X. Complexity in a monogenic disease. **Nature Genetics**, v. 12, p. 348-350, 1996.

EUROPEAN WORKING GROUP ON CYSTIC FIBROSIS GENETICS (EWGCFG). Gradient of distribution in Europe of the major CF mutation and of its associated haplotype. **Human Genetics**, v. 85, p. 391-445, 1990.

FÉREC, C.; AUDREZET, M. P.; MERCIER, B.; GUILLERMIT, H.; MOULLIER, P.; QUERE, I.; VERLINGUE, C. Detection of over 98% cystic fibrosis mutations in a celtic population. **Nature Genetics**, v. 1, p. 1880-1891, 1992.

FÉREC, C.; VERLINGUE, C.; PARENT, P.; MORIN, J. F.; CODET, J. P.; RAULT,

G.; DAGORNE, M.; LEMOIGNE, A.; JOURNEL, H.; ROUSSEY, M.; LE MAREC, B.; CATHELIN, M.; AUDRÉZET, M. P.; MERCIER, B. Neonatal screening for cystic fibrosis: result of a pilot study using both immunoreactive trypsinogen and cystic fibrosis gene mutation analyses. **Human Genetics**, v. 96, p. 542-548, 1995.

FERRI, A. da S. **Estudo de mutações do gene da fibrose cística em indivíduos normais e afetados da população brasileira**. 1995. Dissertação. (Mestrado em Ciências Biológicas Área Biologia/Genética) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

FITZSIMMONS, S. C. The changing epidemiology of cystic fibrosis. **Journal of Pediatric**, v. 122, p. 1-9, 1993.

FONTELO, P. Protection against cholera. **Science**, v. 267, 1995.

FRIEDMAN, K. J., SILVERMAN, L. M. Cystic fibrosis syndrome: a new paradigm for inherited disorders and implications for molecular diagnostics. **Clinical Chemistry**, v. 45, n. 7, p. 929-931, 1999.

GABRIEL, S. E.; BRIGMAN, K. N.; KOLLER, B. H.; BOUCHER, R. C., STUTTS, M. J. Cystic fibrosis heterozygote resistance to cholera toxin in the cystic fibrosis mouse model. **Science**, v. 266, p. 107-109, 1994.

HAMOSH, A.; FITZSMMONS, S. C.; MACEK JR, M.; KNOWLES, M. R.; ROSENSTEIN, B. J.; CUTTING, G. R. Comparison of the clinical manifestation of cystic fibrosis in black and white patients. **Journal of Pediatric**, v. 132, p. 255-9, 1998.

HARRIS, A.; SUPER, M. **Cystic fibrosis: the facts**. 3. ed. New York : Oxford University Press, 1995.

HEALEY, F. , WATSON, D.; Cystic fibrosis-its biochemical detection. **Clinical Chemistry**, v. 29, p. 2011-2018, 1983.

HÖGENAUER, C.; ANA, C. A. S.; PORTER, J. L.; MILLARD, M.; GELFAND, A.; ROSENBLATT, R. L.; PRESTIDGE, C. B.; FORDTRAN, J. S. Active intestinal chloride secretion in human carriers of cystic fibrosis mutations: an evaluation of the hypothesis that heterozygotes have subnormal active intestinal chloride secretion. **American Journal of Human Genetics**, v.

67, p. 1422-1427, 2000.

HUBBARD, R. C.; MCELVANEY, N. G.; BIRRER, P.; SHAK, S.; ROBINSON, W. W.; JOLLEY, C.; WU, M.; CHERNICK, M. & CRYSTAL, R. G. A preliminary study of aerosolized recombinant human desoxyribonuclease I in the treatment of cystic fibrosis. **New England Journal of Medicine**, v. 326, p.812-815, 1992.

JÉZÉQUEL, P.; CHAUVEL, B.; LE TREUT, A.; LE GALL, J. Y.; DAVID, V.; LE LANNOU, D.; BLAYAU, M. Identification of a novel mutation in CFTR gene exon 8 (L375F) in a CUAVD phenotype. **Human Genetics**, v. 97, p.548-549, 1996.

JINKS, D. C.; MINTER M.; TARVER D. A.; VANDERFORD M.; HEJTMANCIK, J. F.; MCCABE, E. R. B. Molecular genetic diagnosis of sickle cell disease using dried blood specimens on blotters used for newborn screening. **Human Genetics**, v. 81, p. 363-366, 1989.

KERE, J.; ESTIVILL, X.; CHILLÓN, M.; MORRAL, N.; NUNES, V.; NORIO, R.; SAVILAHTI, E., CHAPELLE, A. Cystic fibrosis in a low-incidence population: two major mutations in Finland. **Human Genetics**, v. 93, 162-166, 1994.

KEREM, B.; ROMMENS, J. M.; BUCHANAN, J. A. Identification of the cystic fibrosis gene: Genetic analysis. **Science**, v. 245, p. 1073-1080, 1989.

KEREM, B.; ROMMENS, J. M.; BUCHANAN, J. A.; MARKIEWICZ, D.; COX, T.K.; CHAKRAVARTI, A.; BUCHWALD, M., TSUI, L. C. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. **Science**, v. 245, p. 1073-1080, 1998.

KEREM, E.; KALMAN, Y. M.; YAHAV, Y.; SHOSHANI, T.; ABELIOVICH, D.; SZEINBERG, A.; RIVLIN, J.; BLAU, H.; TAL, A.; BEM-TUR, L.; SPRINGER, C.; AUGARTEN, A.; GODFREY, S.; LERER, I.; BRANSKI, D.; FRIEDMAN, M.; KEREM, B. Highly variable incidence of cystic fibrosis and different mutation distribution among different jewish ethnic groups in Israel. **Human Genetics**, v. 96, p.193-197, 1995.

KNOWLTON, R. G.; CONEN-HAGUENAUER, O.; CONG, N. V.; FRÉZAL, J.; BROWN, V. A.; BARKER, D.; BRAMAN, J. C.; SCHUMM, J. W.; TSUI, L. C.;

BUCHWALD, M. & DONIS-KELLER, H. A polymorphic DNA marker linked to cystic fibrosis is located on chromosome 7. **Nature**, v. 318, p. 380-382, 1985.

KUNKEL, L. M.; SMITH, S. H.; BOYER, D. S.; BORGANONKAR, S. S.; WATCHEL, O. J.; MILLER, W. R. B.; JONES, H. W. JR.; RAY, J. M. Analysis of human y-chromosome specific reiterated DNA in chromosome variants. **Proceeding of the National Academy of Sciences**, v. 74, p. 1245-1249, 1977.

LOIRAT, F.; HAZOUT, S.; LUCOTTE, G. G542X as a probable phoenician cystic fibrosis mutation. **Human Biology**, v. 69, p. 419-425, 1997.

LOPES, R. **Uma região tropical**. Rio de Janeiro : Fon-Fon e Seleta, 1970.

MACEK JR, M.; MACKOVA, A.; HAMOSH A. Identification of common cystic fibrosis mutations in african-americans with cystic fibrosis increases the detection rate to 75%. **American Journal of Human Genetics**, v. 60, p. 1122-7, 1997.

MARTINS, C. S. B.; RIBEIRO, F.; COSTA, F. F. Frequency of the cystic fibrosis Δ F508 mutation in a population from São Paulo State, Brazil. **Journal of Medical Biology Research**, v. 26, p. 1037-1040, 1993.

MARTINS, E. R. **Projeto Social Agrícola do Município de Bequimão, MA**. 1999. (Graduação em Geografia). Curso de Geografia. Universidade Estadual do Maranhão, São Luís.

MATHEW, C. G.; ROBERTS, R. G.; HARRIS, A.; BENTLEY, D. R.; BOBROW, M. Rapid screening for Δ F508 deletion in cystic fibrosis. **The Lancet**, v. 8675, p. 1346, 1989.

MEIRELES, M. **Dez estudos históricos**: os negros no Maranhão. 2. ed. São Luís : ALUMAR, 1994.

MILLER, S. A.; DYKES, D. D., POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extrating DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, v. 16, p. 1215, 1988.

MINGRONI-NETTO, R. C.; ANGELI, C. B.; AURICCHIO, M. T. B. M.;

MESQUITA, E. R. L.; CAPELLI, L. P.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A. K. C.; FERRARI, I.; HUTZ, M. H.; SALZANO, F. M.; Hill, K.; HURTADO, A. M.; VIANNA-MORGANTE, A. M. Dinâmica das repetições CGG do loco da síndrome do cromossomo x frágil e dos haplótipos associados em populações de diferentes grupos étnicos. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 306, 2000. Supplement.

MORRAL, N.; BERTRANPETIT, J.; ESTIVILL, X.; NUNES, V.; CASALS, T.; GIMÉNEZ, J.; REIS, A.; VARON-MATEEVA, R.; MACEK, J. JR.; KALAYDJIEVA, L.; ANGELICHEVA, D.; DANCHEVA, R.; ROMEO, G. The origin of the major cystic fibrosis mutation ($\Delta F508$) in European populations. **Nature Genetics**, v. 7, p.169-175, 1994.

MOTA, A. da S., MANTOVANI, José Dervil. **São Luís do Maranhão no século XVIII**: a construção do espaço urbano sob a Lei das Sesmarias. São Luís : Edições FUNC, 1998.

NG, I. S. L.; PACE, R.; RICHARD, M. V.; KOBAYASHI, K.; KEREM, B.; TSUI, L. C. & BEAUDET, A. L. Methods for analysis of multiple cystic fibrosis mutations. **Human Genetics**, v. 87, p. 613-617, 1991.

NOVELLI, G.; SANGIUOLO, F.; MOKINI, V.; CIKULI, M.; PIAZZA, A.; DALLAPICCOLA, B. The cystic fibrosis $\Delta F508$ mutation in the albanian population. **American Journal of Human Genetics**, v. 50, p. 875-876, 1992.

ORITA, M.; SUZUKI, Y.; SEKIYA, T.; HAYASHI, K. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. **Genomics**, v. 5, p. 874-879, 1989.

PADOA, C.; GOLDMAN, A.; JENKINS, T.; RAMSAY, T. Cystic fibrosis carrier frequencies in populations of african origin. **N. Medical Genetics**, v. 36, p. 41-44, 1999.

PEREIRA, L.; RASKIN, S.; FREUND, A. A.; RIBAS, P. D.; CASTRO, R. M. V.; PIGNATTI, P. F.; CULPI, L. Cystic fibrosis mutations R1162X and 2183AA→G in two Southern Brazilian States. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, p. 291-294, 1999.

PERNA, S. J. Q.; CARDOSO, G. L.; HAMOY, I. G.; GUERREIRO, J. F.

Haplótipos associados ao gene da hemoglobina S em portadores do traço ciclêmico de Pontal (MA). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 572, 2000. Supplement.

QUINTON, P. M. **Cystic fibrosis**: a disease in electrolyte transport. *The FASEB J.*, v. 4, p. 2709-2717, 1990.

RABBI-BORTOLINI, E.; BERNARDINO, A. L. F.; LOPES, A. L.; FERRI, A. S.; PASSOS-BUENO, M. R.; ZATZ, M. Sweat electrolyte and cystic fibrosis mutations analysis allows early diagnosis in Brazilian children with clinical signs compatible with cystic fibrosis. **American Journal of Medical Genetics**, v. 76, p. 288-290, 1998.

RASKIN, S.; PHILIPS III, J. A.; VENENCAK-JONES, C. Molecular heterogeneity and geographic differences in Brazilian cystic fibrosis FC alleles. **8º Congresso Internacional de Genética Humana**, Texas, 1991.

RASKIN, S.; PHILLIPS III, J. A.; KRISHNAMANI, M. R. S.; VNENCAK-JONES, C.; PARKER, R. A.; ROZOV, T.; CARDIERI, J. M.; MAROSTICA, P.; ABREU, F.; GIUGLIANI, R.; REIS, F.; ROSARIO, N. A.; LUDWIG, N.; PILOTTO, R. F. DNA analysis of cystic fibrosis in Brazil by direct PCR amplification from Guthrie cards. **American Journal of Medical Genetics**, v. 46, p. 665-669, 1993.

RASKIN, S.; PHILLIPS, J. A.; KAPLAN, G.; MCCLURE, M.; VNENCAK-JONES, C.; ROZOV, T.; CARDIERI, J. M.; MAROSTICA, P.; ABREU, F.; GIUGLIANI, R.; REIS, F.; ROSARIO, N. A.; LUDWIG, N.; PEREIRA, L.; FAUCZ, F.; GABARDO, J.; CULPI, C. Geographic heterogeneity of 4 common worldwide cystic fibrosis Non- Δ F508 mutations in Brazil. **Human Biology**, v. 71, p. 111-121, 1999.

RAVNIK-GLAVAC, M.; GLAVAC, D.; DEAN, M. Sensitivity of single-strand conformation polymorphism and heteroduplex method for mutation detection in the cystic fibrosis gene. **Human Molecular Genetics**, v. 3, n. 5, p. 801-807, 1994.

RENDINE, S.; CALAFELL, F.; CAPELLO, N.; GAGLIARDINI, R.; CARAMIA, G.; RIGILLO, N.; SILVETTI, M.; ZANDA, M.; MIANO, A.; BATTISTINI, F.; MARIANELLI, L.; TACCETTI, G.; DIANA, M. C.; ROMANO, L.; ROMANO, C.; GIUNTA, A.; PADOAN, R.; PIANAROLLI, A.; RAIA, V.; DE RTIS, G. Genetic

history of cystic fibrosis mutations in Italy. 1. Regional distribution. **Annals of Human Genetics**, v. 61, p. 411-424, 1997.

RIBEIRO B. G. **Amazônia urgente**: cinco séculos de história e ecologia, 2. ed. Belo Horizonte : Itatiaia, 1992.

RICHARDS, B. SKOLETSKY, J.; SHUBER, A. P.; BALFOUR, R.; STERN, R. C.; DORKIN, H. L.; PARAD, R. B.; WITT, D.; KLINGER, K. W. Multiplex PCR amplification from the CFTR gene using DNA prepared from buccal brushes/swabs. **Human Molecular Genetics**, v. 2, p.159-163, 1993.

RIORDAN, J. R. Cystic fibrosis as a disease of misprocessing of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator glycoprotein. **American Journal of Human Genetics**, v. 64, p. 1499-1504, 1999.

RIORDAN, J. R.; ROMMENS, J. M.; KEREM, B.; ALON, N.; ROZMAHEL, R.; GRZELCZAK, Z.; ZIELENSKI, J.; LOK, S.; PLAVSIC, N.; CHOU, J. L.; DRUMM, M. L.; IANNUZZI, M. C.; COLLINS, F. S., TSUI, L. C. Identification of the cystic fibrosis gene; cloning and characterization of complementary DNA. **Science**, v. 245, p. 1066-1073, 1989.

ROMEO, G.; DEVOTO, M., GALIETTA, L. J. V. Why is the cystic fibrosis gene so frequent? **Human Genetics**, v. 84, p. 1-5, 1989.

ROMMENS, J. M.; IANNUZZI, M. C.; KEREM, N.; DRUMM, M. L.; MELMER, G.; DEAN, M.; ROZMAHEL, R.; COLE, J. L.; KENNEDY, D.; HIDAKA, N.; ZSIGA, M. BUCHWALD, M.; RIORDAN, J. R.; TSUI, L. C., COLLING, F. S. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. **Science**, v. 245, p. 1059-1065, 1989.

ROOSEVELT, A. **Amazonian indians from prehistory to the present**: antropological perspectives. Arizona: The University of Arizona Press, 1994.

ROZEN, R.; DE BRAEKELEER, M.; DAIGNEAULT, J.; FERREIRA-RAJABI, L.; GERDES, M.; LAMOUREUX, L.; AUBIN, G. Cystic fibrosis mutations in french canadians: three CFTR mutations are relatively frequent in a Quebec population with na elevated incidence of cystic fibrosis. **American Journal of Medical Genetics**, v. 4, p. 360-364, 1992.

SAIKI, R. K.; SHARF, S.; FALOONA, F.; MULLIS, K. B.; HORN, G. T.; ERLICH,

A. H.; ARNHEIM, N. Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science**, v. 230, p. 1350-1354, 1985.

SALZANO, F. M. Human races: myth, invention or reality? **Interciência**, v. 22, p. 221-227, 1997.

SANTOS, M. J. V. **A Balaiada e a insurreição de escravos no Maranhão**. São Paulo : Ática, 1983.

SERETH, H; SHOSHANI, T.; BASHAN, N.; KEREM, B. Extended haplotype analysis of cystic fibrosis mutations and its implications for the selective advantage hypothesis. **Human Genetics**, v. 29, p. 289-295, 1993.

SHOSHANI, T.; AUGARTEN, A.; GAZIT, E.; BASHAN, N.; YAHAV, Y.; RIBLIN, Y.; TAL, A. Association of a nonsense mutation (W1282X), the most common mutations in the Ashkenazi Jewish cystic fibrosis patients in Israel, with presentation of severe disease. **American Journal of Human Genetics**, v. 50, p. 222-228, 1992.

SOUSA, P. G.; RIBEIRO, M. R. C.; GUERREIRO, J. F. A contribuição africana para o Brasil revelada pela análise de haplótipos ligados ao gene da anemia falciforme. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 567, 2000. Supplement.

SPENCER, D. A.; VENKATARAMAN, M.; WELLER, P. H. Delayed diagnosis of cystic fibrosis in children from ethnic minorities. **The Lancet**, v. 342, p. 238, 1993.

WAINWRIGHT, B. J.; SCAMBLER, P. J.; SCHMIDTKE, J.; WATSON, E. A.; LAW, H. Y.; FARRAL, M.; COOKE, H. J.; EIBERG, H.; WILLIAMSON, R. Localization of cystic fibrosis locus to human chromosome 7. **Nature**, v. 318, p. 384-385, 1985.

WEIR, B.; **Genetic data analysis**. Massachusetts : Sinauer, 1998.

WEISS, K. M. **Genetic variation and human disease: principles and evolutionary approaches**. Cambridge: University Press, 1997.

WELSH, M. J.; SMITH, A. E. Molecular mechanism of CFTR chloride channel

dysfunction in cystic fibrosis. **Cell**, v. 73, p. 1251-1254, 1993.

WELSH, M. J.; SMITH, A. E. **Scientific American**, v. 55, 1995.

WELSH, M.; TSUI, Lap-Chee, BOAT, T. F.; BEAUDET, A. L. Cystic fibrosis. In: **The metabolic and molecular bases of inherited disease**. 7. ed. McGraw-Hill, 1995. v. 3.

WHITE, R.; WOODWARD, S.; LEPPERT, M.; O'CONNELL, P.; HOFF, M.; HERBST, J.; LALOUEL, J. M.; DEAN, M.; WOUDEM G. V. A closely linked genetic marker for cystic fibrosis. **Nature**, v. 318, p. 382-384, 1985.

ZIELENSKI, J.; FUJIWARA, T. M.; MARKIEWICZ, D.; PARADIS, A. J.; ANACLETO, A. I.; RICHARDS, B.; SCHWARTZ, R. H.; KLINGER, K. W.; TSUI, Lap-Chee, MORGAN, K. Identification of the M1101K Mutation in the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) gene and complete detection of cystic fibrosis mutations in the hutterite population. **American Journal of Human Genetics**, v. 52, p. 609-615, 1993.

Leal-Mesquita, Emygdia Rosa do Rego Barros Pires
O gene da fibrose cística em diferentes grupos
populacionais. / Emygdia Rosa do Rego Barros Pires
Leal Mesquita. - São Paulo, 2001.
79 p. : il.

1. Genética - População - Mutação (Maranhão e
Pará). 2. Fibrose cística. 3. Análise genético-
molecular. I. Título.

CDD 576.58

CDU 575.224.2(812.1+811.5)