

**Universidade de São Paulo
Instituto de Psicologia**

Daniela Maria Oliveira Bonci

**Estudo dos pigmentos visuais de macaco-prego
(*Cebus* sp) e da relação entre a psicofísica e a
genética da visão de cores em humanos.**

**São Paulo
2011.**

Daniela Maria Oliveira Bonci

**Estudo dos pigmentos visuais de macaco-prego
(*Cebus* sp) e da relação entre a psicofísica e a
genética da visão de cores em humanos.**

Tese apresentada ao Instituto de Psicologia
da Universidade de São Paulo, como parte
das exigências para obtenção do título de
Doutora em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Dora Fix Ventura

Co-orientadora: Profa. Dra. Maureen Neitz.

São Paulo

2011

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE
TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA
FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação
Biblioteca Dante Moreira Leite
Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo

Bonci, Daniela Maria Oliveira.

Estudo dos pigmentos visuais de macaco-prego (*Cebus sp*) e da relação entre aspectos psicofísicos e a genéticos da visão de cores em humanos / Daniela Maria Oliveira Bonci; orientadora Dora Selma Fix Ventura. -- São Paulo, 2011.

159 f.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Psicologia. Área de Concentração: Neurociências e Comportamento) – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo.

1. Percepção visual 2. Pigmentos visuais em animais 3. Genética
4. Psicofísica 5. Macaco-prego I. Título.

BF241

Nome: Daniela Maria Oliveira Bonci

Título: Estudo dos pigmentos visuais de macaco-prego (*Cebus* sp) e da relação entre a psicofísica e a genética da visão de cores em humanos.

Tese apresentada ao Instituto de Psicologia
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutora em Ciências.

Aprovada em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ **Assinatura:** _____

*Dedico esta tese à minha mãe,
à minha irmã e ao meu pai.*

Agradecimentos

Agradeço à Dora, minha orientadora, por sempre confiar e apoiar o meu trabalho, por todas as oportunidades profissionais que me proporcionou ao longo desses anos, pela compreensão nas horas difíceis, pelos ensinamentos e por sempre ter sido exemplo de uma mulher cientista o qual sempre levarei comigo.

Agradeço à CAPES pela bolsa de doutorado sem a qual eu não teria conseguido nem começar o doutorado e pela bolsa de doutorado sanduíche concedida pelo programa PDEE número 4404/07-6 com a qual eu pude realizar um estágio de dez meses nos EUA.

Agradeço à Maureen Neitz, minha co-orientadora, por ter me recebido em seu laboratório, quando este ainda era no Medical College of Wisconsin, em Milwaukee, WI, EUA para realizar o doutorado sanduíche. Agradeço todo carinho, confiança e apoio pessoal, profissional e financeiro que ela junto com seu marido Jay Neitz me deram num dos momentos mais importantes da minha vida. Thank you for all!!!

Agradeço à FAPESP pela aprovação do projeto regular número 2009/06026-6 com o qual pudemos equipar o nosso laboratório de biologia molecular no Instituto de Psicologia da USP cujo principal objetivo é o estudo genético dos pigmentos visuais.

Agradeço à Debbie Conkling e Julie Garcia, técnicas-chefe do laboratório da Maureen, por todos os ensinamentos sobre biologia molecular, pela paciência em me ensinar sobre as técnicas de laboratório e sobre a língua inglesa também, pelos bons momentos de descontração, conversas e trabalho no Medical College of Wisconsin e principalmente pela nossa eterna amizade.

Agradeço às técnicas do laboratório do Hospital Universitário da USP pela coleta de sangue de todos os sujeitos desta pesquisa.

Agradeço ao Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa (IIEP) do Hospital Israelita Albert

Einstein por aceitar nosso projeto e nos dar a oportunidade de iniciar as análises genéticas enquanto nosso laboratório de biologia molecular era equipado. Agradeço à Profa. Dra. Anna Carla Goldberg, às técnicas de laboratório Martha, Andréa e Danielle e todos os alunos do IIEP com os quais eu tive o prazer de trabalhar e aprender muito.

Agradeço a todos os daltônicos que aceitaram participar desta pesquisa com os quais aprendi a ver o mundo de outra forma, nem mais belo, nem mais feio, apenas diferente.

Agradeço a todos os sujeitos controles pela paciência com a qual realizaram todos os testes. Muito obrigada!!!

Agradeço a todos os funcionários do Instituto de Psicologia da USP.

Agradeço às minhas grandes amigas Einat, Natália e Adriana, pelas maravilhosas discussões sobre evolução, sobre a vida e principalmente pela paciência, apoio, carinho e amizade de sempre!!!

Agradeço ao André, à Gabriela, à Sonia Liamara, à Sonia Moreira, ao Thiago, à Emília, à Mirella Barboni, ao Balázs e todos os meus amigos do Labvis pelos cafés depois do almoço, pelos momentos de discussão filosófica, pelas conversas divertidas e agradeço também à nossa técnica de laboratório Camila C. Gogoni pela ajuda com os experimentos.

Agradeço à minha amada mãe, Zélia, por ter aguentado a saudade nos momentos em que eu estive ausente, pelo apoio nas horas difíceis e nos desafios pelos quais eu passei durante o doutorado e pelo carinho, amor, alegria. Obrigada mãe!!!

Agradeço à minha amada irmã, Estela, pela força, apoio, alegria e pela compreensão nos momentos em que eu estive ausente. Obrigada por tudo minha irmã!!!

Agradeço ao meu amado pai, que infelizmente não está mais entre nós, mas sempre viverá no meu coração, por ter me ensinado que a maior herança que ele me deixou foi a educação, pois ninguém poderá tirá-la de mim e por isso eu sigo trabalhando para que essa herança cresça sempre mais. Saudades eternas.....

Apoio Financeiro

Bolsa de doutorado CAPES

Bolsa de doutorado sanduíche, programa PDEE # 4404/07-6

Projeto regular FAPESP # 2009/06026-6

CAPES / PROCAD # 182/2007

*Eu não tenho filosofia: tenho sentidos...
Se falo na Natureza não é porque saiba o que ela é,
Mas porque a amo, e amo-a por isso,
Porque quem ama nunca sabe o que ama
Nem sabe por que ama, nem o que é amar ...
Amar é a eterna inocência,
E a única inocência não pensar...*

Alberto Caeiro “O meu olhar”

Resumo

Bonci, D. M. O. (2011). *Estudo dos pigmentos visuais de macaco-prego (Cebus sp) e da relação entre a psicofísica e a genética da visão de cores em humanos*. Tese de Doutorado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

A visão de cores é possível devido aos diferentes tipos de fotorreceptores e ao processamento pós-receptor da informação gerada após ativação destas células pela luz. Análises genéticas, funcionais e morfológicas podem ser utilizadas no estudo da visão de cores. Neste trabalho, foram estudadas a genética dos pigmentos visuais de macacos do gênero *Cebus* e a genética e a psicofísica da visão de cores de humanos com e sem discromatopsias hereditárias. O sequenciamento dos genes que expressam as opsinas presentes nos cones L e M foi realizado em dois grupos de macacos-prego mantidos na UFRJ e na UFPA. Treze animais do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da UFRJ e vinte animais da Escola de Primatas da UFPA tiveram o sangue coletado, o material genético extraído e os éxons 3 e 5 dos genes que codificam as opsinas L/M sequenciados após amplificação por PCR. Os aminoácidos localizados nas posições 180, 277 e 285 das opsinas foram identificados e com este resultado foi determinada a curva de absorção espectral das opsinas. O resultado foi a caracterização de seis machos dicromatas, quatro fêmeas tricromatas e três fêmeas dicromatas entre os animais da UFRJ. Entre os animais da UFPA, dezesseis machos eram dicromatas, uma fêmea era tricromata e três fêmeas eram dicromatas. Entre os alelos encontrados nesses grupos, a combinação SFT, cujo pico de absorção espectral da opsina é de 546-553, foi descrita pela primeira vez no gênero *Cebus*. A variedade de alelos encontrada entre os dois grupos é devida às diferentes condições ambientais nos locais de origem dos animais. No estudo com humanos, a visão de cores de 19 sujeitos controles (5 homens e 14 mulheres) e 16 sujeitos daltônicos (14 homens e 1 mulher), moradores no estado de São Paulo (SP) foi avaliada

através de quatro testes psicofísicos e análises genéticas dos pigmentos visuais. Estes resultados foram comparados com os dados descritos por Gonçalves (2006) em sujeitos daltônicos do estado do Pará (PA). Na correlação entre o fenótipo e o genótipo dos sujeitos estudados neste trabalho, foi observada uma correspondência de 100% entre a classificação da discromatopsia obtida com as análises genéticas e os testes psicofísicos.

Palavras-chave: percepção visual, pigmentos visuais em animais, genética, psicofísica, Macaco-prego.

Abstract

Bonci, D. M. O. (2011). *Study of the visual pigments from capuchin monkey (Cebus sp) and the psychophysics and the genetics colour vision relationship in humans*. Tese de Doutorado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Color vision is possible due to different types of photoreceptors and to the post-receptoral processing of the information generated after cell activation by the light. Genetic, functional and morphological analysis can be used as tools in the color vision studies. In the present work the genetic of the visual pigments from *Cebus* sp and the genetic and the psychophysics of normal and defective human color vision were evaluated. The sequencing of the L and M genes of 33 capuchin monkeys was performed. Blood samples were collected from 13 monkeys from Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (UFRJ) and 20 monkeys from Escola de Primatas (UFPA), the DNA was extracted and exons 3 and 5 from L/M genes were sequenced after PCR amplification. For each animal the 180, 277 and 285 aminoacids were identified and the spectral absorbance curve was estimated based on their sequence. In the UFRJ group, six males and three females were identified as dichromats and four females were identified as trichromats. In the UFPA group sixteen males and three females were dichromats and one female was trichromat. The SFT aminoacid combination was described for the first time in the *Cebus* genera. The allelic diversity described in these animals is probably due to the distinct environmental conditions from the place of birth of the animals. In the human study 19 control subjects (5 men and 14 women) and sixteen daltonic subjects (14 men and 1 woman), all from São Paulo city, had the colour vision evaluated with 4 colour vision tests and with the visual pigment genetics. The results were compared to the data described by Gonçalves (2006) in daltonic subjects from Pará state. The correlation between phenotype and genotype of the subjects from SP had a 100% of correspondence in the genetic and psychophysical classifications of dichromatopsia.

Key words: colours vision, animal visual pigments, genetic, psychophysics, capuchin monkey.

Lista de Figuras

- Figura 1. Representação esquemática do experimento com prisma realizado por Newton sobreposto ao seu retrato. Fonte: <http://astronomyonline.org/Science/ElectromagneticSpectrum.asp>.....22
- Figura 2. Micrografia eletrônica de bastonetes e cones de retina de primata. Imagem adaptada de Ralph C. Eagle (www.webvision.med.utah.edu).....25
- Figura 3. Diagrama esquemático do segmento externo de um fotorreceptor (bastonete) e a opsina inserida na membrana plasmática. Modificado de <http://webvision.med.utah.edu/photo1.html#outer>.....26
- Figura 4. Estrutura tri-dimensional da rodopsina bovina. Os sete domínios transmembrânicos estão ilustrados em cores variadas. O cromóforo está identificado em vermelho (Palczewski *et al.*, 2000).....27
- Figura 5. Curva de absorção espectral das três classes de fotopigmentos encontrados nos cones da retina de humanos com visão de cores tricromata. Os comprimentos de onda de máxima absorção dos cones S, M e L estão indicados entre parênteses. As três classes de cones também são encontradas em primatas do Velho Mundo, alguns primatas do Novo Mundo e em hominídeos com pequenas variações no pico de absorção entre as espécies. Modificado de Deeb & Motulsky (2005).....28
- Figura 6 Esquema da sequência de aminoácidos dos pigmentos visuais e comparação entre os diferentes tipos encontrados em primatas do Novo Mundo e humanos. Os círculos coloridos representam os aminoácidos diferentes da estrutura molecular dos pigmentos e os círculos em cinza representam os aminoácidos comuns aos dois pigmentos. Os pigmentos M e L são os que têm maior homologia. (<http://www.handprint.com/HP/WCL/color1.html#conechemistry>).....29
- Figura 7. Espectro de absorção dos cones de indivíduos com deficiências de visão de cores. A retina de um indivíduo protanope tem apenas cones S e M, de um indivíduo deuterânope apenas cones S e L e ambos têm grande perda de visão de cores. Protanômalos tem cones S, M e tipo M (classe de cones M) e deuteranômalos tem cones S, L e tipo L (classe de cones L). Estes dois últimos têm perdas moderadas de visão de cores. Modificado de Deeb (2005)...31
- Figura 8. Esquema dos cinco grupos de genes que expressam os pigmentos visuais encontrados na retina de vertebrados. O gene Rh1 está associado a pigmentos encontrados em bastonetes e os outros quatro genes a pigmentos encontrados em cones. A extensão das linhas horizontais indica a variação do λ_{max} dos pigmentos expressos por cada grupo. Modificado de Jacobs (2008).....32
- Figura 9. Reconstrução da história evolucionária da família dos genes das opsinas de vertebrados (modificado de Trezise & Collin, 2005).....33
- Figura 10. Modelo da expressão mutuamente exclusiva dos genes que expressam os pigmentos L e M proposto por Smallwood *et al.* (2002). Organização dos genes em primatas do Velho Mundo com o LCR em cópia única e antecedendo o primeiro gene da sequência (A). A expressão dos genes L e M ocorre após a ligação do LCR a uma das regiões promotoras dos genes, num processo aleatório que irá determinar se a célula será um cone L (B) ou um cone M (C). Modificado de McMahon *et al.* (2004).....36
- Figura 11. Estrutura conformacional dos genes L e M no cromossomo X. A acessibilidade relativa do

LCR aos promotores dos genes L e M é ilustrada pelas setas cinza. O terceiro gene da sequência (gene M) está a uma distância na qual o LCR não é capaz de ativar o seu promotor. O DNA está acoplado a matrix nuclear via *matrix attachment regions* (MARs). Modificado de McMahon et al., (2008)..... 37

Figura 12. Árvore filogenética dos primatas. Aproximadamente 63 milhões de anos atrás, os primatas se dividiram em Strepsirrhine e Haplorhine. Este último, cerca de 23 milhões de anos após a primeira divergência, deu origem a outros dois grupos: o Platyrrhini (primatas do Novo Mundo) e Catarrhini (primatas do Velho Mundo). Os Catarrhini se dividiram novamente dando origem aos hominídeos conforme ilustrado no canto direito da figura. Fonte: http://www.conserveourearth.co.uk/sitebuildercontent/sitebuilderpictures/primates_tree.gif. 40

Figura 13. Representação esquemática da opsina. Os principais aminoácidos responsáveis pelo pico de absorção espectral da molécula são os da posição 180, 277 e 285. A variação do pico causada pela mudança do aminoácido nessas três posições está indicada no lado esquerdo da figura. A posição 312 é o local onde o retinal se liga covalentemente ao resíduo lisina. Os aminoácidos que influenciam no pico de absorção espectral da opsina estão identificados com cores. Adaptado de Jacobs (2008).....46

Figura 14. Tipos alélicos de pigmentos visuais M/LWS descritos em primatas do Novo Mundo, classificados segundo o aminoácido das posições 180, 277 e 285. O valor máximo da variação no pico de absorção espectral causada pela mudança do aminoácido está indicado abaixo dos aminoácidos. (Hiramatsu et al., 2005). Ser = serina, Ala = alanina, Tyr = tirosina, Phe = fenilalanina, Thr = treonina.....47

Figura 15. Curvas de sensibilidade espectral previstas a partir das sequências de aminoácidos dos pigmentos L e M para os cones de *Cebus* sp mantidos na UFRJ. Gráficos elaborados gentilmente pelo Dr. Balázs Vince Nagy, baseado em Stockman & Sharpe (2000)..... 60

Figura 16. Curvas de sensibilidade espectral previstas a partir das sequências de aminoácidos dos pigmentos L e M para os cones de *Cebus* sp mantidos na UFPA. Gráficos elaborados gentilmente pelo Dr. Balázs Vince Nagy baseado em Stockman & Sharpe (2000).....63

Figura 17. Comparação da frequência alélica dos pigmentos visuais descritos em macacos do gênero *Cebus* mantidos na UFPA e na UFRJ. Acima das barras está indicado o a sequência alélica correspondente..... 65

Figura 18. Foto do teste Farnsworth Munsell 100 Hue (Munsell® Color Gretag Macbeth). As 85 peças são armazenadas em 4 caixas nas quais a primeira e a última são fixas para auxiliar no ordenamento. Fonte: <http://www.qcqa.com/product/product.asp?prodpid=2552...> 89

Figura 19. Gráfico polar representando os resultados de um sujeito controle ao longo dos 85 matrizes do teste Farnsworth 100. Os raios correspondem a cada uma das 85 peças e sua extensão corresponde ao número de erros. Os eixos de confusão estão identificados pelas linhas vermelha, verde e azul..... 91

Figura 20. Foto do anomaloscópio HMC (Heidelberg Multi-Color, Oculus). Na objetiva é apresentado o estímulo, um círculo bipartido no qual a metade superior é uma mistura de luzes produzidas por dois filtros e a luz inferior é um padrão amarelo. O teste pode ser acompanhado através de um computador acoplado ao equipamento 92

Figura 21. Exemplo de um estímulo apresentado no *Cambridge Colour Test*..... 94

Figura 22. Representação do diagrama de CIE (<i>Commission Internationale de l'ommission</i>) 1976 e a posição das três elipses em relação ao diagrama. Exemplo do resultado de um sujeito controle.....	96
Figura 23. Organização dos genes L e M na sequência do cromossomo X descrita para todos os sujeitos controles, conforme sequência da tabela 11. Os genes estão identificados por setas. Somente os dois primeiros genes da sequência no cromossomo X são expressos. As setas vermelhas (L) representam os genes que expressam as opsinas L, as setas verdes (M) representam os genes que expressam os pigmentos M e os genes que não são expressos (NE). No caso das mulheres, por possuírem dois cromossomos X, estes estão separados com um sinal de + entre eles. Em dois sujeitos, 6 e 11, duas possibilidades de organização em sequência dos genes L e M são ilustradas por não haver uma certeza na quantidade exata de genes devido a pequenas variabilidades da técnica. Três mulheres (7, 9 e 19) são portadoras de deficiência deutan por possuírem em um dos cromossomos X mais de um gene L na sequência.....	101
Figura 24. Elipses de discriminação de cor das três mulheres portadoras de deficiência deutan obtidas com o <i>Cambridge Colour Test</i>	104
Figura 25. Organização dos genes L e M na sequência do cromossomo X descrita para todos os sujeitos controles, conforme sequência da tabela 11. Os genes estão identificados por setas. Somente os dois primeiros genes da sequência no cromossomo X são expressos. As setas vermelhas (L) representam os genes que expressam as opsinas L, as setas verdes (M) representam os genes que expressam os pigmentos M e os genes que não são expressos (NE). No caso da única mulher, os dois cromossomos X estão separados com um sinal de + entre eles.....	105
Figura 26. Comparação do erro médio obtido nos sujeitos controle e daltônicos no teste de ordenamento FM 100.....	106
Figura 27. Limiares de discriminação de cores para os três eixos de confusão protan, deutan e tritan. Valores obtidos no teste Trivector do CCT para os sujeitos controles e com deficiência do tipo protan ou deutan.....	109
Figura 28. Exemplos das elipses de discriminação obtidas em sujeitos tricromata normal (A, sujeito 1), dicromata protan (B, sujeito 5) e dicromata deutan (C, sujeito 9) com o <i>Cambridge Colour Test</i>	111
Figura 29. Organização dos genes L e M na sequência do cromossomo X descrita para todos os sujeitos com discromatopsia hereditária avaliados na UFPA, conforme sequência da tabela 15. Os genes estão identificados por setas. Somente os dois primeiros genes da sequência no cromossomo X são expressos. As setas vermelhas representam os genes que expressam as opsinas L (L), as setas verdes representam os genes que expressam os pigmentos M (M) e os genes que não são expressos (NE).....	114
Figura 30. Comparação dos limiares de discriminação de cores nos eixos protan, deutan e tritan, entre os sujeitos controles e com deficiência de visão de cores do tipo protan (acima) e deutan (abaixo), avaliados em São Paulo e no Pará.....	116
Figura 31. Comparação do erro médio entre os sujeitos avaliados em São Paulo, SP e Belém, PA no teste de ordenamento FM 100.....	117

Lista de Tabelas

Tabela 1. Classificação dos Primatas do Novo Mundo segundo estimativas da idade de surgimento. Ma = MegaAnnum. (Modificado de Schneider, 2000).....	43
Tabela 2. Resumo dos trabalhos publicados que descrevem o pico de sensibilidade espectral das opsinas em algumas espécies de primatas do Novo Mundo. Modificado de Jacobs, 2007.....	49
Tabela 3. Sequência de aminoácidos dos animais da UFRJ.....	59
Tabela 4. Descrição do genótipo e fenótipo dos animais da UFRJ.....	59
Tabela 5. Descrição do genótipo e fenótipo dos animais da UFPA.....	62
Tabela 6. Frequência dos diferentes alelos encontrados em <i>Cebus</i> sp nos animais mantidos na UFPA e na UFRJ.....	64
Tabela 7. Aminoácidos descritos para as posições 180 277 e 285 dos genes das opsinas e o RSI calculado para cada animal. (Deu) – deuteranope; (Tri) – tricromata; (Pro) – protanope.....	68
Tabela 8. Resumo dos trabalhos publicados que descrevem o pico de sensibilidade espectral das opsinas em algumas espécies de Primatas do Novo Mundo incluindo o presente trabalho. Modificado de Jacobs, 2007.....	71
Tabela 9. Caracterização da amostra de sujeitos controles e daltônicos com defeito protan e deutan.....	85
Tabela 10. Descrição dos <i>primers</i> e temperatura de anelamento destes ao DNA.....	88
Tabela 11. Resultado da porcentagem de genes L e pós L (Downstreams - Ds) e de três testes psicofísicos realizados com o grupo controle.....	100
Tabela 12. Limiares de discriminação de cores do grupo controle medidos com o Cambridge Colour Test no teste Trivector e elipse.....	102
Tabela 13. Dados descritivos do grupo de daltônicos avaliados em São Paulo.....	107
Tabela 14. Dados descritivos dos grupos com discromatopsia hereditária de São Paulo.....	110
Tabela 15. Dados descritivos dos grupos com discromatopsia hereditária de Belém, PA.....	113
Tabela 16. Limiares de discriminação de cores do Cambridge Colour Test para o teste Trivector.....	115

Sumário

1. Introdução Geral	19
1.1. Teorias da Visão de Cores	20
1.2. Fotorreceptores e pigmentos visuais	23
1.3. Deficiências na visão de cores em humanos	29
1.4. Genética dos pigmentos visuais	30
Capítulo 1	37
Primatas do Novo Mundo	37
2.1. Introdução	38
2.1.1. A seleção da tricromacia entre os primatas	39
2.1.2. Gênero <i>Cebus</i>	43
2.1.3. Opsinas em <i>Cebus</i>	44
2.1.4 Justificativa	49
2.2. Objetivos	50
2.3. Sujeitos e Métodos	52
2.3.1. <i>Cebus</i> sp da UFRJ	53
2.3.2. <i>Cebus</i> sp da UFPA	53
2.3.3. Extração de DNA	53
2.3.4. Amplificação do DNA por reação em cadeia da polimerase (PCR)	53
2.3.5. Sequenciamento genético	54
2.3.6. Determinação da curva de absorção espectral das opsinas	55
2.4. Resultados	56
2.4.1. Comparação entre os grupos da UFPA e da UFRJ	63
2.5. Discussão	65
2.5.2. Animais da UFPA	68
2.5.3. Frequência alélica	71
2.6. Conclusões	72
Capítulo 2	74
Discromatopsias hereditárias em humanos	74
3.1. Introdução	75

3.1.2. Frequência das deficiências hereditárias na visão de cores	77
3.2. Objetivos.....	79
3.3. Sujeitos e Metodologia	81
3.3.1. Sujeitos.....	82
3.3.2. Critérios de inclusão na pesquisa.....	82
3.3.3. Critérios de exclusão da pesquisa	83
3.3.4. Coleta de sangue e extração de DNA	85
3.3.5. Estimativa dos genes L e M.....	85
3.3.6. Amplificação do DNA por reação em cadeia da polimerase (PCR).....	86
3.3.7. Sequenciamento genético	87
3.3.8. Classificação genética dos sujeitos	87
3.3.9. Avaliação da visão de cores.....	87
3.3.9.1. Teste de Pranchas Pseudo-isocromáticas de Ishihara	88
3.3.9.2. Teste de Ordenamento: Farnsworth-Munsell 100 Hue Test	88
3.3.9.3. Anomaloscópio.....	90
3.3.9.4. Teste de Visão de Cores de Cambridge.	93
3.3.10. Correlação dos resultados com os dados da população de Belém - PA.....	95
3.4. Resultados.....	97
3.4.1. Grupo Controle	98
3.4.2. Mulheres portadoras de defeito deutan	102
3.4.3. Grupo discromatopsico – São Paulo, SP	103
3.4.4. Grupo discromatopsico – Belém, PA	111
3.4.5. Resultados da comparação entre São Paulo, SP e Belém, PA.....	114
3.5. Discussão.....	117
3.5.1. Mulheres portadoras de defeito deutan.....	119
3.5.2. Mutação C203R	121
3.5.3. Comparação dos resultados entre sujeitos avaliados em SP e PA.....	122
3.6. Conclusões.....	123
4. Referências Bibliográficas	125
Anexos	141