

CAPÍTULO 1. A LEI DE HARDY E WEINBERG

Oito anos depois da redescoberta das leis de Mendel (1908), Wilhelm Weinberg e Godfrey Harold Hardy chegaram independentemente, e quase que simultaneamente, às mesmas conclusões a respeito daquilo que é considerado o fundamento da Genética de Populações, isto é, *o ramo da Genética que visa à investigação da dinâmica dos genes nas populações naturais, buscando a elucidação dos mecanismos que alteram a sua composição gênica* (efeito de *fatores evolutivos*, isto é, *mutações, seleção natural, deriva genética e fluxo gênico de populações migrantes*) *ou apenas a frequência genotípica pelo aumento da homozigose* (efeito dos *casamentos consangüíneos* ou da *subdivisão da população em grandes isolados*). As conclusões concordantes a que chegaram esses dois autores passaram a ser conhecidas como a *lei do equilíbrio de Hardy e Weinberg* ou, mais simplesmente, *lei de Hardy e Weinberg*.

Hardy foi um importante matemático inglês (1877-1947), mas sua contribuição à Genética restringiu-se ao assunto deste capítulo. Em oposição, Weinberg (1862-1937), além de ter sido um dos criadores da Genética de Populações, deu contribuições notáveis e pioneiras ao estudo de gêmeos, à correção de distorções causadas pelo tipo de averiguação, e à solução de numerosos problemas de estatística médica. O espantoso é que Weinberg conseguiu harmonizar seu duro trabalho de clínico geral e obstetra (mais de 3.500 partos), que exerceu durante 42 anos em Stuttgart, Alemanha, com suas atividades de criação científica original, reunidas em mais de 160 publicações.

PREMISSAS PARA O ESTABELECIMENTO DA LEI DE HARDY E WEINBERG

Weinberg e Hardy perceberam que *se não existissem fatores evolutivos atuando sobre uma população, as frequências gênicas permaneceriam inalteradas e as proporções genotípicas atingiriam um equilíbrio estável, mostrando a mesma relação constante entre si ao longo do tempo*.

Para demonstrar esse princípio, imaginemos uma população teórica que não esteja sujeita a fatores evolutivos nem àqueles que alteram as frequências genotípicas aumentando a homozigose, isto é, uma população que obedeça às seguintes premissas:

1. A população é infinita.
2. Existe o mesmo número de homens e de mulheres na população.

3. A população está em *panmixia*, isto é, todos casam e os casamentos ocorrem aleatoriamente, não existindo, por conseguinte, casamentos preferenciais entre indivíduos por causa de seu genótipo, fenótipo, estratificação social ou consangüinidade. Aliás, por serem os casamentos realizados aleatoriamente, os casamentos consangüíneos podem existir, desde que ocorram aleatoriamente.
4. Todos os casais da população são igualmente férteis e geram o mesmo número de filhos.
5. Não há sobreposição de gerações na população, isto é, elas não se imbricam ao longo do tempo, porque todos os indivíduos devem ter a mesma idade ao casar.
6. Os genes da população não sofrem mutação.
7. A população não está sob pressão de seleção natural, porque todos os indivíduos são igualmente viáveis, não existindo fatores que aumentem ou diminuam a sobrevivência de indivíduos com determinado genótipo.
8. A população não recebe nem emite um fluxo gênico capaz de alterar a sua composição gênica original, porque ela não sofre miscigenação com uma população imigrante que apresenta frequências gênicas diferentes da dela, nem há emigração diferencial, isto é, a saída de grupos de indivíduos com frequência gênica distinta do resto da população.

Consideremos, agora, que, nessa população teórica, os genótipos AA , Aa e aa , decorrentes de um par de alelos autossômicos A, a , se distribuem com a mesma frequência nos indivíduos de ambos os sexos. As frequências dos alelos A e a podem ser calculadas facilmente se tomarmos como ponto de partida os gametas que produziram os indivíduos da geração atual dessa população. Assim, o número de gametas com o alelo A deve ser igual ao dobro do número de indivíduos homozigotos AA dessa geração somado ao número de indivíduos heterozigotos Aa , pois cada indivíduo AA foi originado por dois gametas com o alelo A e cada indivíduo Aa foi formado por um gameta com o gene A e outro com o seu alelo a . Por raciocínio análogo conclui-se que o número de gametas com o alelo a que produziram os indivíduos da geração em estudo é igual ao dobro do número de indivíduos aa somado ao número de indivíduos heterozigotos Aa .

Em vista do exposto, se chamarmos as frequências dos alelos A e a na população respectivamente de p e $q = 1 - p$, e simbolizarmos as frequências dos indivíduos com

genótipos AA , Aa e aa por AA , Aa e aa , poderemos escrever que as frequências p e q dos alelos A e a na geração em estudo são:

$$p = \frac{2AA + Aa}{(2AA + Aa) + (2aa + Aa)}$$

$$q = \frac{2aa + Aa}{(2AA + Aa) + (2aa + Aa)}$$

Visto que o denominador dessas fórmulas, que representa a frequência total dos alelos, isto é, $A + a$, pode ser escrito como $2(AA+Aa+aa)$, e considerando que $AA+Aa+aa = 1$ ou 100%, pode-se escrever, também, que:

$$p = \frac{2AA + Aa}{2} = AA + \frac{1}{2}Aa$$

$$q = \frac{2aa + Aa}{2} = aa + \frac{1}{2}Aa \text{ ou } q = 1 - p$$

Assim, por exemplo, se na geração inicial dessa população teórica os genótipos em discussão tivessem frequências $AA = 0,30$, $Aa = 0,50$ e $aa = 0,20$, as frequências p do gene A e q de seu alelo a , nessa geração, seriam iguais, respectivamente, a 55% e 45%, pois:

$$p = 0,30 + 0,25 = 0,55$$

$$q = 0,20 + 0,25 = 0,45 \text{ ou } q = 1 - 0,55 = 0,45$$

Evidentemente, a frequência do alelo A também pode ser obtida pela simples contagem dos indivíduos estudados. Assim, se somarmos o dobro do número de indivíduos que são homozigotos AA ao número de indivíduos que são heterozigotos Aa e dividirmos o resultado pelo dobro do total de indivíduos estudados ($AA+Aa+aa$), pois estamos contando genes, também obteremos a frequência p do alelo A . A frequência q do alelo a poderá ser obtida por intermédio de $q = 1 - p$ ou, é claro, pela soma do dobro do número de indivíduos homozigotos aa ao número de heterozigotos Aa , que deve ser dividida pelo dobro do total de indivíduos estudados. Tomemos um exemplo numérico, considerando uma amostra de 100 indivíduos dos quais 30 têm genótipo AA , 50 genótipo Aa e 20 genótipo aa . As frequências p e q dos alelos A e a também poderiam ser calculadas por intermédio de:

$$p = \frac{(2 \times 30) + 50}{200} = 0,55$$

$$q = \frac{(2 \times 20) + 50}{200} = 0,45$$

Consideremos, agora, uma população que, *na geração inicial*, tem os genótipos AA , Aa e aa , respectivamente, com as frequências 30%, 60% e 10%, o que significa

que, nessa geração inicial, $A = p = 0,60$ e $a = q = 0,40$. Considerando, ainda, que, por hipótese, a população teórica em apreço está em panmixia, as frequências dos diferentes tipos de casais segundo os genótipos AA , Aa e aa serão aquelas calculadas na segunda coluna da Tabela 1.1-A. Por outro lado, levando em conta que todos os casais dessa população são, por hipótese, igualmente férteis, as proporções genóticas esperadas entre os filhos dos diferentes tipos de casais são aquelas expressas nas três últimas colunas da Tabela 1.1-A, as quais mostram um total de 36% de indivíduos AA , 48% de indivíduos Aa e 16% de indivíduos aa . Esses totais permitem concluir pela validade de uma parte da lei de Hardy e Weinberg, isto é, daquela que diz que *as frequências gênicas se mantêm constantes ao longo das gerações* de uma população teórica como a que estamos considerando.

Tabela 1.1. Demonstração da equação do equilíbrio de Hardy e Weinberg partindo de uma população teórica panmíctica na qual, na geração inicial, os genótipos AA , Aa e aa ocorrem com frequências iguais, respectivamente, a 30%, 60% e 10%.

1.1.A .Distribuição genotípica após uma geração de panmixia.

Casais (geração inicial)		Primeira geração filial		
Tipo	Frequência	AA	Aa	aa
$AA \times AA$	$0,30 \times 0,30 = 0,09$	0,09	-	-
$AA \times Aa$	$2 \times 0,30 \times 0,60 = 0,36$	0,18	0,18	-
$AA \times aa$	$2 \times 0,30 \times 0,10 = 0,06$	-	0,06	-
$Aa \times Aa$	$0,60 \times 0,60 = 0,36$	0,09	0,18	0,09
$Aa \times aa$	$2 \times 0,60 \times 0,10 = 0,12$	-	0,06	0,06
$aa \times aa$	$0,10 \times 0,10 = 0,01$	-	-	0,01
Total	1,00	0,36	0,48	0,16

1.1.B. Distribuição genotípica na segunda geração filial em panmixia.

Casais (1ª. geração filial)		Segunda geração filial		
Tipo	Frequência	AA	Aa	aa
$AA \times AA$	$0,36 \times 0,36 = 0,1296$	0,1296	-	-
$AA \times Aa$	$2 \times 0,36 \times 0,48 = 0,3456$	0,1728	0,1728	-
$AA \times aa$	$2 \times 0,36 \times 0,16 = 0,1152$	-	0,1152	-
$Aa \times Aa$	$0,48 \times 0,48 = 0,2304$	0,0576	0,1152	0,0576
$Aa \times aa$	$2 \times 0,48 \times 0,16 = 0,1536$	-	0,0768	0,0768
$aa \times aa$	$0,16 \times 0,16 = 0,0256$	-	-	0,0256
Total	1,0000	0,36	0,48	0,16

Lembrete: Para o cálculo da frequência de casais com genótipos diferentes ($AA \times Aa$, $AA \times aa$ e $Aa \times aa$), multiplicamos por dois o produto das frequências desses genótipos porque temos que levar em conta o sexo dos cônjuges. Assim, por exemplo, no caso dos casais $AA \times Aa$ temos que levar em conta a probabilidade de o casal ser composto por marido AA e mulher Aa , bem como a probabilidade de o casal incluir marido Aa e mulher AA .

De fato, é fácil verificar que na geração filial as frequências p e q dos alelos A e a continuam iguais às da geração inicial, apesar de as frequências genóticas terem sido

alteradas. Assim, as freqüências dos genótipos AA , Aa e aa que eram, respectivamente, iguais a 30%, 60% e 10% passaram a ser iguais a 36%, 48% e 16%. Entretanto, as freqüências gênicas continuaram com os valores iniciais de 60% e 40%, pois:

$$p = AA + \frac{1}{2}Aa = 0,36 + 0,24 = 0,60$$

$$q = aa + \frac{1}{2}Aa = 0,16 + 0,24 = 0,40$$

Os resultados da Tabela 1.1.A não permitem concluir pela validade da outra parte da lei de Hardy e Weinberg, ou seja, daquela que afirma que *as proporções genotípicas atingirão equilíbrio estável, mostrando uma relação constante entre si através dos tempos*. Entretanto, em relação a um par de alelos autossômicos é simples demonstrar que tal equilíbrio é atingido *após uma única geração de panmixia*, mantendo-se constante, daí por diante, as freqüências genotípicas alcançadas na primeira geração filial, as quais se distribuem segundo:

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$$

sendo p e $q = 1 - p$ as freqüências dos alelos A e a . A distribuição $p^2 + 2pq + q^2$ também é conhecida como a *equação do equilíbrio de Hardy e Weinberg*.

Numa população em equilíbrio de Hardy e Weinberg tudo se passa, portanto, como se os espermatozóides com o alelo A , cuja freqüência é p , e os espermatozóides com o alelo a , cuja freqüência é q , fertilizassem os ovócitos, respectivamente, com probabilidades p e q . Visto que os ovócitos com o alelo A também têm freqüência p e aqueles com o alelo a também têm freqüência q e considerando que estamos lidando com acontecimentos independentes, as probabilidades dos genótipos originados do encontro dos gametas devem ser o produto das probabilidades desses gametas. Tudo se passaria como no quadro abaixo onde as probabilidades estão assinaladas entre parênteses:

OVÓCITOS	ESPERMATOZÓIDES	
	A (p)	a (q)
A (p)	AA (p^2)	Aa (pq)
a (q)	Aa (pq)	aa (q^2)

Realmente, na Tabela 1.1.A constata-se, de imediato, que os genótipos AA , Aa e aa se distribuem na geração filial como $(p+q)^2 = 1$, isto é,

$$AA + Aa + aa = p^2 + 2pq + q^2 = 1, \text{ pois:}$$

$$AA = p^2 = 0,60 \times 0,60 = 0,36$$

$$Aa = 2pq = 2 \times 0,60 \times 0,40 = 0,48$$

$$aa = q^2 = 0,40 \times 0,40 = 0,16$$

Do mesmo modo imediato é possível verificar na Tabela 1.1.B que a distribuição $AA : Aa : aa :: p^2 : 2pq : q^2$ se mantém inalterada na segunda geração filial, pois nessa geração $AA = 0,26$, $Aa = 0,48$ e $aa = 0,16$.

Tabela 2.1. Distribuição das famílias de uma população teórica que está em equilíbrio de Hardy e Weinberg em relação aos genótipos determinados por um par de alelos autossômicos A,a com frequências iguais respectivamente a p e $q = 1 - p$.

Casais		Filhos		
Tipo	Frequência	AA	Aa	aa
$AA \times AA$	$p^2 \cdot p^2 = p^4$	p^4	-	-
$AA \times Aa$	$2(p^2 \cdot 2pq) = 4p^3q$	$2p^3q$	$2p^3q$	-
$AA \times aa$	$2(p^2 \cdot q^2) = 2p^2q^2$	-	$2p^2q^2$	-
$Aa \times Aa$	$2pq \cdot 2pq = 4p^2q^2$	p^2q^2	$2p^2q^2$	p^2q^2
$Aa \times aa$	$2(2pq \cdot q^2) = 4pq^3$	-	$2pq^3$	$2pq^3$
$aa \times aa$	$q^2 \cdot q^2 = q^4$	-	-	q^4
Total	$(p+q)^4 = 1$	p^2	$2pq$	q^2

A Tabela 2.1, por sua vez, generaliza a distribuição das famílias em uma população teórica que está em equilíbrio de Hardy e Weinberg em relação aos genótipos determinados por um par de alelos autossômicos A,a cujas frequências são iguais, respectivamente, a p e $q = 1 - p$. Nessa tabela é fácil constatar que a soma das frequências dos diferentes tipos de casais da população é igual a 1 ou 100%, pois sabemos que $p+q = 1$ e que essa soma pode ser escrita como $(p+q)^2(p+q)^2 = (p+q)^4 = 1$. Também não é difícil verificar na Tabela 2.1 que as somas das frequências dos indivíduos com genótipos AA , Aa e aa na geração filial resultam, respectivamente, em p^2 , $2pq$ e q^2 . De fato, lembrando que $p^2 + 2pq + q^2 = 1$, tem-se nas somas das três últimas colunas da Tabela 2.1:

$$p^4 + 2p^3q + p^2q^2 = p^2(p^2 + 2pq + q^2) = p^2$$

$$2p^3q + 4p^2q^2 + 2pq^3 = 2pq(p^2 + 2pq + q^2) = 2pq$$

$$p^2q^2 + 2pq^3 + q^4 = q^2(p^2 + 2pq + q^2) = q^2$$

AS POPULAÇÕES HUMANAS E A LEI DE HARDY E WEINBERG

Se uma população humana, ou qualquer outra população de indivíduos com reprodução cruzada, obedecesse as oito premissas apresentadas no tópico anterior, ela apresentaria uma estabilidade genética que permaneceria inalterada através dos tempos.

Em outras palavras, se houvesse essa obediência, as populações humanas mostrariam uma *fixidez genética*, isto é, uma *inércia evolutiva*, pois não estariam sujeitas a uma série de fatores que serão estudados em detalhe em capítulos vindouros. Tais fatores são os *fatores evolutivos*, ou seja, aqueles capazes de alterar as frequências gênicas (*mutações, seleção natural, fluxo gênico de populações migrantes e deriva genética*) e os *fatores que causam o aumento de homozigose* (*endocruzamento* ou, como nos referimos na espécie humana, *casamentos consangüíneos, e subdivisão da população em grandes isolados*).

Evidentemente, as oito condições estabelecidas para a obtenção do equilíbrio de Hardy e Weinberg não são satisfeitas completamente por nenhuma população real, seja ela humana ou não. Aliás, o que torna possível explicar o processo evolutivo dos seres vivos em termos mendelianos é, justamente, essa desobediência ao modelo teórico apresentado no tópico anterior. Apesar de nenhuma população humana obedecer às premissas enumeradas no tópico anterior, a prática tem demonstrado, num aparente paradoxo, em numerosas populações humanas e em relação a um grande número de caracteres monogênicos que não suscitam casamentos preferenciais, como é o caso dos grupos sangüíneos, que os genótipos se distribuem de acordo com a lei de Hardy e Weinberg. Para exemplificar, tomemos os dados obtidos em amostras de cinco populações humanas a respeito dos grupos sangüíneos M (genótipo *MM*), MN (genótipo *MN*) e N (genótipo *NN*) do sistema MNS (Tabela 3.1).

Tabela 3.1. Comparação entre as proporções genótípicas do sistema sangüíneo MNS observadas com o emprego de dois anti-soros (anti-M e anti-N) em várias amostras de populações e as esperadas em equilíbrio de Hardy e Weinberg. Os valores percentuais foram registrados entre parênteses.

AMOSTRA	GENÓTIPOS				FREQUÊNCIAS GÊNICAS			No. ESPERADO			$\chi^2_{(1)}$	Ref.*
	<i>MM</i>	<i>MN</i>	<i>NN</i>	Total	<i>p</i>	<i>q</i>	σ	np^2	$n2pq$	nq^2		
Norte-Americanos	125 (31,7)	193 (49,0)	76 (19,3)	394 (100)	0,562	0,438	0,018	124,5	193,8	75,7	0,006 0,90<P<0,95	1
Holandeses	52 (27,1)	88 (45,8)	52 (27,1)	192 (100)	0,500	0,500	0,026	48	96	48	1,354 0,20<P<0,30	2
Ingleses	363 (28,4)	634 (49,6)	282 (22,0)	1279 (100)	0,532	0,468	0,010	362	637	280	0,031 0,80<P<0,90	3
Xavantes	41 (51,9)	30 (38,0)	8 (10,1)	79 (100)	0,709	0,291	0,036	39,7	32,6	6,7	0,501 0,30<P<0,50	4
Brasileiros	30 (30)	50 (50)	20 (20)	100 (100)	0,550	0,450	0,035	30,25	49,5	30,25	0,011 0,90<P<0,95	5

* 1- Wiener e Wexler, 1958; 2- Saldanha *et al.*, 1960; 3-Race e Sanger, 1962; 4- Neel *et al.*, 1964; 5- Beiguelman, dados não publicados.

As freqüências dos alelos M e N das cinco amostras reunidas na Tabela 3.1 podem ser estimadas a partir dos percentuais assinalados nessa tabela ou por contagem dos indivíduos. Assim, por exemplo, no caso da população norte-americana mencionada nessa tabela, a freqüência p e q dos alelos M e N pode ser obtida por intermédio de:

$$p = MM + \frac{1}{2} MN = 0,317 + 0,245 = 0,562$$

$$q = NN + \frac{1}{2} MN = 0,193 + 0,245 = 0,438 \text{ ou } q = 1 - 0,562 = 0,438$$

ou, por intermédio de:

$$p = \frac{(2 \times 125) + 193}{2 \times 394} = 0,562$$

$$q = \frac{(2 \times 76) + 193}{2 \times 394} = 0,438$$

O desvio padrão desses alelos é calculado por intermédio de $\sigma = \sqrt{\frac{pq}{2n}}$ onde n é o número de indivíduos, sendo, portanto, $2n$ o total de alelos.

Obtidas as freqüências esperadas de indivíduos com grupos sanguíneos M , MN e N na hipótese de equilíbrio de Hardy e Weinberg por intermédio de p^2 , $2pq$ e q^2 , respectivamente, pode-se calcular o número esperado de pessoas com cada um desses grupos sanguíneos. Para tanto, basta multiplicar cada percentual pelo tamanho da amostra (n), ou seja, calcular np^2 , $n2pq$ e nq^2 e aplicar um teste de qui-quadrado (χ^2) para averiguar se a diferença entre os números observados e os esperados é significativa ou não. Assim, por exemplo, no caso da amostra de índios xavantes da Tabela 3.1 faríamos o cálculo abaixo:

Valores	M	MN	N	Total
Observados (o)	41	30	8	79
Esperados (e)	39,7	32,6	6,7	79
$\frac{(o - e)^2}{e}$	0,042	0,207	0,252	$\chi^2_{(1)} = 0,501$ $0,30 < P < 0,50$

Os valores de χ^2 calculados para cada uma das amostras da Tabela 3.1 tornam evidente que as diferenças entre números observados e esperados não são significativas, podendo todas as amostras serem consideradas como extraídas de populações em equilíbrio de Hardy e Weinberg quanto aos genótipos MM , MN e NN .

Aqui é importante chamar a atenção do leitor para o fato de os qui-quadrados da Tabela 3.1 terem apenas um grau de liberdade, apesar de existirem três classes esperadas. É que para o cálculo das classes esperadas são necessárias duas informações, isto é, o tamanho da amostra e a freqüência de um dos alelos. Sabendo-se que ***o número***

de graus de liberdade do qui-quadrado é igual ao número de classes esperadas menos o número necessário de informações da amostra para o cálculo das proporções nessas classes, tem-se, no caso presente, que esse número é igual a um, pois $3 - 2 = 1$.

Os exemplos apresentados nas Tabela 3.1, aliados a uma infinidade de outros mencionados na literatura pertinente, servem para demonstrar de modo inequívoco que, apesar de a lei de Hardy e Weinberg ser baseada em um modelo teórico, ela descreve suficientemente bem o que ocorre com grande número de genótipos nas populações reais, pelo menos em um determinado intervalo de tempo. Evidentemente, quando não se consegue demonstrar que uma amostra representa uma população em equilíbrio de Hardy e Weinberg, somos obrigados a investigar a(s) causa(s) desse desvio entre os fatores evolutivos e entre aqueles que alteram as freqüências genotípicas, como é o caso dos casamentos consangüíneos.

O aparente paradoxo da aceitação da hipótese de equilíbrio de Hardy e Weinberg nas populações humanas, apesar de elas estarem sabidamente expostas a fatores que deveriam afetar esse equilíbrio, encontra explicação na acomodação relativamente rápida dessas populações em um novo equilíbrio genético, toda a vez que elas são expostas à atuação de fatores evolutivos. Por outro lado, considerando que as taxas de mutação são bastante baixas, é de se prever que, durante um intervalo relativamente longo, a maioria das características monogênicas que não servem para estimular casamentos preferenciais deve mostrar equilíbrio de Hardy e Weinberg em grandes populações, que vivem em um ambiente relativamente estável, não sujeitas a migrações intensas, nem apresentando alta taxa de casamentos consangüíneos.

ESTIMATIVA DAS FREQUÊNCIAS GÊNICAS E DE HETEROZIGOTOS DE GENES AUTOSSÔMICOS QUANDO EXISTE RELAÇÃO DE DOMINÂNCIA ENTRE OS FENÓTIPOS

A comprovação da validade da lei de Hardy e Weinberg para numerosos caracteres mendelianos sem relação de dominância permite admitir que aqueles com esse tipo de relação também devem obedecer essa lei em grandes populações que vivem em um ambiente relativamente estável, não sujeitas a migrações intensas e que não apresentam alta taxa de casamentos consangüíneos. Tal extrapolação tem um valor prático notável, pois, com base nela, se conhecermos a freqüência populacional de indivíduos com fenótipo recessivo, poderemos estimar as freqüências gênicas e, por

consequente, a frequência com que ocorrem nessa população os indivíduos com fenótipo dominante que são heterozigotos. Vejamos como isso pode ser feito.

Consideremos um par de alelos autossômicos A,a e que, em uma amostra aleatória de n indivíduos, x apresentam o fenótipo recessivo determinado pelo genótipo aa , enquanto y apresentam o fenótipo dominante determinado pelos genótipos AA ou Aa , o qual pode ser, por isso, representado por $A_$. Se aceitarmos que a população da qual foi extraída a amostra está em equilíbrio de Hardy e Weinberg em relação aos genótipos AA , Aa e aa , ou seja, se admitirmos que $AA = p^2$, $Aa = 2pq$ e $aa = q^2$ teremos que $\frac{x}{n} = aa = q^2$.

Nesse caso, a raiz quadrada dessa proporção estimará a frequência q do alelo a , podendo-se escrever, portanto, ser $q = \sqrt{\frac{x}{n}}$ e calcular o desvio padrão de q por intermédio de $\sigma = \sqrt{\frac{1-q^2}{4n}}$, de acordo com Neel e Schull (1954) e Li (1972). Visto que $p+q = 1$, a frequência p do alelo A será estimada a partir de $p = 1-q$ e as frequências dos heterozigotos Aa e dos homozigotos AA serão facilmente obtidas, já que $Aa = 2pq$ e $AA = p^2$.

Para demonstrar a aplicação dessas fórmulas tomemos um exemplo numérico a respeito dos grupos sanguíneos D-positivo e D-negativo do sistema Rh, também conhecidos como Rh-positivo e Rh-negativo. A presença do antígeno D é condicionada por um gene D do loco RHD situado no braço superior do cromossomo número 1, mais precisamente em 1p36.2-p34.3 (Cherif-Zahar *et al.*, 1999). Em consequência de deficiências (*deletions*, em inglês) ou de outras alterações no gene D (Colin *et al.*, 1991), tem-se como resultado a ausência de atividade desse gene, a qual pode ser simbolizada pelo alelo d . Os indivíduos com genótipo DD ou Dd possuem fenótipo dominante D-positivo ou Rh-positivo, enquanto que aqueles com genótipo dd possuem o fenótipo recessivo D-negativo ou Rh-negativo.

Uma amostra da população do Estado de São Paulo, constituída de 2.039 indivíduos cujas hemácias foram testadas com um anti-soro anti-D (anti-Rh₀) revelou que, dentre os indivíduos examinados, 1.848 eram D-positivo e 191 D-negativo (Beiguelman, 1963). Em vista disso, podemos dizer que, nessa amostra, $\frac{191}{2.039} = 0,0937$

ou 9,37% eram homozigotos dd e que $\frac{1.848}{2.039} = 0,9063$ ou 90,63% tinham genótipo D_{-} , isto é, os homozigotos DD e heterozigotos Dd constituíam 90,63% da amostra.

Com base nesses dados, para estimar a frequência de heterozigotos Dd na população da qual procede a amostra em questão, estimamos, inicialmente, a frequência q do alelo d como abaixo:

$$\begin{aligned} dd &= q^2 = 0,0937 \\ d &= q = \sqrt{0,0937} = 0,306 \\ \sigma &= \sqrt{\frac{1 - 0,0937}{4 \times 2.039}} = 0,011 \end{aligned}$$

e, a partir daí, resolvemos:

$$\begin{aligned} D &= p = 1 - 0,306 = 0,694 \\ Dd &= 2pq = 2 \times 0,694 \times 0,306 = 0,4274 \text{ ou } 42,47\%. \end{aligned}$$

Se, em vez de querer estimar qual a frequência de heterozigotos Dd quiséssemos saber qual a proporção de indivíduos D-positivo que são heterozigotos Dd , o cálculo teria que ser diverso, pois agora estamos diante de um problema de **probabilidade condicional**. Visto que queremos saber qual a fração de indivíduos heterozigotos ($2pq$) dentre aqueles que são D-positivo ($p^2 + 2pq$), temos que calcular a probabilidade de um indivíduo ser heterozigoto Dd , **dado que ele é D_{-}** , ou seja, temos que calcular:

$$P(Dd | D_{-}) = \frac{2pq}{p^2 + 2pq} = \frac{2q}{p + 2q}$$

Lembrando que p pode ser substituído por $1 - q$, pode-se escrever, também, que:

$$P(Dd | D_{-}) = \frac{2q}{1 + q}$$

Usando os dados numéricos de nosso exemplo, tem-se que, na população estudada, a frequência de heterozigotos dentre aqueles que são D-positivo pode ser estimada em 46,86%, pois $\frac{2 \times 0,306}{1 + 0,306} = 0,4686$.

Em vista do exposto, se quisermos estimar qual a probabilidade de um casal constituído por cônjuges D-positivo gerar uma criança D-negativo, teremos que considerar a probabilidade de tais cônjuges serem heterozigotos Dd , dado que eles são D-positivo (D_{-}). Considerando que os casais heterozigotos $Dd \times Dd$ têm probabilidade igual a $\frac{1}{4}$ de gerar uma criança D-negativo (dd), tem-se que a probabilidade de um casal constituído por cônjuges D-positivo gerar uma criança D-negativo é calculada a partir da expressão:

$$P(Dd|D_-).P(Dd|D_-). \frac{1}{4} = \frac{2q}{1+q} \cdot \frac{2q}{1+q} \cdot \frac{1}{4} = \frac{q^2}{(1+q)^2} = \left(\frac{q}{1+q} \right)^2$$

de modo que, em relação à população em apreço, essa probabilidade é igual a 5,49%, pois $\left(\frac{0,306}{1,306} \right)^2 = 0,0549$.

Se quiséssemos saber qual a probabilidade de um casal constituído por um cônjuge D-positivo e outro D-negativo gerar uma criança D-negativo, teríamos que levar em conta a probabilidade de o cônjuge D-positivo ser heterozigoto Dd dado que ele é D-positivo (D_-). De fato, sabemos que entre os casais D-positivo \times D-negativo somente podem gerar crianças D-negativo (dd), com probabilidade $\frac{1}{2}$, aqueles cujo cônjuge D-positivo é heterozigoto Dd . Portanto, a probabilidade de um casal composto por um cônjuge D-positivo e outro D-negativo gerar uma criança D-negativo é estimada a partir da expressão:

$$P(Dd|D_-). \frac{1}{2} = \frac{2q}{1+q} \cdot \frac{1}{2} = \frac{q}{1+q}$$

de sorte que, em relação à população de nosso exemplo, essa probabilidade é igual a 23,4%, pois $\frac{0,306}{1,306} = 0,234$.

Quando lidamos com caracteres recessivos raros, como é o caso das hereditopatias recessivas com transmissão monogênica, e sabemos que a taxa de casamentos consangüíneos na população em estudo é tão pequena que pode ser desprezada, o cálculo da probabilidade de encontro de um indivíduo heterozigoto nessa população ou entre os indivíduos normais a ela pertencentes é bem mais simples. Tomemos um exemplo para demonstrar a veracidade dessa afirmação. Consideremos que, dentre 100.000 nascimentos ocorridos em um determinado período em uma certa população caucasóide, com taxa de casamentos consangüíneos desprezível, 5 foram de crianças com o erro inato do metabolismo decorrente da falta de hidroxilase de fenilalanina, ou seja, com fenilcetonúria clássica. Como se sabe, esse erro inato do metabolismo recessivo autossômico, quando não detectado e tratado precocemente com uma dieta pobre em fenilalanina provoca deficiência mental grave.

Pode-se, pois, estimar que a freqüência da fenilcetonúria entre os recém-nascidos da população estudada (incidência) é de 5:100.000 ou 1:20.000. Visto que a

fenilcetonúria é recessiva autossômica, podemos simbolizar o genótipo por aa e escrever:

$$aa = q^2 = \frac{1}{20.000}$$

$$q = \sqrt{\frac{1}{20.000}} \cong \frac{1}{141} \cong 0,0071$$

o que permite estimar a frequência p do alelo “normal” como sendo $p = 1 - q = \frac{140}{141}$ e obter um desvio padrão muito pequeno ($\sigma = 0,0016$).

Levando em conta que $\frac{140}{141}$ é semelhante à unidade, a frequência de heterozigotos Aa poderá ser estimada pelo dobro da estimativa da frequência do alelo a , isto é, $Aa = 2q \cong \frac{1}{70}$. Em outras palavras, por causa da frequência muito alta do alelo A , não é necessário calcular $2pq = 2 \cdot \frac{140}{141} \cdot \frac{1}{141}$ para estimar a frequência de heterozigotos, já que, calculando $Aa = 2q = 2 \cdot \frac{1}{141}$ o resultado que se obtém é, praticamente, o mesmo, isto é, semelhante a $\frac{1}{70}$.

O valor obtido por intermédio de $2q$ também serve para estimar a probabilidade de um indivíduo normal da população ser heterozigoto de um gene raro que, em homozigose, determina uma anomalia. Em outras palavras, para estimar essa probabilidade não é necessário calcular a probabilidade condicional $P(Aa|A_) = \frac{2q}{1+q}$,

porque, por intermédio dessa fórmula, chegar-se-á a uma estimativa semelhante àquela que é dada por $2q$. De fato, empregando os dados de nosso exemplo sobre fenilcetonúria clássica, tem-se que, se a probabilidade de um indivíduo normal da população for

calculada a partir de $P(Aa|A_) = \frac{2q}{1+q}$, obter-se-á um número muito semelhante a $\frac{1}{70}$:

$$\frac{\frac{2}{141}}{1 + \frac{1}{141}} = \frac{2}{142} = \frac{1}{71}$$

AS RELAÇÕES ENTRE AS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS EM POPULAÇÕES EM EQUILÍBRIO DE HARDY E WEINBERG

A discussão feita no tópico anterior a respeito da estimativa da frequência de heterozigotos de genes autossômicos serve, também, para ressaltar que, à medida que

diminui a frequência do alelo determinante do fenótipo recessivo, maior se torna a razão entre a frequência de heterozigotos e homozigotos recessivos, isto é, a razão $\frac{Aa}{aa}$.

Realmente, no exemplo sobre a frequência de fenilcetonúricos podemos verificar que a proporção de heterozigotos do gene da fenilcetonúria clássica é, praticamente, 286 vezes maior do que a de fenilcetonúricos, pois, dentre cada 70 indivíduos da população em estudo, um é heterozigoto, enquanto que a proporção de fenilcetonúricos é de um em cada 20.000 indivíduos. Já em relação aos indivíduos D-positivo e D-negativo de nosso outro exemplo pode-se constatar que a frequência de heterozigotos Dd é apenas cerca de 4,5 vezes maior do que a de homozigotos dd , pois os primeiros ocorrem com frequência igual a 42,47% e os últimos com frequência igual a 9,37%.

A Fig.1.1 mostra, graficamente, as relações entre as frequências p e q de dois alelos autossômicos designados por A e a , e as frequências genótípicas (AA , Aa e aa) em populações em equilíbrio de Hardy e Weinberg. Essa figura deixa claro que, se uma população estiver em equilíbrio de Hardy e Weinberg, a frequência máxima de heterozigotos (Aa) é de 50% ou 0,5, e que isso ocorre quando os dois alelos têm a mesma frequência, isto é, $p = q = 0,5$. Nessa situação, os homozigotos têm a mesma frequência, que é igual a 25% ($AA = aa = 0,25$). Por aí se vê que, a respeito da geração inicial do exemplo dado na Tabela 1.1, podemos dizer, de imediato, que ela não representa uma população em equilíbrio de Hardy e Weinberg, já que nela, os heterozigotos Aa aparecem com frequência igual a 60%. Nesse exemplo da Tabela 1.1, a distribuição dos genótipos $AA : Aa : aa :: 30% : 60% : 10%$ foi proposital, para deixar claro que uma única geração de panmixia é suficiente para que a população passe a mostrar equilíbrio de Hardy e Weinberg.

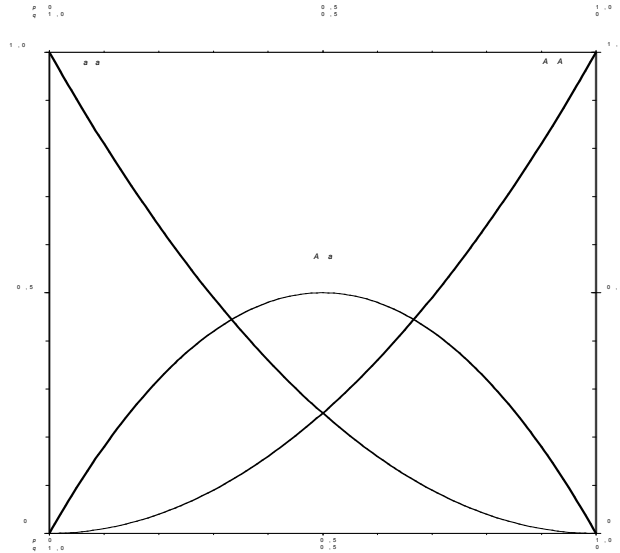


Fig.1.1 Gráfico das relações entre as frequências p e q de um par de alelos autossômicos A , a e as frequências genóticas AA , Aa e aa em populações em equilíbrio de Hardy e Weinberg.

COMPARAÇÃO DE VÁRIAS AMOSTRAS

Quando estudamos amostras de várias populações quanto a caracteres determinados por um par de alelos autossômicos, é muito comum que se queira comparar essas amostras, a fim de investigar se elas podem ser reunidas em uma única ou se isso não deve ser feito, em decorrência de uma diferença significativa entre elas. No caso de os alelos autossômicos não mostrarem relação de dominância e recessividade entre si, a comparação entre as diferentes amostras pode ser feita, facilmente, levando em conta a distribuição gênica. Se as amostras representarem populações em equilíbrio de Hardy e Weinberg poder-se-á usar a alternativa de comparar as distribuições genóticas dessas amostras.

Para exemplificar, tomemos os dados da Tabela 3.1, que permitem fazer a contagem dos genes $M = 2MM + MN$ e $N = 2NN + MN$ como na Tabela 4.1 e aplicar um teste de qui-quadrado para esses dados. O valor do qui-quadrado com 4 graus de liberdade ($\chi^2_{(4)} = 22,896$; $P < 0,001$) assinalado abaixo dessa tabela indica que as cinco amostras não podem ser reunidas em uma única por diferirem significativamente quanto às proporções dos alelos M e N . Entretanto, se retirarmos da comparação feita na Tabela 4 a amostra de índios xavantes, verificaremos que as outras quatro amostras podem ser reunidas em uma única, já que, nelas, a proporção dos alelos M e N não diferem significativamente ($\chi^2_{(3)} = 4,521$; $0,20 < P < 0,30$).

Tabela 4.1. Comparação das cinco amostras da Tabela 3.1 quanto às proporções dos alelos

M e N.

AMOSTRA	<i>M</i>	<i>N</i>	TOTAL
N.- americanos	443	345	788
Holandeses	192	192	384
Ingleses	1.360	1.198	2.558
Xavantes	112	46	158
Brasileiros	110	90	200
Total	2.217	1.871	4.088

$$\chi^2_{(4)} = 22,896; P < 0,001$$

Visto que todas as amostras da Tabela 3.1 estão em equilíbrio de Hardy e Weinberg, chegaríamos a um resultado semelhante ao da análise feita na Tabela 4 se tivéssemos comparado a distribuição genotípica dessas amostras. Assim, também concluiríamos que as cinco amostras não podem ser reunidas em uma única ($\chi^2_{(8)} = 25,897; P < 0,01$), mas que retirando os xavantes da comparação, as outras quatro amostras não mostrariam diferença significativa entre elas ($\chi^2_{(6)} = 5,710; 0,30 < P < 0,50$).

Nos casos em que queremos comparar várias amostras quanto a fenótipos resultantes de um par de alelos que mostram relação de dominância e recessividade não temos alternativas, pois o único modo de compará-las é em relação à distribuição fenotípica. Assim, por exemplo, se quiséssemos comparar amostras de caucasóides, afro-descendentes e descendentes de japoneses quanto à frequência de indivíduos Rh-positivo (*D*₋) e Rh-negativo (*dd*) apresentadas na Tabela 5.1, teríamos que comparar as proporções ali apresentadas e concluir, em vista do alto valor do qui-quadrado com dois graus de liberdade, que elas diferem significativamente.

Tabela 5.1. Frequência de indivíduos D-positivo e D-negativo do sistema sanguíneo Rh em brasileiros caucasóides, afro-descendentes e descendentes de japoneses. Entre parênteses foram assinalados os valores em porcentagem.

AMOSTRA	D-positivo	D-negativo	TOTAL
Caucasóides	2247 (87,4)	324 (12,6)	2571
Afros	216 (91,5)	20 (8,5)	236
Japoneses	293 (97,7)	7 (2,3)	300

$$\chi^2_{(2)} = 30,343; P < 0,001$$

QUESTÕES E RESPOSTAS

Q 1. O sangue de 200 indivíduos coletados aleatoriamente em uma população foi estudado eletroforeticamente no intuito de determinar os tipos de haptoglobina, tendo-se observado as seguintes freqüências genótípicas:

$$Hp^1Hp^1 = 32\%; \quad Hp^1Hp^2 = 46\%; \quad Hp^2Hp^2 = 22\%$$

Com base nesses dados estimar as freqüências dos alelos autossômicos Hp^1 e Hp^2 na população representada por essa amostra e o desvio padrão.

R 1. $Hp^1 = p = 0,32 + 0,23 = 0,55$

$$Hp^2 = q = 1 - 0,55 = 0,45$$

$$\sigma = 0,025$$

Q 2. A amostra da questão anterior pode ser considerada como representativa de uma população em equilíbrio de Hardy e Weinberg?

R 2. Sim, porque $\chi^2_{(1)} = 0,999$; $0,30 < P < 0,50$.

Q 3. Qual o percentual de casais heterozigotos $Hp^1Hp^2 \times Hp^1Hp^2$ que devemos esperar na população representada pela amostra da questão número 1?

R 3. 24,5%, pois:

$$Hp^1Hp^2 = 2pq = 2 \times 0,55 \times 0,45 = 0,495$$

$$Hp^1Hp^2 \times Hp^1Hp^2 = 0,495 \times 0,495 = 0,245$$

Q 4. Em uma população 70% dos indivíduos apresentam o genótipo AA e 30% o genótipo aa , sendo os alelos A e a genes autossômicos. Com base nesses dados pergunta-se:

a) Qual a freqüência dos alelos A e a ?

b) A população está em equilíbrio de Hardy e Weinberg?

c) Qual a distribuição genotípica esperada em equilíbrio de Hardy e Weinberg?

R 4. a) $A = p = 0,70$; $a = q = 0,30$

b) Não e nem é preciso fazer qualquer teste para demonstrar isso, porque essa população não apresenta heterozigotos.

c) $AA = 0,49$; $Aa = 0,42$; $aa = 0,09$.

Q 5. Com o emprego dos anti-soros anti-M e anti-N foram determinados os grupos sanguíneos M, MN e N de uma amostra aleatória de 100 indivíduos de uma população, encontrando-se a seguinte distribuição:

$$M = 20\%; \quad MN = 64\%; \quad N = 16\%$$

Visto que esses grupos sanguíneos são caracteres autossômicos e correspondem aos genótipos MM , MN e NN quer-se saber quais as estimativas das frequências dos alelos M e N a partir dessa amostra e o seu desvio padrão.

R 5. $M = p = 0,52$; $N = q = 0,48$; $\sigma = 0,035$

Q 6. Pode-se considerar que a amostra da questão anterior representa uma população em equilíbrio de Hardy e Weinberg quanto aos grupos sanguíneos M , MN e N ?

R 6. Não, porque $\chi^2_{(1)} = 7,955$; $P < 0,01$.

Q 7. Ao estudar a distribuição dos grupos sanguíneos M , MN e N em uma amostra aleatória de indivíduos de uma população verificou-se a relação $\frac{MN}{\sqrt{M \times N}} = 2$. O que significa essa relação?

R 7. Essa relação significa que as frequências observadas correspondem exatamente às esperadas em equilíbrio de Hardy e Weinberg, pois $\frac{2pq}{\sqrt{p^2 \times q^2}} = \frac{2pq}{pq} = 2$.

Q 8. Em uma amostra de 200 pacientes com tuberculose pulmonar verificou-se que 128 eram acetiladores lentos de isoniazida, que, pelos métodos bioquímicos comuns, é um fenótipo recessivo em relação ao da acetilação rápida desse medicamento empregado no tratamento da tuberculose. Com base nesses dados estimar a frequência do alelo que determina a acetilação lenta da isoniazida e o desvio padrão.

R 8. Se $q^2 = \frac{128}{200} = 0,64$, tem-se $q = \sqrt{0,64} = 0,80$ e $\sigma = \sqrt{\frac{1 - 0,64}{800}} = 0,021$.

Q 9. A frequência de indivíduos Rh-negativo (dd) em uma população é estimada em 9%. Qual a estimativa da frequência de mulheres Rh-positivo heterozigotas (Dd) nessa mesma população?

R 9. 42%, porque sendo $d = q = \sqrt{0,09} = 0,30$ e $D = p = 1 - 0,30 = 0,70$, tem-se que $Dd = 2pq = 2 \times 0,70 \times 0,30 = 0,42$.

Q 10. Em uma população cuja frequência de indivíduos Rh-negativo (dd) é estimada em 16%, quer-se saber qual a probabilidade de um casal Rh-positivo ter um filho Rh negativo?

R 10. 8,16%, porque $q = \sqrt{0,16} = 0,40$ e $P(Dd|D_).P(Dd|D_).$ $\frac{1}{4} = \left(\frac{0,40}{1,40}\right)^2 = 0,0816$.

Q 11. Em uma cidade constituída basicamente por caucasóides de origem européia mediterrânea estima-se que 1% das crianças manifestam anemia de Cooley (talassemia β homozigótica). Sabendo-se que, nessa população, a taxa de casamentos

consangüíneos é desprezível, quer-se saber, sem fazer o rastreamento de heterozigotos, qual a estimativa da frequência, nessa população :

- a) do gene da talassemia β ?
- b) de heterozigotos desse gene?
- c) de casais heterozigotos da talassemia β ?

R 11. a) $q = \sqrt{0,01} = 0,10$ ou 10%

b) $2pq = 0,18$ ou 18%.

c) $4p^2q^2 = 0,324$ ou 32,4%.

Q 12. Ao estudar uma amostra de 2.520 brasileiros afro-descendentes adultos não se assinalou nenhum caso de anemia falciforme (homozigose do gene da hemoglobina S, isto é, SS), mas constatou-se que 202 apresentavam o traço siclêmico. Quer-se saber:

- a) Qual a estimativa da frequência do gene da hemoglobina S na população representada por essa amostra?
- b) Qual a incidência de anemia falciforme por 100.000 crianças afro-descendentes, que se espera nessa população, se ela estiver em equilíbrio de Hardy e Weinberg?

R 12. a) $S = q = \frac{202}{2 \times 2.520} = 0,04$.

b) 160: 100.000, pois $SS = q^2 = 0,0016$ ou $P(AS \times AS) \frac{1}{4} = 0,08 \times 0,08 \times 0,25 = 0,0016$.

Q 13. A frequência de hiperplasia congênita das supra-renais por deficiência de 11- β -hidroxilase foi estimada em 1: 10.000 entre as crianças de uma cidade. Se a taxa de casamentos consangüíneos na população dessa cidade for desprezível, qual será a estimativa da frequência:

- a) do gene determinante da deficiência de 11- β -hidroxilase?
- b) de heterozigotos desse gene?

R 13. a) $q = 0,01$.

b) $2q = 0,02$.

Q 14. Numa população altamente miscigenada, com predomínio do componente africano, a incidência de anemia falciforme na população é estimada em 16 por 10.000 nascimentos. Qual o risco que correm os(as) irmãos(ãs) clinicamente normais desses pacientes de gerar uma criança com anemia falciforme se vierem a casar com uma pessoa clinicamente normal da mesma população.

R 14. O risco é estimado em cerca de 1 : 78. De fato, sabemos que um(a) irmão(ã) clinicamente normal de um paciente com anemia falciforme tem, *a priori*, a

probabilidade igual a $2/3$ de ser heterozigoto do gene da hemoglobina ciclêmica. Por outro lado, tendo em mente que a frequência q do gene da hemoglobina ciclêmica é a raiz quadrada de $q^2 = 0,0016$, isto é $q = 0,04$, conclui-se que a frequência de heterozigotos desse gene na população geral é igual a $2pq = 2 \times 0,96 \times 0,04 = 0,0768$. Finalmente, lembrando que um casal de heterozigotos corre o risco de $1/4$ de gerar um filho homozigoto tem-se:

$$2/3 \times 0,0768 \times 1/4 = 0,0128 \text{ ou cerca de } 1:78$$

porque levamos em conta a probabilidade de um(a) irmão(ã) de um paciente com anemia falciforme ser heterozigoto, a probabilidade de o cônjuge clinicamente normal oriundo da mesma população ser heterozigoto, e a probabilidade de, sendo ambos heterozigotos, gerarem uma criança homozigota.

REFERÊNCIAS

- Beiguelman, B. Grupos sanguíneos e lepra. *Rev. Bras. Lepr.* 31: 34-44, 1963.
- Cherif-Zahar, B., Mattei, M.G., Le Van Kim, C., Bailly, P., Cartron, J.-P. & Colin, Y. Localization of the human Rh blood group gene structure to chromosome region 1p34.3-1p36.1 by *in situ* hybridization. *Hum Genet.* 86: 398-400, 1991.
- Colin, Y., Cherif-Zahar, B., Le Van Kim, C., Raynal, V., Van Huffel, V. & Cartron, J.P. Genetic basis of the RhD-positive and RhD-negative blood group polymorphism as determined by Southern analysis. *Blood* 78: 2747-2752, 1991.
- Hardy, G.H. Mendelian proportions in a mixed population. *Science* 78: 49-50, 1908.
- Li, C.C. *Population genetics*. Univ. Chicago Press, Chicago, 1972.
- Neel, J.V. & Schull, W.J. *Human heredity*. Univ. Chicago Press, Chicago, 1954.
- Neel, J.V., Salzano, F.M., Junqueira, P.C., Keiter, F. & Maybury-Lewis, D. Studies on the Xavante Indians of the Brazilian Mato Grosso. *Hum. Genet.* 16: 52-140, 1964.
- Race, R.R. & Sanger, R. *Blood groups in Man*. Blackwell Scient. Publ., Oxford, 1962.
- Saldanha, P.H., Frota-Pessoa, O., Eveleth, P., Ottensooser, F., Cunha, A.B., Cavalcanti, M.A.A. & outros. Estudo genético e antropológico de uma colônia de holandeses no Brasil. *Rev. Antrop. (Brasil)* 8: 1-42, 1960.
- Weinberg, W. Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen. *Jahreshefte Verein f. vaterl. Naturk. in Wurtemberg* 64: 368-382, 1908.
- Wiener, A.S. & Wexler, I.B. *Heredity of the blood groups*. Grune and Stratton, N. York, 1958.