

## CAPÍTULO 2. O DIAGNÓSTICO DA ZIGOSIDADE

### EMPREGO DE CARACTERES MONOGÊNICOS

A atribuição de monozigosidade ou de dizigosidade aos gêmeos pode ser feita por intermédio da investigação da concordância dos gêmeos em relação a marcadores genéticos, os quais podem ser polimorfismos de DNA, como os genes de locos de *mini-satélites*, também conhecidos pela sigla STR (do inglês, *short tandem repeat*), usados mais modernamente, e(ou) polimorfismos genéticos clássicos como os grupos sanguíneos eritrocitários, os grupos do sistema HLA, as haptoglobinas, os grupos Gm etc. Quaisquer que sejam os marcadores, o método utilizado para investigar a zigosidade dos gêmeos tem, como princípio básico, que essa investigação somente é necessária em pares de gêmeos do mesmo sexo, já que os discordantes quanto ao sexo são, regra geral, dizigóticos (DZ), pois, como já vimos no capítulo anterior, são raríssimos os gêmeos monozigóticos (MZ) compostos por um elemento do sexo masculino e outro do sexo feminino.

O método utilizado para a investigação da zigosidade é probabilístico e tem por objetivo calcular a probabilidade de um par de gêmeos, ainda que DZ, ser concordante em relação a uma série de caracteres. Se essa probabilidade for muito pequena, o que equivalerá a uma grande probabilidade de monozigose, rejeitar-se-á a hipótese de dizigosidade em favor da de monozigosidade. Nesse método, a primeira situação a ser levada em conta diz respeito à frequência com que os pares DZ e os MZ ocorrem entre os gêmeos da população da qual se originam, pois essas frequências são tomadas como estimativas da probabilidade de ocorrência desses pares. Assim, se a investigação da zigosidade for feita em um lugar onde a proporção de DZ e de MZ entre os gêmeos é, respectivamente, 55% e 45%, admitiremos que um par de gêmeos concordantes quanto ao sexo tem probabilidade igual a 55% de ser um par DZ e que a probabilidade de esse par ser MZ é 45%. Se a investigação da zigosidade for feita em uma localidade onde 70% dos gêmeos são DZ e 30% são MZ é claro que admitiremos *a priori* que um par de gêmeos do mesmo sexo tem probabilidade igual a 70% de ser DZ.

A segunda situação que é levada em conta nesse método é a probabilidade de concordância do par de gêmeos DZ quanto ao sexo. Se aceitarmos que a probabilidade de nascer um indivíduo do sexo masculino é, praticamente, a mesma de nascer um do sexo feminino, tem-se que a probabilidade de um par de gêmeos DZ ser do mesmo sexo é igual a 0,5 ou 50 %. Em relação aos pares MZ, essa probabilidade é, evidentemente, sempre 1 ou 100 %, pois aceitamos que, com certeza, os pares MZ são concordantes quanto ao sexo.

Quando os polimorfismos genéticos utilizados para a comparação dos gêmeos são os marcadores genéticos clássicos, devemos considerar quatro situações diferentes (Beiguelman, 1971<sub>a</sub>), conforme se conheça:

- a) o genótipo dos gêmeos e o de seus pais;
- b) o genótipo dos pais, mas não o dos gêmeos;
- c) somente o fenótipo dos gêmeos e o de seus pais;
- d) somente a constituição genotípica ou fenotípica dos gêmeos;

mas, quando se trabalha com mini-satélites, temos que levar em conta apenas a primeira e a última dessas situações (a e d), porque, a investigação do DNA sempre permite a determinação do genótipo dos indivíduos examinados.

#### **a) O genótipo dos gêmeos e de seus pais é conhecido**

Quando se conhece a constituição genotípica dos gêmeos e a de seus pais, o diagnóstico da zigosidade é muito simples. Para exemplificar, consideremos, inicialmente, os resultados da investigação dos alelos pertencentes a oito locos STR de um casal caucasóide e de suas filhas gêmeas (Tabela 1.2) e admitamos que, na população de origem desse casal, a frequência de pares DZ entre os nascimentos gemelares é estimada em 55%.

Os dados da Tabela 1.2 permitem concluir que uma criança gerada pelo casal em estudo tem probabilidade igual a 50% de ser 9-10 no loco F13B, 50% de ser 5-5 no loco CD4, 25% de ser 11-14 no loco PLA2A1, 25% de ser 10-12 no loco CSF1PO, 25% de ser 6-9 no loco THO1, 50% de ser 8-11 no loco TPOX, 25% de ser 6-18 no loco vWA e 25% de ser 11-11 no loco LPL. Como consequência, pode-se concluir que, *dado que* o genótipo de uma filha de um casal como o da Tabela 1.2 é 9-10 no loco F13B, a probabilidade de sua gêmea ter o mesmo genótipo, apesar de ser DZ, é 50%. De fato, por se tratar de

*probabilidade condicional*, tem-se  $P(9-10. 9-10 | 9-10) = \frac{0,50 \times 0,50}{0,50} = 0,50$ . De modo

análogo, chegamos à conclusão que *dado que* o genótipo de uma filha de um casal como o da Tabela 1.2 é 11-14 no loco PLA2A1, a probabilidade de sua gêmea DZ ter o mesmo genótipo é 25% porque  $P(11-14. 11-14 | 11-14) = \frac{0,25 \times 0,25}{0,25} = 0,25$ , e assim por diante.

Tabela 1.2 Resultados da investigação dos alelos presentes em oito locos STR de um casal e de suas filhas gêmeas.

Loco	Pai	Mãe	Gêmeas
F13B	8-9	10-10	9-10
CD4	5-5	5-10	5-5
PLA2A1	14-15	11-15	11-14
CSF1PO	11-12	10-11	10-12
THO1	6-7	7-9	6-9
TPOX	8-8	9-11	8-11
vWA	16-17	17-18	16-18
LPL	11-13	10-11	11-11

Com base no exposto, podemos, pois, estimar que a probabilidade conjunta de as gêmeas da Tabela 1.2, mesmo que DZ (probabilidade de 55 %, isto é,  $P = 0,55$ ), serem concordantes quanto ao sexo ( $P = 0,50$ ) e quanto aos genótipos 9-10 do loco F13B ( $P = 0,50$ ), 5-5 do loco CD4 ( $P = 0,50$ ), 11-14 do loco PLA2A1 ( $P = 0,25$ ), 10-12 do loco CSF1PO ( $P = 0,25$ ), 6-9 do loco THO1 ( $P = 0,25$ ), 8-11 do loco TPOX ( $P = 0,50$ ), 16-18 do loco vWA ( $P = 0,25$ ) e 11-11 do loco LPL ( $P = 0,25$ ) é o produto de todas essas probabilidades, o que dá, como resultado,  $P = 0,0000336$ . Por outro lado, estimando-se que a probabilidade de ocorrência de um par MZ entre os gêmeos dessa população é 45% e que, por princípio, se aceita que os pares MZ têm o mesmo sexo e são concordantes em relação a todos os marcadores genéticos estudados, teremos que a probabilidade conjunta de as gêmeas da Tabela 1.2, em sendo MZ ( $P = 0,45$ ), serem concordantes quanto ao sexo e aos genótipos analisados ( $P = 1$ ) é, pois, igual a 0,45. Tais estimativas permitem, agora,

calcular a probabilidade de as gêmeas em questão serem DZ em 0,007% e a de elas serem MZ em 99,993% porque:

$$P(DZ) = \frac{0,0000336}{0,45 + 0,0000336} = 0,00007$$

$$P(MZ) = \frac{0,45}{0,45 + 0,0000336} = 0,99993 \text{ ou } P(MZ) = 1 - 0,00007 = 0,99993$$

*Diante dessa altíssima probabilidade de monozigosidade, concluímos, evidentemente, pela aceitação da hipótese de que as gêmeas são MZ.*

Consideremos, agora, que, em vez da investigação dos alelos dos locos STR, o casal e suas filhas gêmeas, bem como duas outras filhas do mesmo casal, nascidas de partos sucessivos, tivessem sido estudadas quanto aos grupos sanguíneos dos sistemas ABO, MNSs, P, Rh, Kell, Duffy, Kidd e Xg, obtendo-se os resultados apresentados na Tabela 2.2. Graças às filhas do grupo O (genótipo  $OO$ ),  $P_2$  (genótipo  $P_2P_2$ ) e Xg(a-) (genótipo  $XgXg$ ), tais resultados permitem inferir que o casal tem constituição genotípica  $AO$  no sistema ABO e  $P_1P_2$  no sistema P, e que a mãe tem genótipo  $Xg^aXg$  no sistema Xg,

Os dados da Tabela 2.2 também permitem constatar, facilmente, que uma criança gerada pelo casal em estudo tem probabilidade igual a 25% de ser  $OO$ , 25% de ser  $MS/Ms$ , 25% de ser  $P_2P_2$ , 25% de ser  $CDe/cDE$ , 50% de ser  $Kk$ , 50% de ser  $Fy^aFy^b$ , 50% de ser  $Jk^ak^b$  e, quando do sexo feminino, 50% de ser  $XgXg$ .

Tabela 2.2 Constituição genotípica quanto aos grupos sanguíneos de vários sistemas, de uma família que inclui um par de gêmeas.

Sistema	Pai	Mãe	Gêmeas	Filha	Filha
ABO	$AO$	$AO$	$OO$	$OO$	$A$
MNSs	$MS/NS$	$Ms/Ns$	$MS/Ms$	$MS/Ms$	$Ms/NS$
P	$P_1P_2$	$P_1P_2$	$P_2P_2$	$P_1$	$P_2P_2$
Rh	$CDe/cde$	$CDe/cDE$	$CDe/cDE$	$CDe/CDe$	$CDe/CDe$
Kell	$Kk$	$Kk$	$Kk$	$kk$	$Kk$
Duffy	$Fy^by^b$	$Fy^aFy^b$	$Fy^aFy^b$	$Fy^aFy^b$	$Fy^by^b$
Kidd	$Jk^bJk^b$	$Jk^ak^b$	$Jk^ak^b$	$Jk^bJk^b$	$Jk^ak^b$
Xg	$XgY$	$Xg^aXg$	$XgXg$	$Xg^aXg$	$XgXg$

Pode-se, agora, empregar o mesmo raciocínio utilizado em relação aos dados da Tabela 1.2, para estimar a probabilidade conjunta de as gêmeas da Tabela 2.2 serem DZ (probabilidade de 55 %, isto é,  $P = 0,55$ ) e, mesmo assim, serem concordantes quanto ao

sexo ( $P = 0,50$ ) e quanto aos genótipos  $OO$  ( $P = 0,25$ ),  $MS/Ms$  ( $P = 0,25$ ),  $P_2P_2$  ( $P = 0,25$ ),  $CDe/cDE$  ( $P = 0,25$ ),  $Kk$  ( $P = 0,50$ ),  $Fy^aFy^b$  ( $P = 0,50$ ),  $Jk^aJk^b$  ( $P = 0,50$ ) e  $XgXg$  ( $P = 0,50$ ). Desse modo, obtém-se 0,000067, que é o produto de todas essas probabilidades. Por outro lado, estimando-se que a probabilidade de ocorrência de um par MZ entre os gêmeos dessa população é 45% e que, por princípio, se aceita que os pares MZ têm o mesmo sexo e são concordantes em relação a todos os marcadores genéticos estudados, teremos que a probabilidade conjunta de as gêmeas da Tabela 2.2, em sendo MZ ( $P = 0,45$ ), serem concordantes quanto ao sexo e aos genótipos analisados ( $P = 1$ ) é igual a 0,45. Tais estimativas permitem, agora, calcular a probabilidade de as gêmeas em questão serem DZ em 0,01%, a qual é uma probabilidade muito baixa diante da probabilidade de elas serem MZ (99,9%) porque:

$$P(DZ) = \frac{0,000067}{0,45 + 0,000067} = 0,0001$$

$$P(MZ) = \frac{0,45}{0,45 + 0,000067} = 0,9999 \text{ ou } P(MZ) = 1 - 0,0001 = 0,9999$$

Como se vê, quando se conhece o genótipo dos genitores e dos gêmeos, os sistemas genéticos clássicos também permitem o diagnóstico da zigosidade com a mesma precisão que os polimorfismos de DNA. Os locos dos mini-satélites têm, entretanto, a vantagem de fornecer sempre o genótipo dos indivíduos examinados, isto é, a vantagem de seus alelos serem sempre codominantes, o que nem sempre ocorre com os polimorfismos genéticos clássicos. Além disso, os mini-satélites têm maior probabilidade de serem informativos para o diagnóstico da zigosidade do que os polimorfismos genéticos clássicos, porque a probabilidade de heterozigose nos locos STR é sempre alta, variando entre 70% a 80% em qualquer população.

De fato, a homozigose de ambos os genitores é um entrave ao diagnóstico da zigosidade. Assim, se tanto o pai quanto a mãe dos gêmeos forem, por exemplo, homozigotos  $OO$  ou  $MS/MS$  ou  $P_2P_2$ , está claro que os gêmeos e quaisquer outros filhos desse casal terão, com certeza, essa mesma constituição genotípica. Tais genótipos não serão, pois, informativos, para o diagnóstico da zigosidade. Do mesmo modo, se tanto o pai quanto a mãe dos gêmeos forem, por exemplo, 5-5 no loco CD4 ou 11-11 no loco PLA2A1

ou 12-12 no loco CSF1PO, é evidente que, também esses locos, não serão informativos para concluir a favor ou contra a hipótese de dizigossidade.

Quando um pesquisador interessado no diagnóstico da zigossidade de gêmeos tiver limitações quanto ao número de locos STR a serem investigados, ele poderá valer-se do recurso alternativo de combinar os resultados alcançados com o estudo de DNA com os obtidos com polimorfismos genéticos clássicos.

Uma observação que parece pertinente diz respeito à probabilidade inicial que é levada em conta no cálculo da zigossidade. Alguns autores preferem seguir a orientação de Maynard-Smith e Penrose (1955) que, em vez de considerar as proporções de DZ e MZ entre os gêmeos como as estimativas das probabilidades de ocorrência desses tipos de gêmeos, usaram a relação entre essas proporções. Assim, se numa população as estimativas forem 55% de DZ e 45% de MZ, a relação a favor dos DZ será 1,222:1 porque  $\frac{0,55}{0,45} = 1,222$ . Se as estimativas das proporções de DZ e MZ forem, respectivamente, 70% e

30%, a relação a favor dos DZ será, evidentemente, 2,333:1 porque  $\frac{0,70}{0,30} = 2,333$ .

Quando essa orientação é seguida, *o resultado final é exatamente o mesmo*, mas as fórmulas utilizadas para obter as probabilidades de dizigossidade e de monozigossidade são diferentes. Para exemplificar, tomemos, inicialmente, os dados da Tabela 1.2, a respeito de gêmeos que pertencem a uma população na qual as proporções de DZ e MZ entre eles são, respectivamente, 55% e 45%. Se seguíssemos o que preconizaram Maynard-Smith e Penrose (1955), a probabilidade conjunta que calcularíamos para um par DZ concordante em relação ao sexo e a todos os caracteres estudados seria:

$$1,222 \times 0,5 \times 0,5 \times 0,5 \times 0,25 \times 0,25 \times 0,25 \times 0,50 \times 0,25 \times 0,25 = 0,000746$$

enquanto que para um par MZ a probabilidade conjunta seria igual a 1. Isso permitiria calcular a probabilidade de dizigose em 0,007% e a de monozigose em 99,993% porque:

$$P(DZ) = \frac{0,000746}{1 + 0,000746} = 0,0007 \text{ e } P(MZ) = \frac{1}{1 + 0,000746} = 0,99993.$$

Em relação aos gêmeos cujos dados estão expressos na Tabela 2.2 teríamos a seguinte probabilidade conjunta para um par DZ :

$$1,222 \times 0,50 \times 0,25 \times 0,25 \times 0,25 \times 0,25 \times 0,50 \times 0,50 \times 0,50 \times 0,50 = 0,000149$$

o que permitiria obter  $P(DZ) = 0,01\%$  e  $P(MZ) = 99,99\%$ , como anteriormente, porque:

$$P(DZ) = \frac{0,000149}{1 + 0,000149} = 0,0001 \text{ e } P(MZ) = \frac{1}{1 + 0,000149} = 0,9999$$

**b) O genótipo dos pais é conhecido, mas não o dos gêmeos.**

Quando, mesmo conhecendo a constituição genotípica dos genitores, somente se consegue o fenótipo dos gêmeos, a estimativa da probabilidade de monozigosidade diminui, em relação à obtida levando em conta a constituição genotípica dos pais e filhos (Beiguelman, 1971<sub>a</sub>). Realmente, se nos dados da Tabela 2.2 os grupos sanguíneos das gêmeas fosse A e P<sub>1</sub>, em vez de O e P<sub>2</sub>, sua constituição genotípica não poderia ser determinada em relação a esses dois fenótipos.

Tendo em mente que uma criança gerada por um casal como o da Tabela 2.2 tem probabilidade igual a 75% de ser do grupo A (25% de ser AA e 50% de ser AO) e, do mesmo modo, 75% de ser do grupo P<sub>1</sub> (25% de ser P<sub>1</sub>P<sub>1</sub> e 50% de ser P<sub>1</sub>P<sub>2</sub>), pode-se aceitar que a probabilidade conjunta de um par de gêmeas filhas de um casal como o da Tabela 2.2 ser DZ e, apesar disso, ser concordante quanto ao sexo e aos genótipos e fenótipos estudados (A, MS/Ms, P1, CDe/cDE, Kk, Fy<sup>a</sup>Fy<sup>b</sup>, Jk<sup>a</sup>Jk<sup>b</sup> e XgXg) passaria a ser  $0,55 \times 0,5 \times 0,75 \times 0,25 \times 0,75 \times 0,25 \times 0,5 \times 0,5 \times 0,5 \times 0,5 = 0,000604$ . Em consequência, a probabilidade de essas gêmeas serem DZ seria estimada em 0,13 % e a de serem MZ em 99,87 %, pois:

$$P(DZ) = \frac{0,00604}{0,45 + 0,000604} = 0,0013$$

$$P(MZ) = 1 - 0,0013 = 0,9987 \text{ ou}$$

$$P(MZ) = \frac{0,45}{0,45 + 0,000604} = 0,9987$$

**c) Somente se conhece o fenótipo dos pais e dos gêmeos**

Quando se conhece somente o fenótipo dos pais e dos gêmeos, a estimativa da probabilidade de monozigosidade é menor do que a do item precedente. Assim, por exemplo, se o casal da Tabela 2.2 não tivesse gerado outras filhas, além das gêmeas, e se os

grupos sanguíneos dessas gêmeas fossem A e  $P_1$ , não teríamos como saber se o genótipo do casal é  $AA$  ou  $AO$ , ou se ele é  $P_1P_1$  ou  $P_1P_2$ . Deveríamos, pois, considerar que o casal poderia ser  $AA \times AA$ ,  $AA \times AO$  ou  $AO \times AO$  e, de modo análogo,  $P_1P_1 \times P_1P_1$ ,  $P_1P_1 \times P_1P_2$  ou  $P_1P_2 \times P_1P_2$ .

Designando por  $p$  e  $r$  as frequências dos genes A e O do sistema ABO, tem-se que, na população em equilíbrio de Hardy e Weinberg, os indivíduos  $AA$  são encontrados com frequência  $p^2$  e os indivíduos  $AO$  com frequência  $2pr$ . Desse modo, a frequência dos casais  $AA \times AA$  será  $p^4$ , a dos casais  $AO \times AO$  será  $4p^2r^2$  e a dos casais  $AA \times AO$  será  $4p^3r$  pois, neste último caso, temos que somar a frequência dos casais em que o marido é  $AA$  e a esposa  $AO$  ( $2p^3r$ ) com a daqueles em que o marido é  $AO$  e a mulher é  $AA$  ( $2p^3r$ ). Sabendo que na população caucasóide do Estado de São Paulo as estimativas das frequências dos genes A, B e O do sistema ABO são, respectivamente,  $p = 0,242$ ,  $q = 0,069$  e  $r = 0,689$  (Beiguelman, 1983), podemos estimar que a frequência populacional dos casais em apreço é:

$$AA \times AA = 0,0034$$

$$AA \times AO = 0,0391$$

$$\underline{AO \times AO = 0,1112}$$

$$\text{Total} = 0,1537$$

Muitos autores seguem a recomendação de Maynard-Smith e Pensrose (1955) e usam essas estimativas para calcular a proporção de cada um desses três tipos de casais entre os casais  $A \times A$ , operando como abaixo:

$$AA \times AA = 0,0034 \div 0,1537 = 0,0221$$

$$AA \times AO = 0,0391 \div 0,1537 = 0,2544$$

$$AO \times AO = 0,1112 \div 0,1537 = 0,7235$$

Em seguida, levando em conta que os casais  $AA \times AA$  e os casais  $AA \times AO$  podem gerar somente filhos do grupo sanguíneo A (probabilidade igual a 1) e os casais  $AO \times AO$  têm probabilidade  $\frac{3}{4}$  ou 75% de gerar um filho do grupo A, estimam as probabilidades de cada um desses casais gerar um filho do grupo sanguíneo A e de gerar dois filhos com esse mesmo grupo como abaixo:

Casal	Um filho A	Dois filhos A
$AA \times AA$	$1 \times 0,0221 = 0,0221$	0,0221
$AA \times AO$	$1 \times 0,2544 = 0,2544$	0,2544
$AO \times AO$	$0,75 \times 0,7235 = 0,5426$	$(0,75)^2 \times 0,7235 = 0,4070$
Total	0,8191	0,6835

Com base nesses totais calculam a probabilidade de um par de gêmeos DZ gerados por um casal do grupo sanguíneo A ( $A \times A$ ) ser concordante quanto a esse grupo, dado que um desses gêmeos é A em 83,4 % porque  $P(A.A|A) = \frac{0,6835}{0,8191} = 0,834$ .

As operações preconizadas por Maynard-Smith e Penrose (1955) com a finalidade de calcular a proporção desses casais é, entretanto, desnecessária, porque chegamos exatamente ao mesmo resultado final quando essas operações não são feitas. De fato, empregando as freqüências dos casais  $A \times A$  segundo o genótipo calculamos as probabilidades de esses casais gerarem um filho e dois filhos do grupo A como abaixo e, igualmente, chegamos à conclusão de que  $P(A.A|A) = 83,4\%$  porque  $P(A.A|A) = \frac{0,10505}{0,1259} = 0,834$ .

Casal	Um filho A	Dois filhos A
$AA \times AA$	$1 \times 0,0034 = 0,0034$	0,0034
$AA \times AO$	$1 \times 0,0391 = 0,0391$	0,0391
$AO \times AO$	$0,75 \times 0,1112 = 0,0834$	$(0,75)^2 \times 0,1112 = 0,06255$
Total	0,1259	0,10505

Aplicando o mesmo raciocínio aos grupos sanguíneos do sistema P e aceitando para as populações caucasóides do Estado de São Paulo as freqüências estimadas para os genes  $P_1$  e  $P_2$  nas populações européias (Race e Sanger, 1975), isto é  $p = 0,54$  e  $q = 0,46$ , podemos estimar que a freqüência populacional dos casais  $P_1 \times P_1$ , segundo seu genótipo como abaixo:

Casal	Freqüência
$P_1P_1 \times P_1P_1$	$p^4 = 0,0850$
$P_1P_1 \times P_1P_2$	$4p^3q = 0,2897$
$P_1P_2 \times P_1P_2$	$4p^2q^2 = 0,2468$

Visto que os casais  $P_1P_1 \times P_1P_1$  e  $P_1P_1 \times P_1P_2$  podem gerar somente filhos do grupo sanguíneo  $P_1$ , enquanto que os casais  $P_1P_2 \times P_1P_2$  têm 75% de probabilidade de gerar um filho  $P_1$ , pode-se, com base nos dados do quadro abaixo, calcular a probabilidade de um par de gêmeos DZ gerado por um casal  $P_1 \times P_1$  ser concordante quanto ao grupo sanguíneo  $P_1$ , dado que um desses gêmeos é  $P_1$  em 91,7% porque  $P(P_1.P_1|P_1) = \frac{0,5135}{0,5598} = 0,917$ .

Casal	Um filho $P_1$	Dois filhos $P_1$
$P_1P_1 \times P_1P_1$	$1 \times 0,0850 = 0,0850$	0,0850
$P_1P_1 \times P_1P_2$	$1 \times 0,2897 = 0,2897$	0,2897
$P_1P_2 \times P_1P_2$	$0,75 \times 0,1851 = 0,1851$	$(0,75)^2 \times 0,1851 = 0,1388$
TOTAL	0,5598	0,5135

Uma solução mais geral para estimar a probabilidade de as gêmeas de nosso exemplo serem DZ e concordantes quanto ao grupo sanguíneo A, dado que uma delas tem esse grupo sanguíneo, foi apresentada há algum tempo pelo autor e parte do princípio de que a probabilidade de um casal  $A \times A$  gerar um filho do grupo A é  $P(A) = p^4 + 4p^3r + \frac{3}{4}4p^2r^2$  e que a probabilidade de tal casal gerar dois filhos do grupo A é  $P(A.A) = p^4 + 4p^3r + \left(\frac{3}{4}\right)^2 4p^2r^2$ .

Daí se conclui que, dado que uma filha de um casal  $A \times A$  é do grupo A, a probabilidade de sua gêmea DZ ter, também, grupo A é calculada por intermédio de:

$$P(A.A|A) = \frac{p^4 + 4p^3r + \left(\frac{3}{4}\right)^2 4p^2r^2}{p^4 + 4p^3r + \frac{3}{4}4p^2r^2} = \frac{p^2 + 4pr + 2,25r^2}{p^2 + 4pr + 3r^2}$$

Substituindo  $p$  e  $q$  pelos valores estimados para a população caucasóide do Estado de São Paulo, isto é, por  $p = 0,242$ ,  $q = 0,069$  e  $r = 0,689$  (Beiguelman, 1983), pode-se, após resolver a fórmula acima, estimar a probabilidade  $P(A.A|A)$  como, anteriormente, em 83,4 %.

Em relação ao sistema P, a fórmula de cálculo da probabilidade de concordância dos gêmeos dizigóticos no grupo  $P_1$  é ainda mais simples porque levamos em conta apenas os alelos  $P_1$  e  $P_2$ , com freqüências  $p$  e  $q$ , respectivamente, sendo  $p = 1 - q$ . Em vista disso, a fórmula abaixo,

$$P(P_1.P_1 | P_1) = \frac{p^4 + 4p^3q + \left(\frac{3}{4}\right)^2 4p^2q^2}{p^4 + 4p^3q + \frac{3}{4}4p^2q^2}$$

após simplificação, pode ser expressa da seguinte maneira (Beiguelman, 1971<sub>a</sub>):

$$P(P_1.P_1 | P_1) = 1 - \frac{0,75q^2}{1 + 2q}$$

Aceitando para as populações caucasóides do Estado de São Paulo, as frequências estimadas para os genes  $P_1$  e  $P_2$  nas populações européias (Race e Sanger, 1975), isto é,  $p = 0,54$  e  $q = 0,46$ , tem-se, após substituição nessa última fórmula, que a gêmea DZ da filha  $P_1$  de um casal  $P_1 \times P_1$  como o da Tabela 2 tem probabilidade igual a 91,7 % de ter o mesmo grupo sanguíneo.

Para chegar a esse resultado poderíamos, ainda, ter seguido outro raciocínio (Beiguelman, 1971<sub>a</sub>). De fato, em relação ao grupo sanguíneo  $P_1$ , poderíamos ter considerado, inicialmente, que a probabilidade de um indivíduo da população à qual pertencem os gêmeos ter o genótipo  $P_1P_2$ , dado que ele é do grupo  $P_1$  é  $P(P_1P_2 | P_1) = \frac{2pq}{p^2 + 2pq} = \frac{2q}{1+q}$ . Se um par de gêmeos do grupo  $P_1$  tem genitores com esse fenótipo ( $P_1 \times P_1$ ), pode-se considerar a probabilidade de ambos os genitores serem heterozigotos  $P_1P_2$ , isto é  $\left(\frac{2q}{1+2q}\right)^2$  e a de que pelo menos um desses genitores ser homozigoto  $P_1P_1$ , isto é,  $1 - \left(\frac{2q}{1+2q}\right)^2$ . Se ambos os genitores forem heterozigotos  $P_1P_2$ , a probabilidade de eles gerarem um filho do grupo  $P_1$  será, evidentemente, igual a  $\frac{3}{4}$ , mas se pelo menos um deles for homozigoto  $P_1P_1$ , ter-se-á a certeza de que seus filhos somente poderão ser do grupo  $P_1$ . Por conseguinte, a probabilidade de um casal  $P_1 \times P_1$  gerar um filho do grupo  $P_1$  é  $P(P_1) = 1 - \left(\frac{2q}{1+2q}\right)^2 + \frac{3}{4} \left(\frac{2q}{1+2q}\right)^2$  e a de gerar dois filhos do grupo  $P_1$  é  $P(P_1.P_1) = 1 - \left(\frac{2q}{1+2q}\right)^2 + \left(\frac{3}{4}\right)^2 \left(\frac{2q}{1+2q}\right)^2$ . Por isso, dado que o filho de um casal  $P_1 \times P_1$  é do grupo  $P_1$ , a probabilidade de seu gêmeo DZ também o ser, pode ser obtida por meio de

$$P(P_1, P_1 | P_1) = \frac{1 - \left(\frac{2q}{1+2q}\right)^2 + \left(\frac{3}{4}\right)^2 \left(\frac{2q}{1+2q}\right)^2}{1 - \left(\frac{2q}{1+2q}\right)^2 + \frac{3}{4} \left(\frac{2q}{1+2q}\right)^2} = 1 - \frac{0,75q^2}{1+2q}.$$

No concernente aos genes do sistema ABO, em que o casal é A×A e os gêmeos também são do grupo A, a fórmula de cálculo da probabilidade de concordância dos pares DZ quanto a esse grupo não pode ser tão simplificada porque, como já vimos, levamos em conta dois dos três alelos (A, B e O), isto é, os genes A e O, com frequências  $p$  e  $r$ . Nesse caso, a probabilidade de concordância dos DZ no grupo A seria obtida por intermédio de:

$$P(A.A | A) = \frac{1 - \left(\frac{2r}{p+2r}\right)^2 + \left(\frac{3}{4}\right)^2 \left(\frac{2r}{p+2r}\right)^2}{1 - \left(\frac{2r}{p+2r}\right)^2 + \frac{3}{4} \left(\frac{2r}{p+2r}\right)^2} = \frac{p^2 + 4pr + 2,25r^2}{p^2 + 4pr + 3r^2}.$$

Qualquer que seja o modo de se obter essas probabilidades, tem-se que a probabilidade conjunta de as gêmeas de nosso exemplo serem DZ e concordantes quanto ao sexo e aos genótipos e fenótipos estudados seria, nesse caso, estimada em 0,00082 porque:

$$0,55 \times 0,5 \times 0,834 \times 0,25 \times 0,917 \times 0,25 \times 0,5 \times 0,5 \times 0,5 = 0,00082$$

Isso permite estimar as probabilidades de dizigosidade e de monozigosidade dessas gêmeas em 0,18 % e 99,82 %, respectivamente, porque:

$$P(DZ) = \frac{0,00082}{0,45 + 0,00082} = 0,0018$$

$$P(MZ) = \frac{0,45}{0,45 + 0,00082} = 0,9982$$

Se em nosso exemplo um dos cônjuges e as gêmeas manifestassem o fenótipo dominante e o outro cônjuge o fenótipo recessivo, isto é, se, por acaso, o marido e as gêmeas fossem do grupo A e a esposa do grupo O, o cálculo da probabilidade de concordância das gêmeas quanto ao fenótipo teria que ser diferente. De fato, nesse caso teríamos que levar em conta os casais compostos por marido AA ( $p^2$ ) e esposa OO ( $r^2$ ), cuja frequência na população é  $p^2r^2$ , e os casais compostos por marido AO ( $2pr$ ) e esposa OO ( $r^2$ ), cuja frequência na população é  $2pr^3$ . Sabendo que os casais marido AA × esposa OO podem gerar somente filhos do grupo sanguíneo A e que os casais

marido  $AO \times$  esposa  $OO$  têm probabilidade igual a  $\frac{1}{2}$  ou 50% de gerar um filho do grupo A e  $(\frac{1}{2})^2$  ou 25% de gerar dois filhos com esse grupo sanguíneo, poderemos escrever que a probabilidade de um casal composto por marido do grupo A e mulher do grupo O gerar um filho do grupo A é  $P(A) = p^2r^2 + 0,5 \times 2pr^3 = p^2r^2 + pr^3$ . A probabilidade de um casal desse tipo gerar dois filhos do grupo A é, pois,  $P(A.A) = p^2r^2 + 0,25 \times 2pr^3 = p^2r^2 + 0,5pr^3$ . Disso resulta que a probabilidade de um par de gêmeas DZ geradas por um casal composto por marido A e esposa O ser concordante no grupo A dado que uma delas tem esse grupo pode ser obtida por intermédio de:

$$P(A.A|A) = \frac{p^2r^2 + 0,5pr^3}{p^2r^2 + pr^3} = \frac{p + 0,5r}{p + r}$$

Substituindo  $p$  e  $r$  pelas estimativas de suas freqüências na população, isto é, respectivamente, por 0,242 e 0,689, verificaremos que essa probabilidade é de 63%.

Quando se leva em conta dois alelos apenas, essa fórmula geral fica ainda mais simplificada. De fato, consideremos um casal composto por marido do grupo sanguíneo  $P_1$  e esposa do grupo  $P_2$  cujas filhas gêmeas são do grupo  $P_1$ . Em relação a esse tipo de casal sabemos que o marido pode ter genótipo homozigoto  $P_1P_1$  ou heterozigoto  $P_1P_2$  e que os casais marido  $P_1P_1 \times$  esposa  $P_2P_2$ , que ocorrem na população com freqüência  $p^2q^2$ , podem gerar somente filhos do grupo sanguíneo  $P_1$ , enquanto que os casais marido  $P_1P_2 \times$  esposa  $P_2P_2$ , que ocorrem na população com freqüência  $2pq^3$ , podem gerar um filho do grupo  $P_1$  com probabilidade igual a  $\frac{1}{2}$  ou 50% e dois filhos com esse grupo com probabilidade igual a  $(\frac{1}{2})^2$  ou 25%. Isso permite escrever que a probabilidade de um casal composto por marido  $P_1$  e esposa  $P_2$  gerar um filho do grupo  $P_1$  é  $P(P_1) = p^2q^2 + pq^3$  e que a probabilidade de tal casal gerar dois filhos do grupo  $P_1$  é  $P(P_1.P_1) = p^2q^2 + pq^3$ . Disso resulta que a probabilidade de um par de gêmeas DZ geradas por um casal composto por marido  $P_1$  e esposa  $P_2$  ser concordante quanto ao grupo  $P_1$  dado que uma delas manifesta esse grupo

pode ser calculada a partir de  $P(P_1.P_1|P_1) = \frac{p^2q^2 + 0,5pq^3}{p^2q^2 + pq^3}$ . Essa fórmula, depois de

simplificada, e lembrando que  $p + q = 1$ , passa a ser escrita como  $P(P_1.P_1|P_1) = p + 0,5q$ . Substituindo  $p$  e  $q$  por suas estimativas encontradas em Race e Sanger (1975) tem-se  $P(P_1.P_1|P_1) = 0,54 + 0,23 = 0,77$ .

**d) Não se conhece o genótipo ou o fenótipo dos genitores dos gêmeos**

Quando conhecemos apenas a constituição fenotípica ou genotípica dos gêmeos, por não ser possível o exame de seus genitores, a determinação da probabilidade de dizigosidade e de monozigosidade é um pouco mais elaborada e devemos analisar separadamente os sistemas dialélicos e polialélicos.

Para entender o cálculo da probabilidade de concordância de pares DZ em relação a um caráter dialélico, consideremos um par de alelos autossômicos  $A,a$ , com frequências iguais, respectivamente, a  $p$  e  $q = 1 - q$ . Aceitemos, ainda, que os genótipos  $AA, Aa$  e  $aa$  são encontrados na população com frequências iguais, respectivamente, a  $p^2, 2pq$  e  $q^2$ , isto é, que a população está em equilíbrio de Hardy e Weinberg quanto a esses genótipos. Se não houver relação de dominância entre esses alelos, existirão três alternativas para os gêmeos de um par DZ serem concordantes, pois ambos poderão ser  $AA$ , ambos  $Aa$  ou ambos  $aa$ .

Dentre os casais que podem originar filhos  $AA$  ( $AA \times AA, AA \times Aa$  e  $Aa \times Aa$ ), um deles,  $AA \times AA$ , que ocorre com frequência  $p^4$ , é capaz de gerar somente filhos com o genótipo  $AA$ . Os casais  $AA \times Aa$ , que ocorrem com frequência  $4p^3q$ , têm probabilidade  $\frac{1}{2}$  de gerar um filho com o genótipo  $AA$ , ao passo que os casais  $Aa \times Aa$ , que ocorrem com frequência  $4p^2q^2$ , têm probabilidade  $\frac{1}{4}$  de gerar um filho com genótipo  $AA$ . Isso permite escrever que a probabilidade de ocorrência na população de um par de irmãos DZ que sejam ambos  $AA$  será obtida por intermédio de:

$$P(AA.AA) = p^4 + (\frac{1}{2})^2 4p^3q + (\frac{1}{4})^2 4p^2q^2$$

Tal fórmula, depois de simplificada, levando em conta que  $q = 1 - p$ , pode ser escrita como:

$$P(AA.AA) = \frac{p^2(1+p)^2}{4}$$

Em vista do exposto, tem-se que a probabilidade de um par de gêmeos DZ ser concordante em relação ao genótipo  $AA$ , dado que um dos elementos do par tem esse genótipo, é estimada por intermédio de  $\frac{(1+p)^2}{4}$ , porque:

$$P(AA.AA | AA) = \frac{p^2(1+p)^2}{4p^2} = \frac{(1+p)^2}{4}$$

Para calcular a probabilidade de um par de irmãos DZ ser concordante em relação ao genótipo  $Aa$ , deve-se ter em mente que indivíduos com esse genótipo podem ser gerados por casais  $AA \times Aa$ ,  $AA \times aa$ ,  $Aa \times Aa$  e  $Aa \times aa$ , os quais ocorrem na população com frequências iguais, respectivamente, a  $4p^3q$ ,  $2p^2q^2$ ,  $4p^2q^2$  e  $4pq^3$ . Com exceção dos casais  $AA \times aa$ , que somente podem gerar filhos  $Aa$ , todos os outros têm probabilidade  $\frac{1}{2}$  de gerar um filho  $Aa$ . Por isso, a probabilidade de ocorrer na população um par de irmãos DZ concordantes quanto ao genótipo  $Aa$  será obtida por intermédio de:

$$P(Aa.Aa) = (\frac{1}{2})^2 4p^3q + 2p^2q^2 + (\frac{1}{2})^2 4p^2q^2 + (\frac{1}{2})^2 4pq^3 = pq(1 + pq).$$

Em conseqüência, podemos escrever que a probabilidade de um par de gêmeos DZ ser concordante quanto ao genótipo  $Aa$ , dado que um dos gêmeos tem esse genótipo, é obtida por intermédio de  $\frac{1 + pq}{2}$ , porque:

$$P(Aa.Aa | Aa) = \frac{pq(1 + pq)}{2pq} = \frac{1 + pq}{2}.$$

O cálculo da probabilidade de um par de irmãos DZ ser concordante em relação ao genótipo  $aa$  segue o mesmo raciocínio utilizado para o genótipo  $AA$ , isto é, leva-se em conta que são três os tipos de casais capazes de gerá-los,  $Aa \times Aa$ ,  $Aa \times aa$  e  $aa \times aa$ , os quais ocorrem na população com frequências iguais, respectivamente, a  $4p^2q^2$ ,  $4pq^3$  e  $q^4$ . Evidentemente, os casais  $Aa \times Aa$ , que ocorrem na população com frequência  $4p^2q^2$ , têm probabilidade  $\frac{1}{4}$  de gerar um filho  $aa$ , os casais  $Aa \times aa$ , cuja frequência na população é  $4pq^3$ , têm probabilidade  $\frac{1}{2}$  de gerar um filho com esse genótipo, enquanto os casais  $aa \times aa$ , que ocorrem com frequência  $q^4$ , somente podem gerar filhos  $aa$ . Isso permite calcular a probabilidade de ocorrência na população de um par de irmãos DZ por intermédio de  $\frac{q^2(1 + q)^2}{4}$ , porque:

$$P(aa.aa) = (\frac{1}{4})^2 4p^2q^2 + (\frac{1}{2})^2 4pq^3 + q^4 = \frac{q^2(1 + q)^2}{4}.$$

Em vista disso, pode-se escrever que a probabilidade de um par de gêmeos DZ ser concordante quanto ao genótipo  $aa$  dado que um dos gêmeos exibe esse genótipo pode ser estimada por intermédio de  $\frac{(1 + q)^2}{4}$ , porque:

$$P(aa.aa|aa) = \frac{q^2(1+q)^2}{4q^2} = \frac{(1+q)^2}{4}.$$

Nas situações em que há dominância, o que não acontece quando se estudam locos de STR, a probabilidade de concordância dos DZ quanto ao fenótipo recessivo  $aa$  não se altera. No concernente ao fenótipo dominante  $A_$  deve-se levar em conta que os casais  $AA \times AA$ ,  $AA \times Aa$  e  $AA \times aa$  somente geram filhos com fenótipo  $A_$ , e que os casais  $Aa \times Aa$  e  $Aa \times aa$  geram indivíduos  $A_$  com probabilidades iguais a  $\frac{3}{4}$  e  $\frac{1}{2}$ , respectivamente. Daí se conclui que a probabilidade de encontro na população de um par de irmãos DZ que seja  $A_$  é obtida a partir de  $p(1+q) - \frac{pq^2(3+q)}{4}$ , porque:

$$P(A_.A_) = p^4 + 4p^3q + 2p^2q^2 + (\frac{3}{4})^2 4p^2q^2 + (\frac{1}{2})^2 4pq^3 = p(1+q) - \frac{pq^2(3+q)}{4}.$$

Pode-se, por isso, escrever que a probabilidade de um par de gêmeos DZ ser concordante quanto ao fenótipo  $A_$  dado que um dos gêmeos exibe esse fenótipo, encontrado na população com probabilidade  $P(A_) = p^2 + 2pq = p(1+q)$ , pode ser estimada por intermédio de:

$$P(A_.A_ | A_) = 1 - \frac{q^2(3+q)}{4(1+q)}.$$

Para os caracteres polialélicos o raciocínio empregado é o mesmo e, em relação aos homocigotos, as fórmulas de cálculo são exatamente as dos sistemas que levam em conta apenas um par de alelos, porque sempre podemos representar o alelo homocigoto por  $A$ , e todos os outros do sistema polialélico por não- $A$  ou  $\tilde{A}$ . Entretanto, em relação aos heterocigotos, o cálculo para a obtenção das probabilidades de concordância é trabalhoso, pois é necessário levar em consideração a frequência de todos os tipos de casais que podem gerar filhos com um determinado fenótipo ou genótipo e a contribuição de cada um deles para a geração seguinte. Assim, por exemplo, quando não conhecemos o genótipo ou o fenótipo dos pais de gêmeos que são concordantes quanto ao grupo sanguíneo  $A$  do sistema ABO, devemos levar em conta que qualquer um dos casais  $AA \times AA$ ,  $AA \times AO$ ,  $AA \times OO$ ,  $AA \times BO$ ,  $AA \times AB$ ,  $AO \times AO$ ,  $AO \times BO$ ,  $AO \times OO$ ,  $AB \times AO$ ,  $AB \times BO$ ,  $AB \times AB$  e  $AB \times OO$  poderia gerá-los. Em vista disso, podemos escrever que a probabilidade de ocorrência na

população de um par de irmãos DZ concordantes quanto ao grupo sanguíneo A é obtida por intermédio de:

$$P(A.A) = p^4 + 4p^3r + 2p^2r^2 + (\frac{1}{2})^2 4p^2qr + (\frac{1}{2})^2 4p^3q + (\frac{3}{4})^2 4p^2r^2 + (\frac{1}{4})^2 2pqr^2 + (\frac{1}{2})^2 4pr^3 + (\frac{1}{2})^2 8p^2qr + (\frac{1}{4})^2 8pq^2r + (\frac{1}{4})^2 4p^2q^2 + (\frac{1}{2})^2 4pqr^2 .$$

Com base nessa fórmula e no conhecimento de que as frequências dos genes *A*, *B* e *O* do sistema ABO podem ser estimadas como  $p = 0,242$ ,  $q = 0,069$  e  $r = 0,689$  na população caucasóide do Estado de São Paulo (Beiguelman, 1983), poderíamos, pois, aceitar que, nesse Estado, a probabilidade de encontro de um par de irmãos caucasóides concordantes quanto ao grupo sanguíneo A é  $P(A.A) = 0,2585$  ou 25,85%. Ora, sabendo que no Estado de São Paulo, a probabilidade de encontrar um caucasóide com grupo sanguíneo A é estimada em  $P(A) = p^2 + 2pr = 0,3920$  ou 39,2%, concluímos que a probabilidade de um par de gêmeos DZ caucasóides desse Estado ser concordante quanto ao grupo sanguíneo A dado que um deles tem esse grupo é 65,94% porque  $P(A.A|A) = 0,2585/0,3920 = 0,6594$ .

Para populações européias, como é o caso da população inglesa, existem tabelas (Maynard-Smith e Penrose, 1955; Race e Sanger, 1975) que informam qual a probabilidade de concordância de gêmeos DZ em relação aos sistemas sanguíneos eritrocitários ABO, MNSs, P, Rh, Lutheran, Kell, Duffy, Lewis, Kidd, Yt, Dombrock, Colton e Xg, o que, evidentemente, facilita muito o trabalho de diagnóstico da zigosidade quando não se conhece o genótipo ou o fenótipo dos pais dos gêmeos. Com o emprego desses marcadores genéticos pode-se, mesmo desconhecendo a constituição genotípica ou fenotípica dos pais obter altos valores de probabilidade de monozigose.

Quando se deseja fazer o cálculo da probabilidade de concordância de um par DZ heterozigoto em relação a um loco STR, a situação se torna mais complicada do que no caso dos sistemas sanguíneos eritrocitários ou outros polimorfismos genéticos clássicos, porque cada um desses locos contém muitos alelos. Em compensação, esse cálculo torna-se desnecessário se a investigação da zigosidade de um par de gêmeos, sem informações a respeito de seus genitores, for feita por intermédio do exame de mais de seis locos STR, porque, nesse caso, se o par de gêmeos for concordante em todos os locos, poder-se-á

atribuir monozigosidade. Mesmo a discordância em relação a um alelo não servirá para rejeitar a hipótese de monozigosidade, porque sempre é possível a ocorrência de uma mutação, mas duas discordâncias falarão a favor da rejeição dessa hipótese, porque aceitamos ser muito pouco provável que duas discordâncias sejam consequência de duas mutações nesses locos.

## IMPRESSÕES DÍGITO-PALMARES E DIAGNÓSTICO DA ZIGOSIDADE

As impressões dígito-palmares permitem, entre outras observações, a contagem do número total de linhas dermatoglíficas nos dez dedos (TRC, do inglês, *total ridge count*), do número de linhas *a-b*, do número de linhas *A'-d* e a medida do ângulo *atd*.

Para a contagem do TRC empregam-se os critérios estabelecidos por Bonnevie (1924), segundo os quais, os *arcos* são considerados como tendo zero linhas. Nas *presilhas simples* conta-se o número de linhas que interceptam o segmento de reta traçado do centro da presilha ao centro do trirrádio, enquanto que nos *verticilos* e nas *presilhas duplas*, que possuem dois trirrádios, somente se leva em conta o lado que apresentar maior número de linhas. O número de linhas *a-b* é o número de linhas dermatoglíficas palmares, contadas nas duas mãos, que atravessam o segmento de reta traçado para unir o centro do trirrádio palmar *a*, sob o dedo indicador, com o trirrádio palmar *b*, sob o dedo médio. O número de linhas *A'-d* refere-se ao número de linhas dermatoglíficas palmares, contadas nas duas mãos, entre o trirrádio palmar *d*, sob o dedo mínimo, e a linha palmar *A*. O ângulo *atd*, por sua vez, é o ângulo formado pelos segmentos de reta que unem os trirrádios da base do dedo indicador (*a*) e do dedo mínimo (*d*) ao trirrádio palmar axial (*t*). Para mais detalhes, o leitor interessado poderá consultar o capítulo sobre “O exame dos dermatóglifos” de Beiguelman (1982).

De acordo com Lamy *et al.* (1957), nenhum dentre 272 pares de gêmeos MZ apresentou diferença intrapar igual ou superior a 50 linhas quanto à TRC, enquanto 26,5% dentre 185 pares DZ do mesmo sexo ultrapassou essa cifra (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 Distribuição, em porcentagem, de 272 pares MZ e 185 DZ segundo a diferença intrapar do número de linhas dermatoglíficas na falange distal dos dedos (Lamy *et al.*, 1957).

Diferença	MZ	DZ
0-10	54,0	21,1
10-20	32,0	20,0
20-30	10,3	9,2
30-40	2,6	14,6
40-50	1,1	8,6
50-60		4,3
60-70		6,5
70-80		5,4
80-90		2,2
90-100		4,9
≥ 100		3,2

No concernente ao número de linhas *a-b* e de linhas *A'-d* (Tabelas 4.2 e 5.2), tem-se que, numa investigação feita em 38 pares MZ, não se constatou, em nenhum desses pares, diferença maior que 12 linhas *a-b* ou maior do que 17 linhas *A'-d*. Nos 90 pares DZ analisados no mesmo estudo, 25,6 % mostraram diferença intrapar superior a 12 linhas *a-b* e 46,7% ultrapassaram 17 linhas *A'-d* de diferença (Beiguelman, 1971<sub>b</sub>).

Tabela 4.2 Distribuição, em porcentagem, de 38 pares MZ e 90 DZ segundo a diferença intrapar do número de linhas *a-b* (Beiguelman, 1971<sub>b</sub>)

Diferença	MZ	DZ
0-3	31,6	22,2
3-6	31,6	17,8
6-9	31,6	14,4
9-12	5,2	20,0
12-15		6,7
15-18		4,4
18-21		5,6
≥21		8,9

Tabela 5.2 Distribuição, em porcentagem, de 38 pares MZ e 90 pares DZ segundo a diferença intrapar do número de linhas *A'-d* (Beiguelman, 1971<sub>b</sub>).

Diferença	MZ	DZ
0-5	50,0	20,0
5-9	28,9	8,9
9-13	15,8	15,5
13-17	5,3	8,9
17-21		13,3
21-25		8,9
25-29		6,7
≥ 29		17,8

Em relação à soma dos ângulos *atd* observados nas duas mãos, sabemos, por intermédio de Maynard-Smith e Penrose (1955), que, em 80 pares MZ, não foi possível encontrar, nesses pares, uma diferença intrapar superior a 45 graus (Tabela 6.2).

Em consequência do exposto, pode-se, pois, dizer que, se um par de gêmeos do mesmo sexo apresentar diferença intrapar de TRC igual ou superior a 50 linhas e(ou) 12 ou mais linhas *a-b* e(ou) 17 ou mais linhas *A'-d* e(ou) mais de 45 graus de ângulo *atd*, tal par poderá ser classificado como DZ. Para diferenças intrapar inferiores a esses limites, as porcentagens com que ocorrem as diferenças assinaladas nas Tabelas 3.2 a 6.2 podem ser consideradas como estimativas da probabilidade de essas diferenças serem detectadas em gêmeos MZ e DZ.

Tabela 6.2 Distribuição, em porcentagem, de 80 pares MZ e de 310 pares de irmãos, segundo a diferença intrapar dos ângulos *atd* (Maynard-Smith & Penrose, 1955).

Diferença	MZ	Irmãos
0 - 5	42,50	23,23
5 - 10	31,25	25,16
10 - 15	8,75	15,48
15 - 20	11,25	11,61
20 - 25	1,25	9,68
25 - 30	1,25	4,84
30 - 35	2,50	2,26
35 - 40	-	1,61
40 - 45	1,25	0,97
45 - 50		1,29
≥50		3,87

Para exemplificar, suponhamos que um par de gêmeos do mesmo sexo tenha mostrado diferença intrapar de 8 linhas quanto à TRC, 2 linhas *a-b*, 3 linhas *A'-d* e 4 graus quanto ao ângulo *atd*. Se os gêmeos pertencerem a uma população onde a proporção de MZ é 45 % e a de DZ é 55 %, poderemos, com base nas Tabelas 3.2 a 6.2, calcular a probabilidade conjunta a favor dos DZ como sendo 0,000598, porque:

$$0,55 \times 0,50 \times 0,211 \times 0,222 \times 0,20 \times 0,2323 = 0,000598$$

e a favor dos MZ como sendo 0,016317, porque:

$$0,45 \times 1 \times 0,54 \times 0,316 \times 0,50 \times 0,425 = 0,016317$$

Tais informações permitem estimar a probabilidade de dizigosidade dos gêmeos de nosso exemplo em 3,5% e a de monozigosidade em 96,5 % porque:

$$P(DZ) = \frac{0,000598}{0,016317 + 0,000598} = 0,035$$

$$P(MZ) = 1 - 0,035 = 0,965$$

Os dados a respeito das diferenças dermatoglíficas podem ser combinados com os de concordância de marcadores genéticos, o que aumenta a precisão do diagnóstico da zigosidade. Assim, no exemplo dado no item **c**, a respeito das gêmeas que mostravam uma probabilidade conjunta de 0,00082 de serem DZ concordantes quanto ao sexo e aos genótipos e fenótipos A, MS/Ms, CDe/cDE, P<sub>1</sub>, Kk, Fy<sup>a</sup>Fy<sup>b</sup>, Jk<sup>a</sup>Jk<sup>b</sup> e XgXg, consideremos que se soubesse que elas diferiam em 11 linhas quanto à TRC, em 6 linhas *a-b*, em 7 linhas *A'-d* e em 5 graus do ângulo *atd*. De acordo com as Tabelas 3.2 a 6.2, essas diferenças dermatoglíficas podem ser encontradas em pares DZ com uma probabilidade conjunta de  $0,200 \times 0,178 \times 0,089 \times 0,2516 = 0,000797$  e em pares MZ com uma probabilidade conjunta de  $0,320 \times 0,316 \times 0,289 \times 0,3125 = 0,009132$ .

Em decorrência disso, a nova probabilidade conjunta de concordância dos DZ em relação aos caracteres estudados passaria a  $0,00082 \times 0,000797 = 0,000000654$  e a nova probabilidade conjunta dos MZ em relação a esses mesmos caracteres passaria a ser estimada em  $0,45 \times 0,009132 = 0,0041094$ . Esses dados permite concluir que a probabilidade de as gêmeas serem MZ ficaria ainda mais alta, pois, aumentaria de 99,82% para, praticamente, 100%, pois:

$$P(DZ) = \frac{0,000000654}{0,0041094 + 0,000000654} = 0,00016$$

$$P(MZ) = 1 - 0,00016 = 0,99984$$

## O MÉTODO DIFERENCIAL DE WEINBERG

Mesmo quando não se faz a investigação da zigosidade, é possível obter uma estimativa do número de pares MZ e DZ em uma amostra de gêmeos, bastando para isso, aplicar o clássico *método diferencial de Weinberg* (1901), que se baseia em duas premissas. A primeira delas é a de que, na prática, a probabilidade de nascimento de um menino é idêntica à de nascimento de uma menina, isto é, 0,5 ou 50% em cada caso. A segunda premissa é a de que, em cada par DZ, o sexo de um dos gêmeos é independente do de outro. Em consequência disso, passa-se a estimar as probabilidades de constituição de um par DZ

do sexo masculino, de um par DZ do sexo feminino e de um par DZ discordante quanto ao sexo, respectivamente, por:

$$P(DZ_{MM}) = 0,5 \times 0,5 = 0,25 \text{ ou } 25 \%$$

$$P(DZ_{FF}) = 0,5 \times 0,5 = 0,25 \text{ ou } 25 \%$$

$$P(DZ_{MF}) = 2 \times 0,5 \times 0,5 = 0,50 \text{ ou } 50 \%$$

Daí se conclui, também, que a probabilidade de os gêmeos de um par DZ serem do mesmo sexo é estimada em 50%, pois  $P(DZ_{MM}) + P(DZ_{FF}) = 0,25 + 0,25 = 0,5$ , o que equivale a dizer que a probabilidade de os gêmeos de um par DZ terem o mesmo sexo é a mesma de eles serem discordantes quanto ao sexo.

Em vista do exposto, para estimar a proporção de pares DZ e MZ em uma amostra de gêmeos bastará conhecer o número de pares de gêmeos discordantes quanto ao sexo (MF). De fato, de acordo com o método diferencial de Weinberg, o *número total de pares DZ será estimado como sendo o dobro do número de pares discordantes quanto ao sexo, enquanto o número de pares MZ será obtido pela diferença entre o total de gêmeos e a estimativa do número de pares DZ.*

Para tornar mais clara a aplicação desse método, tomemos um exemplo tirado de um trabalho de Beiguelman, Franchi-Pinto, Dal Colletto e Krieger (1995) a respeito de 763 pares de gêmeos nascidos na Maternidade de Campinas num período de 10 anos, dentre os quais 205 eram discordantes quanto ao sexo (277 MM, 281 FF e 205 MF). Nesse caso, estimaríamos que, no período estudado, 410 dentre os 763 pares de gêmeos, isto é, 53,7% dos pares deveriam ser DZ e que  $763 - 410 = 353$  ou 46,3% deveriam ser MZ.

Uma apresentação mais geral do método diferencial de Weinberg considera que a frequência de recém-nascidos do sexo masculino e a de recém-nascidos do sexo feminino podem ser aceitas como estimativas das probabilidades  $p$  e  $q$  de nascimento dessas crianças. Desse modo,  $P(DZ_{MM}) = p^2$ ,  $P(DZ_{MF}) = 2pq$  e  $P(DZ_{FF}) = q^2$ . Por ser  $p + q = 1$ , é evidente que  $p^2 + 2pq + q^2$  também é igual a 1 ou 100 %, pois essa expressão é igual a  $(p + q)^2$ . Visto que  $2pq$  é a frequência esperada dos pares DZ discordantes quanto ao sexo, pode-se escrever  $\frac{DZ_{MF}}{DZ} = 2pq$ , de onde se tira que  $DZ = \frac{DZ_{MF}}{2pq}$ .

Nas populações em que  $p$  e  $q$  são semelhantes, pode-se considerar  $p = q = 0,5$ , enquanto o número total de pares DZ passa a ser estimado como sendo o dobro do número

de pares discordantes quanto ao sexo, pois o total de DZ será o número de pares discordantes quanto ao sexo dividido por 0,5.

James (1979, 1984<sub>b</sub>) contestou a validade do método diferencial de Weinberg para estimar a proporção de pares DZ e MZ em amostras de recém-nascidos, porque é sabido que o sexo dos zigotos humanos depende da época em que ocorreu a inseminação durante o ciclo menstrual (Guerrero, 1970, 1974; James, 1971, 1976). O sexo de um dos zigotos de um par DZ não seria, pois, independente, do de outro. Ainda de acordo com James (1979, 1984), entre os pares DZ, os do mesmo sexo excederiam aqueles discordantes quanto ao sexo na proporção de 8:7. Por isso, segundo esse autor, o número de pares DZ em uma amostra de gêmeos não deveria ser estimado como no método diferencial de Weinberg, isto

é, por intermédio de  $2DZ_{MF}$ , mas por intermédio de  $\frac{15}{7}DZ_{MF}$ . De fato, se  $\frac{DZ - DZ_{MF}}{DZ_{MF}} = \frac{8}{7}$

é claro que  $DZ = \frac{15}{7}DZ_{MF}$ .

Aplicando a fórmula de James aos dados de Campinas mencionados acima, teríamos que a estimativa do número de pares DZ seria um pouco mais alta, porque obteríamos  $DZ = 439$  ou 57,5 %.

## **A ORGANIZAÇÃO DE UM CADASTRO DE GÊMEOS**

Os pesquisadores interessados em empregar gêmeos para estudos que visam à avaliação do efeito relativo do ambiente e do genótipo na manifestação de caracteres físicos e mentais têm necessidade de organizar um cadastro desses pares. Evidentemente, a organização desses cadastros será muito onerosa se a investigação da zigosidade tiver que ser feita pelo estudo do DNA dos gêmeos ou pela análise da concordância dos pares em relação a muitos polimorfismos.

Entretanto, se os gêmeos estiverem, pelo menos, em idade escolar, pode-se empregar um método muito econômico que permite o diagnóstico da zigosidade com grande precisão e que facilita a obtenção de grandes amostras de gêmeos (Beiguelman, 1971<sub>a</sub>). De acordo com esse método deve-se, inicialmente, tentar rejeitar a hipótese de monozigosidade dos gêmeos do mesmo sexo com base em alguns critérios objetivos, já que os discordantes quanto ao sexo são imediatamente catalogados como pares DZ. Os critérios

objetivos dizem respeito às impressões dígito-palmares e aos grupos sanguíneos eritrocitários de apenas três sistemas, cujos anti-soros são fáceis de obter (sistemas ABO, MNSs e Rh). As impressões dígito-palmares servirão para contar o número total de linhas dermatoglíficas nos dez dedos, o número de linhas *a-b*, o número de linhas *A'-d* e o ângulo *atd*.

Como já foi visto no tópico sobre o emprego das impressões dígito-palmares para o diagnóstico da zigosidade, pode-se classificar como DZ, de imediato e sem necessidade de outros exames, um par de gêmeos do mesmo sexo que apresentar diferença intrapar de TRC igual ou superior a 50 linhas e(ou) 12 ou mais linhas *a-b* e(ou) 17 ou mais linhas *A'-d* e(ou) mais de 45 graus de ângulo *atd*. Desse modo, o exame dos grupos sanguíneos somente será feito nos pares de gêmeos do mesmo sexo, em relação aos quais a hipótese de monozigosidade não pôde ser rejeitada com base no exame dermatoglífico. A sistemática, nesse caso, é a mesma, isto é, tenta-se afastar a hipótese de monozigosidade inicialmente pelo exame dos grupos sanguíneos do sistema ABO, pois os anti-soros necessários à determinação desses grupos são mais baratos. A determinação dos grupos sanguíneos do sistema MNSs somente é feita nos pares concordantes no sistema ABO, do mesmo modo que a investigação dos grupos sanguíneos do sistema Rh é feita apenas nos gêmeos em relação aos quais a hipótese de monozigosidade não pôde ser rejeitada após o exame dermatoglífico e dos grupos sanguíneos do sistema ABO e MNSs.

Os pares triados desse modo constituem uma amostra altamente selecionada de gêmeos, em relação aos quais é grande a probabilidade de se diagnosticar corretamente a zigosidade. Realmente, de acordo com Jablon *et al.* (1967), que fizeram um estudo detalhado de 257 pares de gêmeos adultos do sexo masculino, nos quais investigaram nove sistemas polimórficos (ABO, MNSs, P, Rh, Kell, Duffy, Secretor, Hp e Gm) e caracteres quantitativos, o erro de diagnóstico da zigosidade será de apenas 3,2 % se ele for emitido com base somente na análise da diferença intrapar de TRC, em conjunto com dados a respeito da concordância dos gêmeos quanto à cor dos olhos e dos cabelos, diferenças de estatura e peso corporal, bem como na opinião que os próprios gêmeos têm a respeito de sua zigosidade. Aliás, segundo Jablon *et al.* (1967), o diagnóstico da zigosidade baseado apenas na opinião dos próprios gêmeos está sujeito a um erro tão somente de 4,3 %.

Em vista do exposto, se a amostra de gêmeos a respeito da qual a hipótese de monozigossidade não pôde ser afastada com base em critérios objetivos for, agora, avaliada com base em critérios subjetivos, a probabilidade de erro de diagnóstico poderá diminuir muito. Tais gêmeos deverão, pois, ser examinados quanto ao seu aspecto físico, para que o pesquisador possa emitir sua opinião a respeito da zigossidade dos gêmeos, levando em conta a cor dos olhos e dos cabelos, o tipo de cabelo, a forma do nariz, da boca, dentes, estatura, peso etc. Por outro lado, o pesquisador deverá saber o que pensam os próprios gêmeos a respeito de sua similaridade, perguntando-lhes se eles se acham mais parecidos do que outros pares de irmãos e se seus parentes, colegas, professores e vizinhos têm ou tiveram dificuldade em distinguí-los. Tal tipo de informação deve ser complementada, quando possível, com a dos familiares, sendo de muita valia a opinião da mãe dos gêmeos.

## REFERÊNCIAS

- Beiguelman, B. A investigação da zigosidade. *Ciência e Cultura* 23: 21-30, 1971<sub>a</sub>.
- Beiguelman, B. Genetics of *a-b* and *A'-d* ridge counts. *Rev. Brasil. Pesq. Méd. Biol.* 4: 337-342, 1971<sub>b</sub>.
- Beiguelman, B. *Citogenética Humana*. Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 1982.
- Beiguelman, B. *Farmacogenética e sistemas sangüíneos eritrocitários*. FUNCAMP/Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1983.
- Beiguelman, B., Franchi-Pinto, C., Dal Colletto, G.M.D. & Krieger, H. Annual variation of sex ratio in twin births and in singletons in Brazil. *Acta Genet. Med. Gemellol.*, 44: 159-164, 1995.
- Bonnevie, K. Studies on papillary patterns of human fingers. *J. Genet.* 15: 1-112, 1924.
- Guerrero, R. Sex-ratio: a statistical association with the type and time of insemination within the menstrual cycle. *Int. J. Fertil.* 15: 221-225, 1970.
- Guerrero, R. Association of the type and time of insemination within the menstrual cycle with the human sex-ratio at birth. *N. Engl. J. Med.* 291: 1056-1059, 1974.
- Jablon, S., Neel, J.V., Gershowitz, H. & Atkinson, G.F. The NAS-NRC twin panel: methods of construction of the panel, zygoty diagnosis, and proposed use. *Am. J. Hum. Genet.* 19: 133-161, 1967.
- James, W.H. Cycle day of insemination, coital rate and sex-ratio. *Lancet*, 1: 112-114, 1971.
- James, W. H. Timing of fertilization and sex ratio of offspring. A review. *Ann. Hum. Biol.* 3: 549-556, 1976.
- James, W.H. Is Weinberg's differential rule valid? *Acta Genet. Med. Gemellol.* 28: 69-71, 1979.
- James, W.H. Coitus-induced ovulation and its implications for estimates of some reproductive parameters. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 33: 547-555, 1984<sub>a</sub>.
- James, W.H. Twins. *N. Engl. J. Med.* 311: 58, 1984<sub>b</sub>.

Lamy, M., Frezal, J., Grouchy, J. De & Kelley, J. Le nombre de dermatoglyphes dans un échantillon de jumeaux. *Ann. Hum. Genet.* 21: 374-396, 1957.

Maynard-Smith, S. & Penrose, L.S. Monozygotic and dizygotic twin diagnosis. *Ann. Hum. Genet.* 19: 273-289, 1955.

Race, R.R. & Sanger, R. *Blood groups in Man*. Blackwell Scient. Publ., Oxford, 6<sup>a</sup>. ed., 1975.

Weinberg, W. Beiträge zur Physiologie und Pathologie der Mehrlingsgeburten beim Menschen. *Pflügers Arch.* 88: 346-430, 1901.