

GABRIEL FALCÃO ALENCAR

**EVIDÊNCIA DE LIGAÇÃO GENÉTICA ENTRE A
MALOCLUSÃO DE CLASSE III E O CROMOSSOMO 7P**

BRASÍLIA-DF

2010



Universidade de Brasília - UnB

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas

**EVIDÊNCIA DE LIGAÇÃO GENÉTICA ENTRE A
MALOCLUSÃO DE CLASSE III E O CROMOSSOMO 7P**

GABRIEL FALCÃO ALENCAR

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

BRASÍLIA-DF

2010

GABRIEL FALCÃO ALENCAR

**EVIDÊNCIA DE LIGAÇÃO GENÉTICA ENTRE A
MALOCLUSÃO DE CLASSE III E O CROMOSSOMO 7P**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências Médicas da Faculdade
de Medicina da Universidade de Brasília
para obtenção do Título de Mestre

Orientador: Prof^a. Dr^a. Iris Ferrari

BRASÍLIA-DF

2010

“O oposto de uma afirmação correcta é uma afirmação falsa. Mas o oposto de uma verdade profunda pode ser outra verdade profunda”. **Niels Bohr.**

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.”
Albert Einstein.

"A vida é como andar de bicicleta. Para manter seu equilíbrio você deve continuar em movimento." **Albert Einstein.**

“O mundo é um lugar perigoso de se viver, não por causa daqueles que fazem o mal, mas sim por causa daqueles que observam e deixam o mal acontecer.”
Albert Einstein.

“Quando considero a duração mínima da minha vida, absorvida pela eternidade precedente e seguinte, o espaço diminuto que ocupo, e mesmo o que vejo, abismado na infinita imensidade dos espaços que ignoro e me ignoram, assusto-me e assombro-me de me ver aqui e não lá. Quem me pôs aqui? Por ordem de quem me foram destinados este lugar e este espaço?” **Blaise Pascal.**

“O pouco que aprendi carece de valor, comparado com o que ignoro e não desespero em aprender.” **René Descartes.**

“Quando mais fazemos, mais podemos fazer; quando estamos mais ocupados é quando temos mais tempo para divertir-nos.” **Pitágoras.**

“Um caminho de mil milhas começa com um passo.” **Benjamin Franklin.**

Dedico este trabalho,

À minha família, por sempre me apoiar e pelo amor e carinho
incondicionais

Agradecimentos

À minha orientadora, Dra. Iris Ferrari, pelo grande apoio, confiança, amizade, orientação e exemplo de pesquisadora;

Ao Ricardo Machado Cruz e a Liliana Ortero por me permitirem continuar seus projetos;

À equipe da *University of Kentucky*, em especial o Dr. James Hartsfield Jr. e a Dra. Lorri Morford, pela parceria findada que possibilitou a realização desse trabalho e pela amizade e orientação;

Ao grupo de estatística da *Indiana University*, pela colaboração e ajuda no desenvolvimento desse projeto;

Às famílias que aceitaram fazer parte desse projeto;

À CAPES pelo apoio financeiro;

Ao curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas pelas oportunidades de aprendizado;

Aos meus amigos do Laboratório de Genética da UnB – Carol, Neide, Diana, Mila, Dudu, Arthur, Rafaela, Ana, Eduardo – pela amizade e apoio durante essa jornada.

Aos membros da banca examinadora, pela disponibilidade em avaliar esse trabalho e, assim, contribuir para meu crescimento acadêmico;

À minha família por compreenderem meu “exílio” durante os últimos anos;

Aos meus amigos, em especial – Rick, Tiago, Victor, Jubé, Gabyzona, Karina, Nathália – pelos nossos momentos de descontração e saídas;

À Silviene, pelo amor, carinho e apoio incondicionais. Por estar sempre ao meu lado mesmo nos momentos mais difíceis. Pela ajuda na elaboração e condução do projeto. E simplesmente por ser quem ela é.

Índice Remissivo

<i>AGRADECIMENTOS</i>	III
<i>ÍNDICE DE TABELAS</i>	V
<i>ÍNDICE DE FIGURAS</i>	VI
<i>LISTA DE ABREVIATURAS</i>	VII
<i>RESUMO</i>	VIII
<i>ABSTRACT</i>	IX
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Ortodontia e os problemas craniofaciais	2
1.2 Maloclusão de Classe III	6
1.3 A genética da maloclusão de Classe III	10
1.4 Identificação de loci relacionados a características de herança complexa	13
1.5 Análise de Ligação Genética	13
1.6 LOD Score	16
1.7 Fração de Recombinação	17
1.8 Variabilidade Genética e Marcadores genéticos	19
1.8.1 Microssatélite	19
1.8.2 SNPs	20
2. PROPOSIÇÃO	22
3. METODOLOGIA	24
3.1 Amostra	25
3.2 Coleta do material biológico, Extração e Quantificação de DNA	26
3.3 Transporte das amostras	27
3.4 Seleção dos marcadores genéticos	27
3.5 Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-PCR)	30
3.6 Análise de ligação	30
3.7 Busca de genes candidatos	31
4. RESULTADOS	33
5. DISCUSSÃO	39
5.1 Classe III é uma característica poligênica com heterogeneidade fenotípica e genética	44
5.2 Estudos em modelos animais	46
5.3 Propostas de genes candidatos	48
5.4 Considerações finais	53
5.5 Conclusões	53
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
7. ANEXO 1	64
8. ANEXO 2	84

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Características craniofaciais frequentemente relacionadas à Maloclusão de Classe III.	7
Tabela 2. Síndromes genéticas com suas respectivas regiões genômicas envolvidas descritas nas quais a maloclusão de Classe III é uma das características.	8
Tabela 3. Posição cromossômica dos SNPs selecionados para análise e número de referência do marcador na empresa fornecedora (Applied Biosystems Inc). Frequência do alelo menos comum (AMC). Dados retirados e adaptados de www.appliedbiosystems.com , acessado em fevereiro de 2010.	29
Tabela 4. Condições utilizadas (temperatura e tempo) de acordo com o fabricante na reação de PCR em tempo real para todos os marcadores analisados.	30
Tabela 5. Valores de LOD <i>score</i> obtidos com a análise de oito marcadores do tipo SNP em 14 famílias brasileiras e 22 colombianas com ocorrência de maloclusão de Classe III relativos às frações de recombinação, θ , de 0 a 50% e valor máximo observado.	37

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Esquema mostrando a oclusão normal. A. Vista lateral apresentando o posicionamento do primeiro molar. B. Vista frontal mostrando o alinhamento dentário. Figuras retiradas e adaptadas de (Angle, 1899). 3
- Figura 2. Maloclusão de Classe I. A. Esquema em vista frontal mostrando o posicionamento incorreto dos dentes. Retirada e adaptada de (Angle, 1899). B. Foto de paciente em vista lateral mostrando apinhamento dentário. Retirada e adaptada de <http://en.wikipedia.org/wiki/Malocclusion>, acessada em fevereiro de 2010..... 4
- Figura 3. Maloclusão de Classe II. Fotos de pacientes de Classe II divisão 1 mostrando mordida profunda e incisivos proeminentes em vista frontal (A) e vista lateral (B). Fotos retiradas e adaptadas de (Erverdi e Acar, 2005). Esquemas mostrando Classe II divisão 2 onde em C. está em vista lateral e pode ser observado o posicionamento distal do molar dos dentes inferiores (retirado e adaptado de (Angle, 1899)) e em D. podemos notar o desgaste dentário e a mordida profunda, sendo quase impossível visualizar os incisivos inferiores (retirada e adaptada (Artese, 2009))..... 5
- Figura 4. Maloclusão de Classe III. Esquema mostrando a vista lateral sendo possível observar a oclusão mesial ao normal dos molares inferiores, onde em A. a distância entre a posição correta e a observada é aproximadamente o tamanho de um pré-molar, um caso mais brando, e em B. essa distância tem a largura de um molar, um caso mais extremo. Figuras retiradas e adaptadas de (Angle, 1899)..... 6
- Figura 5. Mapa de Distância Genética mostrando a relação entre a distância, em Morgan (M), e a fração de recombinação para os mapas de Haldane, Kosambi e Morgan. Figura retirada e adaptada de (Ziegler e König, 2006). 15
- Figura 6. Três curvas ilustrativas (A, B e C) e uma curva sendo somatório das anteriores mostrando os valores de LOD *score* pela fração de recombinação. Podemos notar o ponto de máximo e seu intervalo de confiança (geralmente diminuindo 1 do valor máximo de LOD e observando os valores de fração de recombinação onde esses valores se encontram. Cobre em torno de 96% (Thomas, 2004)). Figura retirada e adaptada de (Thomas, 2004)..... 17
- Figura 7. Heredograma de uma das famílias brasileiras onde pode ser observado o padrão de herança autossômico dominante. 26
- Figura 8. Distribuição dos genótipos dos marcadores genéticos rs1044701 (A), rs1299548 (B); rs1882600 (C), rs1294611 (D); rs9640034 (E); rs9640038 (F); rs11526212 (G) e rs7800782 (H) evidenciando os três genótipos possíveis: verde e azul - indivíduos homocigotos; vermelho - indivíduos heterocigotos. A cor cinza é o controle negativo da reação. 34
- Figura 9. Valores de LOD Score (eixo Y) pela Fração de Recombinação (eixo X) para cada marcador em todas as famílias. 38
- Figura 10. Cromossomo 7 humano mostrando as posições dos marcadores genéticos e destacando a região com evidência de ligação para a maloclusão de Classe III..... 38

LISTA DE ABREVIATURAS

DNA.....	Ácido Desoxiribonucléico
LOD.....	Logarítimo das Probabilidades
Mo.....	Maloclusão
PCR.....	Reação em cadeia da polimerase
QTL.....	<i>Quantitative Trait Loci</i>
RFLPs.....	Polimorfismos de tamanho de fragmentos de restrição
SNPs.....	Polimorfismos de nucleotídeo único
STRPs.....	Polimorfismos de repetições curtas em tandem

RESUMO

Introdução: A maloclusão de Classe III pode ser consequência de crescimento exagerado da mandíbula, pouco desenvolvimento da maxila ou combinação de ambos. Análises de segregação apontaram diversos padrões de herança, especialmente herança autossômica dominante com penetrância incompleta, modelo poligênico com presença de um limiar, multifatorial e a presença de um gene principal. Evidência de ligação foi observada nos cromossomos 1p, 3q, 6q, 11q, 12q e 19q. Análise prévia com uma família informativa colombiana apontou para uma região candidata no cromossomo 7p. **Objetivo:** Identificar regiões cromossômicas envolvidas no desenvolvimento da maloclusão de Classe utilizando famílias brasileiras e colombianas. **Materiais e Métodos:** Foram coletadas amostras biológicas de 200 indivíduos de 36 famílias selecionadas (presença de dois ou mais membros afetados no heredograma) do Brasil e da Colômbia. Três SNPs no cromossomo 7 – rs1044701, rs1299548, and rs1882600 – que haviam mostrado evidência de ligação na análise prévia e cinco SNPs adicionais – rs1294611, rs9640034, rs9640038, rs11526212, rs7800782 – foram genotipados, *via* PCR em tempo real, em todas as amostras. O programa MENDEL foi utilizado para realizar a análise de ligação paramétrica e os parâmetros foram fixados: padrão de herança autossômica dominante com penetrância incompleta (80%) e 1% para o alelo causador. Após essa análise, buscamos por possíveis genes candidatos utilizando o banco de dados NCBI. **Resultados:** Evidência de ligação foi observada para o SNP rs1882600 (LOD=2,38) e sugestão de ligação foi observada no SNP rs1299548 (LOD máximo=1,09). Evidência de exclusão foi encontrada nos SNPs rs1044701 (LOD = -5.68) e rs7800782 (LOD = -5.34, when $\theta=0$). Foi sugerido a região 7p22.2 – 7p21.3 como possível região de ligação, onde 11 genes candidatos foram propostos. **Conclusão:** Entre esses 11 genes candidatos, chama atenção, o COL28A1, pois já foi observada a presença da família do Colágeno no desenvolvimento da mandíbula em humanos e camundongos. Nosso resultado sugere fortemente a existência de heterogeneidade de *locus* no desenvolvimento da Classe III.

Palavras-chave: Maloclusão de Classe III, análise de ligação, RT-PCR, genes candidates, 7p22.2-7p21.3

ABSTRACT

Introduction: Class III Malocclusion can be caused by the overgrowth of the mandible, the undergrowth of the maxilla or a combination of both. Segregation heritability analysis pointed out several inheritance patterns, especially autosomal dominant inheritance with incomplete penetrance, polygenic threshold model, multifactorial etiology, and the presence of a major gene. Evidence of linkage was found for chromosomes 1p, 3q, 6q, 11q, 12q, and 19p. A previous analysis with one big Colombian family pointed to a possible candidate region on chromosome 7p. **Aim:** Identify chromosomal regions that lead to the development of Class III Malocclusion employing families from Brazil and Colombia. **Material and Methods:** 200 individuals from selected families (at least two affected member in the pedigree) from Colombia and Brazil had their biological samples collected. The three SNPs in chromosome 7 – rs1044701, rs1299548, and rs1882600 – that had shown evidence of linkage in the previous analysis and five additional SNPs - rs1294611, rs9640034, rs9640038, rs11526212, rs7800782 – in the q-terminal direction were genotyped, via RT-PCR, for all samples. For the parametric linkage analysis the MENDEL software was employed using the parameters for a dominant pattern of inheritance, with incomplete penetrance (80%) and 1% for the allele disease. After the analysis, we searched for possible candidate genes employing the NCBI databank. **Results:** Evidence of linkage (LOD=2.38) for the SNP rs1882600, suggestion of linkage for the SNP rs1299548 (LOD max.=1,09). and evidence of exclusion for rs1044701 (LOD = -5.68) and rs7800782 (LOD = -5.34, when $\theta=0$) were observed. The region between 7p22.2 – 7p21.3 was proposed as possible linked region, where 11 candidate genes were proposed. **Conclusion:** From the 11 candidate genes, one is very interesting, the COL28A1, due to the presence of the Collagen family in previous analysis in human and mice. The results strongly suggest the existence of *locus* heterogeneity.

Keywords: Class III Malocclusion, linkage analysis, RT-PCR, candidate genes, 7p22.2-7p21.3.

1. INTRODUÇÃO

A busca pela cura dos males que afetam o homem é uma busca que remete, pelo menos, ao início da civilização humana. Esse traço cultural, assim como toda a cultura humana, vem “moldando”, através de seleção, o genoma humano ao longo desse tempo (Laland *et al.*, 2010). A medicina e a odontologia ao longo da história foram ciências principalmente curativas, ou seja, procuravam tratar problemas de saúde já estabelecidos. Porém, atualmente ambas estão muito voltadas para a prevenção das doenças devido à melhor resposta do paciente e um menor custo econômico (Topaloglu-Ak *et al.*, 2009; Clarke *et al.*, 2010). Dentro desse contexto, avanços nos campos da genética e da biologia molecular têm colaborado no desenvolvimento de métodos de diagnóstico cada vez mais precoce, que podem possibilitar na prevenção do estabelecimento de doenças e de características divergentes do padrão normal para a espécie humana (Khoury, 1996; Copp e Greene, 2009; Wimmer *et al.*, 2009; Lin *et al.*, 2010).

1.1 Ortodontia e os problemas craniofaciais

A ortodontia apresenta como especialidade o estudo, a prevenção e o tratamento dos problemas de crescimento do complexo craniofacial, desenvolvimento e amadurecimento da face, dos arcos dentários e da mordida, ou seja, de anomalias dentofaciais (Moyers, 1991). Os problemas craniofaciais estão dentre os grandes desafios dessa área, pois, em sua vasta maioria, envolvem tratamentos de força contínua e intermitente (aparelhos corretivos) e/ou tratamentos cirúrgicos (Chang *et al.*, 2006; Nishimura *et al.*, 2006).

Durante muito tempo, considerava-se que as disfunções craniofaciais eram decorrentes exclusivamente de fatores não-genéticos, como a sucção do dedo ou chupeta por períodos prolongados e/ou por instrumentos utilizados durante o nascimento (Schoenwetter, 1974; Moss, 1975). Porém, uma reformulação na etiologia das disfunções craniofaciais foi proposta sugerindo a contribuição de fatores genéticos e interação gene-ambiente no desenvolvimento craniofacial (Moss, 1997). Além dessa reformulação, foi demonstrado que os genes e o

ambiente têm papéis predominantes em fases diferentes do desenvolvimento: os genes no desenvolvimento embrionário e o ambiente na fase pós-natal (Mossey, 1999; Dohmoto *et al.*, 2002).

Um dos principais problemas craniofaciais são as maloclusões, que podem ser definidas como qualquer desvio significativo do que é considerada uma oclusão normal ou ideal (Angle, 1899; Mossey, 1999). O componente principal para oclusão é a posição relativa dos primeiros molares. Assim, na oclusão normal, a cúspide méso-bucal do primeiro molar superior é recebida no sulco entre as cúspides mesial e distal do primeiro molar inferior. Essa leve projeção dos dentes superiores faz com que as cúspides bucais dos pré-molares e dos molares da mandíbula fiquem para dentro dos sulcos mesio-distais de seus antagonistas, ao passo que os incisivos centrais superiores, laterais e caninos sobrepõem-se aos inferiores em um terço do comprimento de suas coroas (Figura 1A e 1B) (Angle, 1899). A oclusão normal é encontrada em torno de 30-40% da população mundial (El-Mangoury e Mostafa, 1990).

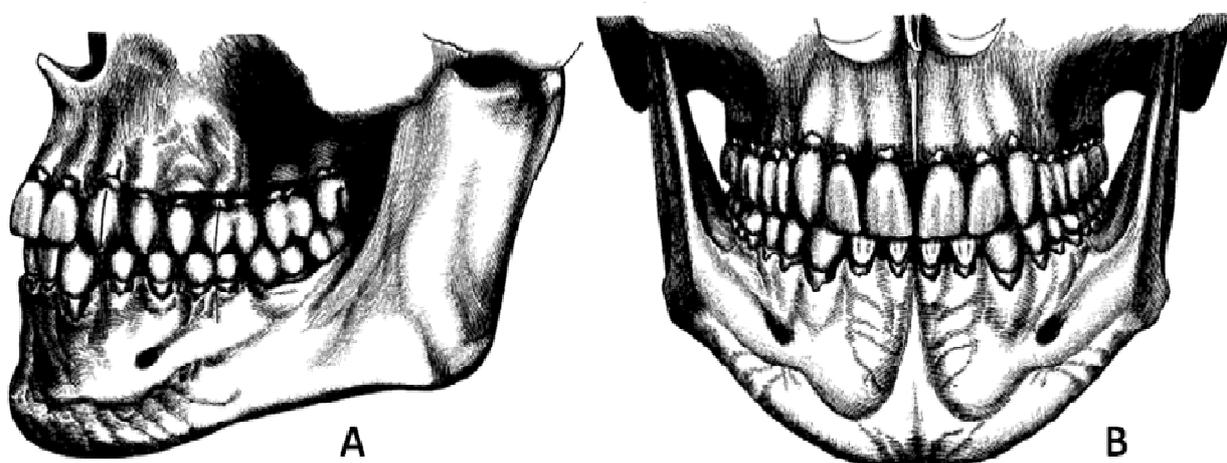


Figura 1. Esquema mostrando a oclusão normal. **A.** Vista lateral apresentando o posicionamento do primeiro molar. **B.** Vista frontal mostrando o alinhamento dentário. Figuras retiradas e adaptadas de (Angle, 1899).

As maloclusões são divididas em três classes: Classe I, Classe II e Classe III (Angle, 1899; Mossey, 1999). Indivíduos com a maloclusão de Classe I apresentam a posição normal

das arcadas dentárias com os primeiros molares usualmente em oclusão normal, porém com maloclusões presente nos dentes anteriores (Figura 2A e 2B)(Angle, 1899).

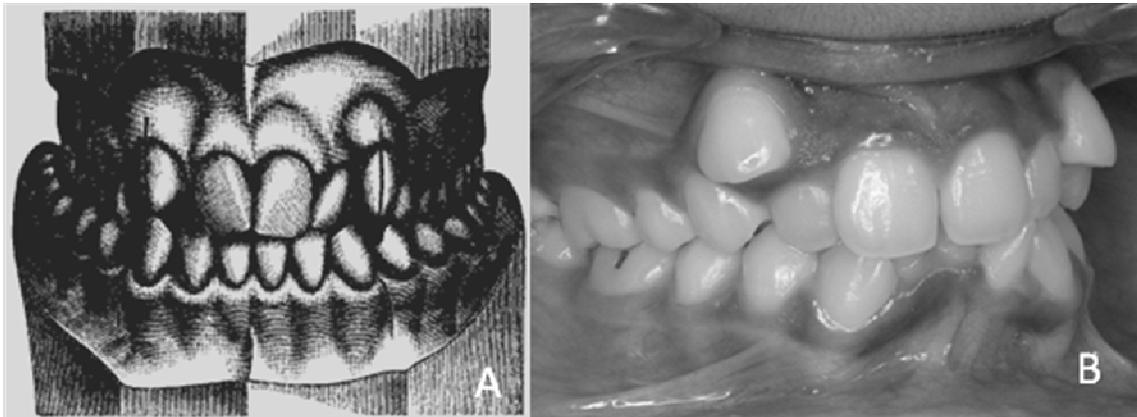


Figura 2. Maloclusão de Classe I. **A.** Esquema em vista frontal mostrando o posicionamento incorreto dos dentes. Retirada e adaptada de (Angle, 1899). **B.** Foto de paciente em vista lateral mostrando apinhamento dentário. Retirada e adaptada de <http://en.wikipedia.org/wiki/Malocclusion>, acessada em fevereiro de 2010.

Indivíduos com maloclusão de Classe II apresentam as relações relativas méso-distais das arcadas dentárias anormais, onde os dentes inferiores ocluem distalmente ao normal, ou seja, ocorre a retrusão da mandíbula em relação à arcada dentária superior o que produz desarmonia muito marcante na região incisiva e nas linhas faciais. Nesta classe existem duas divisões, cada qual com uma subdivisão. A **primeira divisão** é caracterizada por um estreitamento da arcada superior com incisivos superiores alongados e proeminentes, acompanhados por função anormal dos lábios e alguma forma de obstrução nasal (Figura 3A e 3B). Geralmente esses indivíduos respiram pela boca. As características gerais da subdivisão são as mesmas dessa divisão, apenas em grau menor, onde uma das metades da arcada está envolvida e a outra metade é normal. A **segunda divisão** é caracterizada por menor estreitamento da arcada superior, inclinação lingual dos incisivos superiores, apinhamento dos mesmos, mordida profunda, entre outras características morfométricas (Figura 3C e D). A função nasal e labial é normal. A subdivisão dessa divisão apresenta as

mesmas características, exceto que uma metade lateral da arcada está envolvida e outra é normal (Angle, 1899).

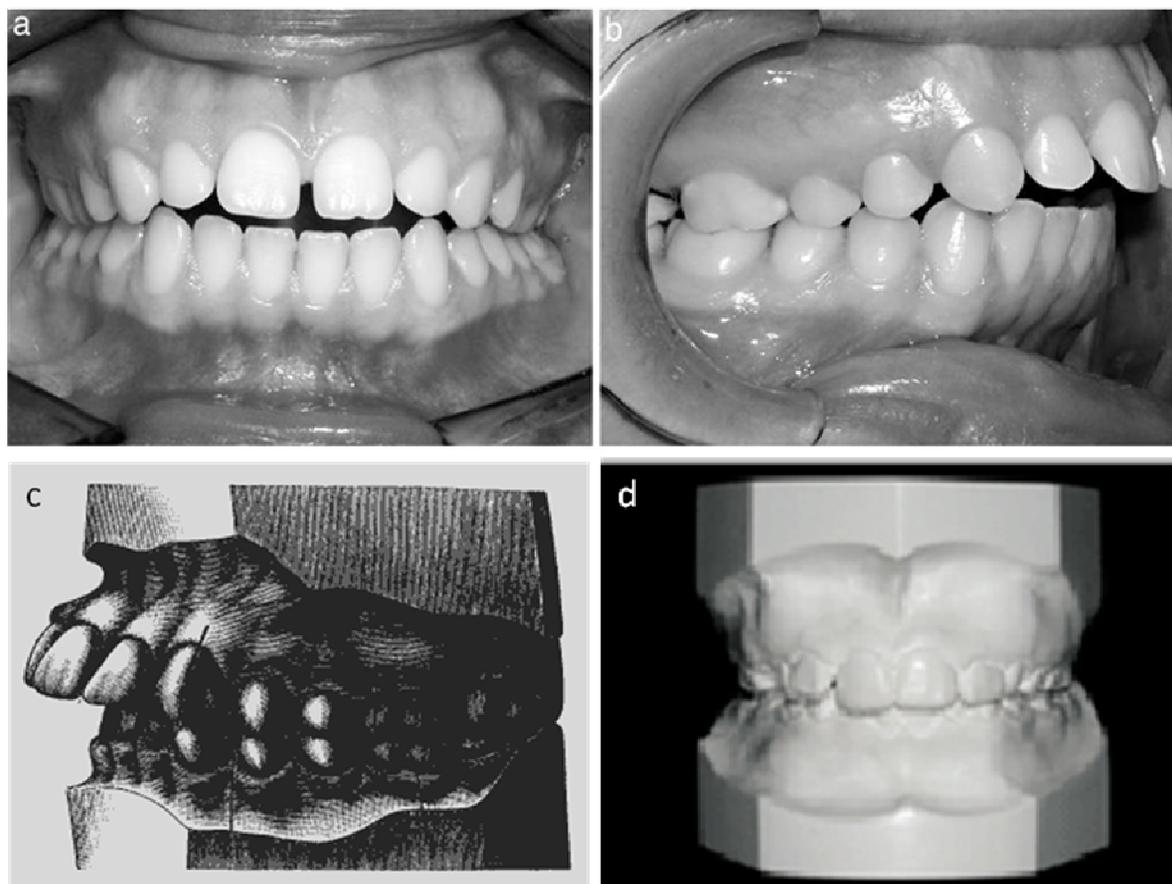


Figura 3. Maloclusão de Classe II. Fotos de pacientes de Classe II divisão 1 mostrando mordida profunda e incisivos proeminentes em vista frontal (**A**) e vista lateral (**B**). Fotos retiradas e adaptadas de (Erverdi e Acar, 2005). Esquemas mostrando Classe II divisão 2 onde em **C**. está em vista lateral e pode ser observado o posicionamento distal do molar dos dentes inferiores (retirado e adaptado de (Angle, 1899)) e em **D**. podemos notar o desgaste dentário e a mordida profunda, sendo quase impossível visualizar os incisivos inferiores (retirada e adaptada (Artese, 2009)).

Nos indivíduos com maloclusão de Classe III, a relação dos maxilares é anormal onde todos os dentes inferiores ocluem mesialmente em relação à oclusão normal, em geral, na largura de um pré-molar, porém, em casos mais extremos, com a largura de um molar (Figura 4A e 4B). A disposição dos dentes varia grandemente nesta Classe, desde um alinhamento correto até apinhamento e sobreposição, especialmente na arcada superior. Essa desarmonia encontrada no tamanho das arcadas pode ser consequência de: 1. desenvolvimento pouco

harmonioso dos ossos maxilares com o ângulo da mandíbula sendo mais obtuso do que o normal, 2. crescimento excessivo do corpo da mandíbula, 3. deficiência no crescimento da maxila, ou 4. combinação destas duas últimas. Essa classe também possui uma subdivisão onde as características gerais são as mesmas, exceto que a desarmonia tem um grau menor, onde uma metade lateral apresenta as características e a outra metade é normal (Angle, 1899).

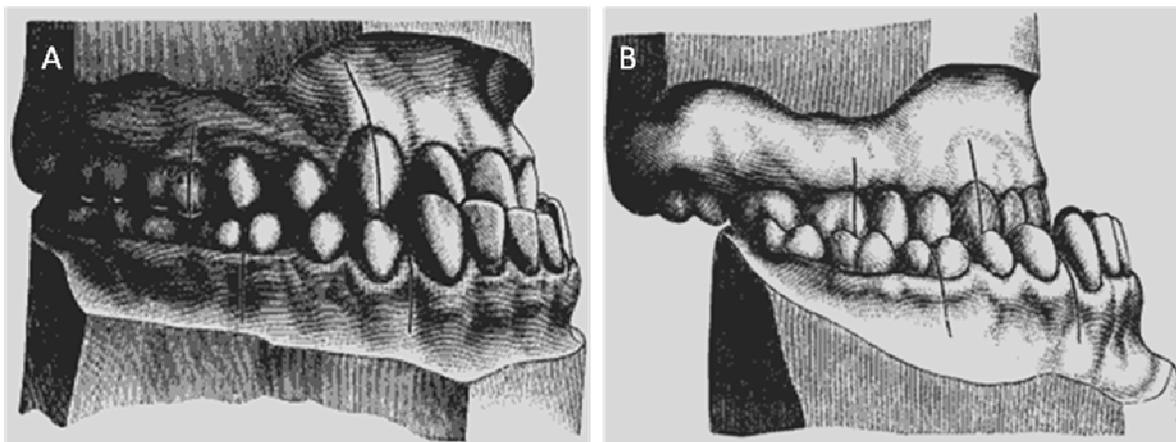


Figura 4. Malocclusão de Classe III. Esquema mostrando a vista lateral sendo possível observar a oclusão mesial ao normal dos molares inferiores, onde em **A.** a distância entre a posição correta e a observada é aproximadamente o tamanho de um pré-molar, um caso mais brando, e em **B.** essa distância tem a largura de um molar, um caso mais extremo. Figuras retiradas e adaptadas de (Angle, 1899).

1.2 Malocclusão de Classe III

Anteriormente, a malocclusão de Classe III foi subdividida em diversos fenótipos, sendo o mais importante desses o prognatismo mandibular (Jacobson *et al.*, 1974). Porém, foi proposto que, de fato, o prognatismo mandibular e a malocclusão de Classe III são a mesma característica (Singh, 1999). Por esse motivo, no presente trabalho acataremos que essas denominações definem o mesmo fenótipo e problema.

Indivíduos com Mo. Classe III além de apresentar a característica-diagnóstica já descrita anteriormente (Figura 4A e 4B), podem também apresentar outras características craniofaciais, como as listadas na Tabela 1. Problemas na coluna cervical, como desvios e fusões, também foram relatadas em indivíduos com Mo. Classe III, o que sugeriu que existem

causas genéticas diferenciadas para Classe III e por isso apresentam características diferentes (Sonnesen e Kjær, 2007).

Tabela 1. Características craniofaciais frequentemente relacionadas à Maloclusão de Classe III.

Características	Referências
Ângulo agudo da base do crânio	(Singh <i>et al.</i> , 1997; 1998)
Ângulo do plano mandibular obtuso	(Singh <i>et al.</i> , 1998)
Comprimento diminuído da base anterior do crânio	(Singh <i>et al.</i> , 1997; Mossey, 1999)
Força de mastigação (<i>Bite force</i>) reduzida	(Ueki <i>et al.</i> , 2006)
Mandíbula alongada e proeminente	(Singh <i>et al.</i> , 1998)
Mandíbula posicionada anteriormente	(Singh <i>et al.</i> , 1998)
Maxila curta	(Singh <i>et al.</i> , 1998)
Ramo mandibular curto	(Singh <i>et al.</i> , 1998)

A Mo. Classe III pode ser encontrada como uma característica isolada em indivíduos e/ou famílias, denominada maloclusão essencial, assim como pode ser um dos sinais clínicos encontradas em diversas síndromes. Na Tabela 2 estão listadas as síndromes genéticas relatadas no OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man* – www.ncbi.nlm.nih.gov/omim, acessado em fevereiro de 2010) onde a Mo. Classe III é uma das características apresentadas cujas regiões genômicas envolvidas já foram descritas. Além destas, Classe III pode ser encontrada em outras síndromes cujas regiões genômicas envolvidas não são conhecidas.

Apesar de vários anos de pesquisa na busca da etiologia da Mo. Classe III, esta ainda está distante de ser totalmente conhecida. Isso pode ser decorrente da expressividade variável observada nessa característica e do conhecimento limitado sobre os mecanismos genéticos e ambientais envolvidos (Mossey, 1999; Singh, 1999).

Tabela 2. Síndromes genéticas com suas respectivas regiões genômicas envolvidas descritas nas quais a maloclusão de Classe III é uma das características.

Síndrome	Localização genômica descrita
Amelogênese imperfeita Tipo III	8q24.3
Cútis Laxa	17q25.3
Displasia Cleido-cranial	6p21
Esclerosteose (SOST)	17q12-q21
Geroderma osteodisplástico (<i>Walt Disney dwarfism</i>)	1q24.2
Mucopolidose	12q23.3
Mucopolissacaridose do tipo IV, Síndrome de Scheie	4p16.3
Osteogênese imperfeita Tipo 1	17q21.31-q22, 7q22.1
Osteopetrose autossômica recessiva	13q14
Retardo mental ligado ao X, tipo <i>Snyder-Robinson</i>	Xp22.1
de Apert	10q26
de Cockayne tipo B	10q11
de Crouzon	10q26
de Gorlin	9q22.3
de Joubert	9q34.3
de Langer-Giedion	8q24.12
de Pfeiffer	10q26, 8p11.2-p11.1
de <i>Renpenning</i>	Xp11.23
de Sotos	5q35
de Waardenburg	2q35
de Weaver	5q35
Miastênica congênita associada com deficiência do receptor de acetilcolina	17p12-p11, 17p13-p12, 11p11.2-p11.1, 9q31.3-q32

Atualmente há consenso de que a hereditariedade tem papel fundamental no desenvolvimento da Classe III. Há relatos de herança autossômica recessiva (Downs, 1927), autossômica dominante (Bertram *et al.*, 1959; Wolff *et al.*, 1993) e autossômica dominante com penetrância incompleta para Classe III essencial (Mossey, 1999; El-Gheriani *et al.*, 2003; Yamaguchi *et al.*, 2005; Cruz *et al.*, 2008; Frazier-Bowers *et al.*, 2009), o que sugere fortemente o envolvimento de múltiplos genes. Sabe-se também que o ambiente tem um papel relevante no desenvolvimento da Mo. Classe III. Assim, sabendo do envolvimento de múltiplos genes, sendo uns de maior importância e outros secundários, e da interação destes

com o ambiente, a Mo. Classe III pode ser classificada como tendo herança complexa (Cruz *et al.*, 2008).

O diagnóstico dessa característica em algumas situações pode ser feito em idades precoces e, em geral, torna-se mais evidente com o crescimento, principalmente após o surto de crescimento da adolescência. Por sua discrepância de crescimento entre a maxila e a mandíbula, grande parte dos pacientes sofre: com dificuldade para mastigar adequadamente; com desgaste prematuro dos dentes; pode desenvolver disfunções temporomandibulares e problemas de fala; pode experimentar dificuldade no fechamento da boca e selamento labial; e frequentemente sofre estigma social em função de sua aparência facial (Arienza, 1971; Mah, 2001).

Foi demonstrado que o diagnóstico precoce pode levar à diminuição da necessidade de procedimento cirúrgico quando associado a uma intervenção precoce. Porém, essa abordagem condena o paciente a um longo e cansativo tratamento, geralmente durante todo o crescimento e desenvolvimento da criança. E apesar disso, em uma parte dos casos, mesmo com esta abordagem de força continua durante o desenvolvimento, o surto de crescimento da adolescência pode levar a um crescimento acelerado da mandíbula em relação ao crescimento da maxila, levando ao desenvolvimento do fenótipo (Arienza, 1971; Ishii *et al.*, 1987; Ngan, 2006).

Reconhecer os efeitos dos genes e do ambiente, a época e como estes podem afetar o desenvolvimento do complexo craniofacial de um indivíduo é um dos caminhos para o desenvolvimento de melhores formas de tratamento. Porém, para isso ainda é preciso percorrer um longo caminho em busca dos mecanismos genéticos envolvidos no desenvolvimento craniofacial e na busca de conhecimento científico do envolvimento de fatores ambientais.

1.3 A genética da maloclusão de Classe III

A Mo. Classe III é observada no mundo inteiro, mas com diferentes frequências. Na Europa e países euroderivados são encontradas as menores frequências (~1 a 6,5%), nas populações africanas sub-saarianas são encontradas frequências intermediárias (~4 a 17%) e nas populações asiáticas, especialmente do extremo oriente – coreanos, chineses e japoneses, são encontradas as maiores frequências (~15 a 23%) (El-Mangoury e Mostafa, 1990; El-Gheriani *et al.*, 2003; Yamaguchi *et al.*, 2005). No Brasil, estudos recentes apontam que a prevalência é de ~ 4 a 11% (Grando *et al.*, 2008; Martins e Lima, 2009). A Mo. Classe III é uma das mais conhecidas características humanas sendo transmitidas geneticamente através de várias gerações dentro de famílias (Arienza, 1971; Mossey, 1999; Singh, 1999; Mah, 2001; Yamaguchi *et al.*, 2005; Cruz *et al.*, 2008). A presença da Mo. Classe III foi observada na dinastia austro-húngara Habsburgos (Strohmayer, 1937), assim como na família imperial brasileira (Pena e Penna, 1988).

Apesar do reconhecimento atual da importância do componente genético no desenvolvimento da maloclusão de Classe III, pouco se sabe acerca deste. Parte desse conhecimento adveio da análise de segregação (El-Gheriani *et al.*, 2003; Cruz *et al.*, 2008). Essa análise é uma investigação da agregação familiar, para a qual são requeridos heredogramas grandes e informativos, além de uma definição precisa do fenótipo. Nessa análise o padrão de segregação é focado em cada família separadamente e não requer informações a respeito do genótipo dos indivíduos (Cruz e Oliveira, 2007). Utilizando essa metodologia, foi observada que existe um gene principal no desenvolvimento do prognatismo mandibular (Cruz *et al.*, 2008), ou seja, dentre todos os genes envolvidos no desenvolvimento dessa característica existe um *locus* gênico que contribui de maneira fundamental para esse desenvolvimento.

Em relação à busca física de *loci* envolvidos no desenvolvimento da Classe III, poucos estudos foram realizados. Entre eles estão: um com famílias japonesas e coreanas (Yamaguchi *et al.*, 2005), dois com famílias colombianas (Ortero, L, dados não publicados)(Frazier-Bowers *et al.*, 2009) e outra com parte das amostras utilizadas no presente estudo (Cruz, 2006).

Para a análise de ligação no Japão e na Coréia, 405 marcadores do tipo microssatélites foram selecionados cobrindo o genoma inteiro, não incluindo os cromossomos sexuais, com uma heterozigose média de 0,76 e intervalo médio de 8,8 cM. As amostras coletadas foram de irmãos afetados com um total de 90 pares de irmãos. Numa primeira análise, três regiões genômicas foram identificadas com evidência de ligação – 1p36, 6q25 e 19p13.2. Devido ao valor de significância encontrada no cromossomo 1, um mapeamento mais denso foi realizado onde 31 marcadores foram adicionados, e foi observado um sinal positivo de ligação para o marcador D1S234, localizado na região 1p36 (Yamaguchi *et al.*, 2005).

Em famílias colombianas foram utilizados 546 marcadores do tipo microssatélites cobrindo os cromossomos autossômicos para a análise de ligação. As amostras coletadas foram de quatro famílias colombianas com pelo menos dois indivíduos afetados totalizando 57 indivíduos, sendo 28 afetados e 29 não-afetados. Os resultados mostraram evidência de ligação em cinco regiões de quatro cromossomos – 1p22.1, 3q26.2, 11q22, 12q13.13 e 12q23. É importante notar que novamente o cromossomo 1 foi observado com sinal de ligação e para os autores isso pode significar que realmente esse cromossomo está envolvido no desenvolvimento da mandíbula e da maxila (Frazier-Bowers *et al.*, 2009).

Análise de ligação utilizando marcadores genéticos ligados a seis regiões candidatas foi realizada para dez famílias brasileiras com um total de 42 indivíduos analisados (artigo submetido (Cruz *et al.*, 2010)). Essas regiões selecionadas apresentam genes envolvidos com o desenvolvimento da mandíbula e maxila e regiões que mostraram ligações com Mo. Classe

III em famílias japonesas. Apesar disso, essas regiões não mostraram nenhuma ligação para as famílias brasileiras estudadas, ou seja, genes diferentes estão atuando no desenvolvimento dessa característica nessas famílias. Esse fato sugere que a Mo. Classe III é uma característica heterogênea e que os fatores genéticos envolvidos nessas famílias brasileiras não foram observados em famílias de outra região geográfica e/ou ancestralidade (Cruz, 2006).

Em estudo preliminar, pertencente ao mesmo projeto global de busca de genes envolvidos no desenvolvimento da Mo. Classe III, ao desenvolvido nessa dissertação, foi realizada análise de ligação utilizando uma família colombiana e, para isso, foram utilizados 6090 polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) cobrindo todos os cromossomos com uma distância média de 0,58 cM e heterozigose média variando de 33% a 43% (dependendo da população). As amostras utilizadas foram coletadas de uma única grande família Colombiana totalizando 40 indivíduos, sendo 25 afetados e 15 não-afetados. Os resultados mostraram evidência de ligação para o cromossomo 7. Esse é o primeiro relato de evidência de ligação nesse cromossomo com o desenvolvimento da Mo. Classe III em humanos (Ortero, L., dados não publicados). Os marcadores que apresentaram evidência de ligação no cromossomo 7 nesse estudo foram utilizados como base para o estudo desenvolvido nessa dissertação e em conjunto com outros marcadores nesse cromossomo.

Além da possibilidade do desenvolvimento de metodologia para diagnóstico precoce, o conhecimento acerca dos mecanismos genéticos envolvidos no desenvolvimento da Mo. Classe III poderá colaborar no entendimento da osteogênese mandibular e com isso colaborar no melhor entendimento de outras malformações mandibulares e do próprio conhecimento acerca da formação do corpo humano.

1.4 Identificação de loci relacionados a características de herança complexa

Para a busca de *loci* relacionados a características de herança complexa existem várias estratégias, sendo as principais: a análise de associação, a análise de ligação e a avaliação de genes candidatos. A avaliação de genes candidatos consiste na busca da associação de genes conhecidos que se suspeita de estarem envolvidos no desenvolvimento de uma característica ou doença. É geralmente precedida de análise de ligação e/ou de associação ou, alternativamente, a partir do conhecimento da função de um dado gene.

A análise de associação busca a associação estatística entre um alelo, genótipo ou haplótipo e uma característica. É baseada na comparação de dados obtidos para amostras do tipo caso-controle, onde o resultado positivo é a ocorrência de um dado alelo, genótipo ou haplótipo mais frequentemente encontrado nos indivíduos afetados do que o esperado como um desvio ao acaso (Thomas, 2004; Ziegler e König, 2006). A associação espúria, isso é, associação estatística sem de fato existir a associação biológica é um problema que ocorre com certa frequência nesse tipo de estudo (Botstein e Risch, 2003). Apesar dessa possibilidade de falsos positivos, encontra-se hoje na literatura a proposta de que a análise de associação com a utilização do escaneamento do genoma total deverá suplantar a análise de ligação em termos de poder de resolução (Risch e Merikangas, 1996).

1.5 Análise de Ligação Genética

O genoma humano está contido em 22 pares de cromossomos autossômicos e dois cromossomos sexuais. *Loci* localizados no mesmo cromossomo são ditos sintênicos, porém não necessariamente ligados. Dois *loci* são considerados ligados quando estão fisicamente próximos ao ponto de não haver nenhum evento de recombinação entre eles e podem ser ditos parcialmente ligados quando a taxa de recombinação for menor que 50%. Dessa forma, à medida que a distância aumenta entre dois *loci* no mesmo cromossomo, a taxa de

recombinação aumenta até que o comportamento entre estes seja idêntico a dois *loci* localizados em cromossomos diferentes, ou seja, segregação independente (Dawn Teare e Barrett, 2005).

A análise de Ligação Genética pode ser definida como o processo que busca a localização cromossômica aproximada de um gene pela observação da evidência de co-segregação – tendência de dois ou mais genes serem herdados juntos – de outros genes/marcadores cujas localizações são conhecidas (Thomas, 2004). Essa análise geralmente é a primeira fase da investigação da base genética de uma característica ou doença, pois pode ser usada para encontrar grandes regiões genômicas que podem conter o gene causador, mesmo na ausência de dados biológicos que sugerissem tal fato (Dawn Teare e Barrett, 2005).

A análise de ligação é baseada em dois princípios: 1. *loci* em diferentes cromossomos segregam independentemente e 2. a probabilidade θ de recombinação – também conhecida como fração de recombinação – entre dois *loci* localizados no mesmo cromossomo aumenta com a distância genética entre eles, eventualmente chegando ao valor máximo de $\frac{1}{2}$, mesma probabilidade de recombinação de dois *loci* em cromossomos distintos (Thomas, 2004). É esse gradiente de probabilidade de recombinação que pode permitir a determinação da localização de um gene (Hauser *et al.*, 1996; Rao, 2008).

O mapa de distância genética, como na Figura 5, expressa a localização de marcadores em relação a um painel de marcadores já estabelecidos cuja ordem e posição são conhecidas. Essas distâncias são expressas em Morgan (M), onde 1M representa a distância onde o número de recombinações seja um. Como essa distância é muito grande, é mais comum usar a unidade em cM (1/100 de M), ou seja, a distância de 1cM evidencia a probabilidade de ocorrer recombinação de 1% (Thomas, 2004). Porém, esse número não informa as distâncias físicas em pares de base. Dessa forma, uma conversão existe e, em média, 1cM corresponde a aproximadamente 0,88 milhões de pares de bases, porém esse valor pode variar ao longo do

genoma a depender do gênero, das recombinações não distribuídas igualmente além de outros fatores (Ziegler e König, 2006).

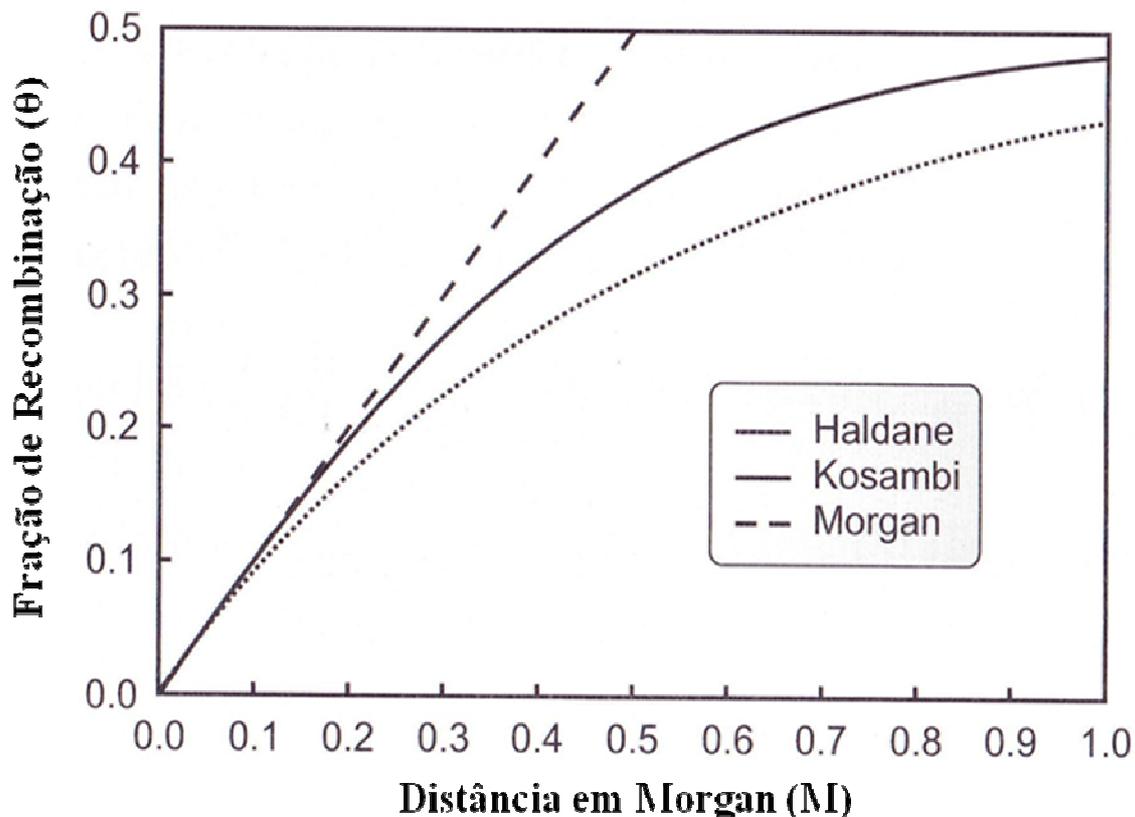


Figura 5. Mapa de Distância Genética mostrando a relação entre a distância, em Morgan (M), e a fração de recombinação para os mapas de Haldane, Kosambi e Morgan. Figura retirada e adaptada de (Ziegler e König, 2006).

De fato, recombinações não ocorrem randomicamente. Isso porque se um *crossing over* ocorre em um determinado ponto, a probabilidade de outro ocorrer em regiões próximas diminui em relação à taxa média. Esse fenômeno é conhecido como interferência (Thomas, 2004). Na Fig.5, podemos notar que a função do mapa de Haldane admite a ausência total de interferência, enquanto que a função do mapa de Morgan assume total interferência. Completa interferência significa que um quiasma suprime qualquer possibilidade de outro *crossing over* ocorrer no cromossomo. No modelo proposto por Kosambi admite-se uma interferência moderada e, provavelmente, é a função de mapa mais utilizado já que reflete adequadamente o nível de interferência observado em mamíferos (Thomas, 2004; Ziegler e König, 2006).

1.6 LOD Score

Em análises de ligação, a metodologia estatística considerada mais eficaz é o LOD *score*, logaritmo das probabilidades (Thomas, 2004). Essa metodologia, descrita por Morton (Morton, 1955), consiste basicamente na comparação da probabilidade de que dois *loci* não estejam ligados *versus* a probabilidade de que estejam ligados com uma determinada fração de recombinação. Para tanto, considera como hipótese nula (ausência de ligação), uma fração de recombinação, denominada θ , de 50%, isto é, segregação independente, e como hipótese alternativa a ocorrência de ligação, $\theta < 0,5$ (Morton, 1955; Thomas, 2004; Ziegler e König, 2006; Rao, 2008).

Valores positivos de LOD são evidências de ligação enquanto que valores negativos evidenciam exclusão de ligação. Convencionalmente, um valor de LOD maior ou igual a +3 é considerado como evidência de ligação significativa, sendo equivalente a um $p=0,0001$. A hipótese de ligação é descartada para todos os valores de θ onde for obtido um valor de LOD igual ou menor que -2 (Morton, 1955; Thomas, 2004; Ziegler e König, 2006; Rao, 2008). Já para os valores intermediário, sugere-se que marcadores que apresentam valor de LOD maior que +1 para características complexas merecem ser analisados mais profundamente, seja com genotipagem de mais indivíduos das famílias analisadas, inclusão de mais famílias, ou adição de mais marcadores nas regiões próximas a este (Hauser *et al.*, 1996), ou seja, é sugestão de ligação. Já valores de LOD *score* entre +2 e +3 são evidência forte de ligação para características complexas.

O comportamento dos valores de LOD *score* pela fração de recombinação (θ) pode fornecer informações adicionais. Dessa forma, exemplos podem ser observados na Figura 6. A curva **A** sugere evidência de exclusão, pois começa em um valor extremamente negativo e aumenta monotonamente. A curva **B** sugere forte evidência de ligação, pois apresenta valor inicial alto – entre +4 e +5 – e decresce monotonamente, ou seja, não há nenhuma

recombinação aparente. A curva **C** apresenta seu valor inicial baixo – entre -4 e -5 –, porém sua curva atinge um máximo positivo no intervalo de $\theta=0$ até $\theta=0,5$. Essa curva sugere evidência em favor de ligação, mas como existe pelo menos um evento de recombinação, também apresenta evidência concreta contra a hipótese de $\theta=0$, ou seja, de que esse *locus* não pode ser o *locus* de susceptibilidade da doença. A curva **Total** é um agregado das outras curvas, atingindo um único máximo entre $\theta=0$ e $\theta=0,5$ e diverge para menos infinito no $\theta=0$. As conclusões são as mesmas da curva **C** (Thomas, 2004).

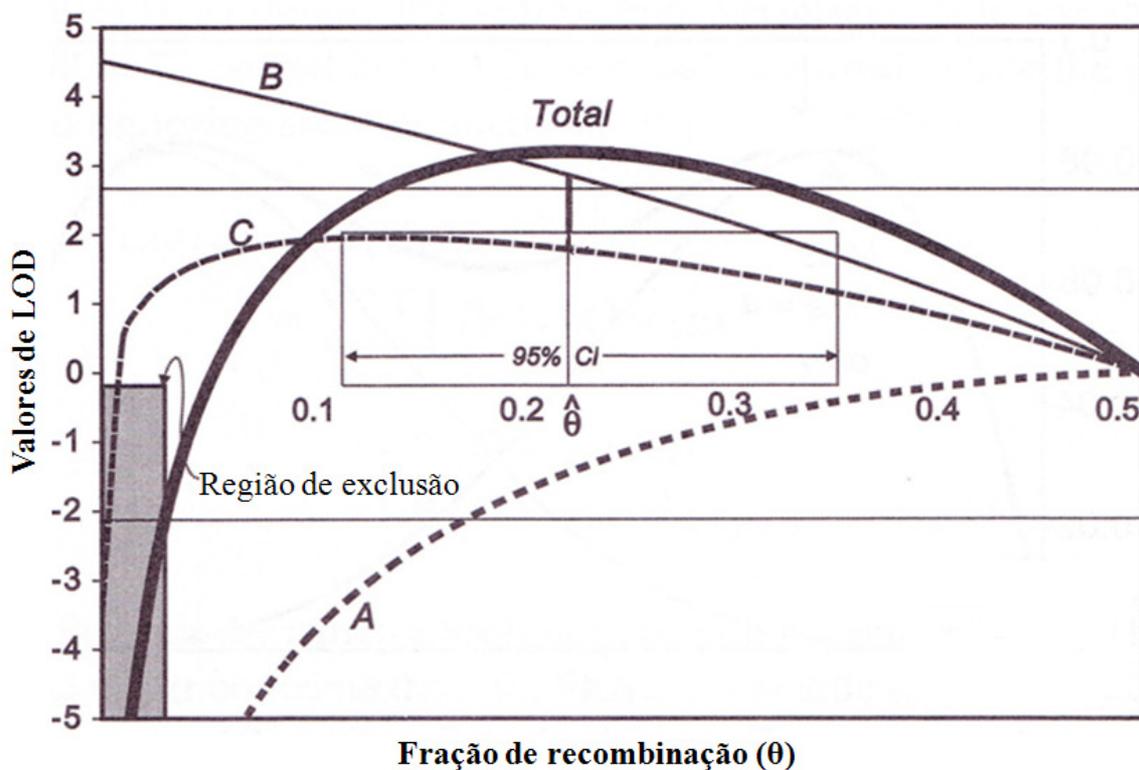


Figura 6. Três curvas ilustrativas (A, B e C) e uma curva sendo somatório das anteriores mostrando os valores de LOD *score* pela fração de recombinação. Podemos notar o ponto de máximo e seu intervalo de confiança (geralmente diminuindo 1 do valor máximo de LOD e observando os valores de fração de recombinação onde esses valores se encontram. Cobre em torno de 96% (Thomas, 2004)). Figura retirada e adaptada de (Thomas, 2004)

1.7 Fração de Recombinação

Atualmente, existem duas maneiras diferentes de interpretar o resultado da análise de ligação. Uma das abordagens é utilizar a fração de recombinação onde o valor do LOD *score* seja o máximo. Assim é possível inferir a distância entre o *locus* do marcador e o *locus* da

característica/doença e dessa forma adicionar mais marcadores na região do genoma apontada pela fração de recombinação (Dawn Teare e Barrett, 2005). Por outro lado, outros autores defendem a idéia de que os valores da fração de recombinação, na prática, são imprecisos e a verdadeira função de mapa seja muito incerta para que isso seja de alguma ajuda na localização gênica. Dessa forma, não é possível fazer inferências em relação à distância e é aconselhado então adicionar mais marcadores nas regiões próximas ao *locus* do marcador analisado até o ponto onde recombinações são improváveis de acontecer (Thomas, 2004).

Para a busca da localização genômica de doenças monogênicas Mendelianas, onde há forte correlação entre o genótipo de um único gene e o fenótipo, a análise de ligação mostrou-se extremamente útil, principalmente, devido à fração de recombinação (Borecki *et al.*, 2008). Um exemplo foi a descoberta do gene *BRCA1* onde foi observado à ligação entre dois marcadores no cromossomo 17q e a doença em 214 famílias compreendendo uma região de 13 cM, ou seja, com eventos de recombinação entre esses marcadores e o *locus* cancerígeno (Easton *et al.*, 1993). Posteriormente, métodos para refinar a busca levaram à descoberta do gene *BRCA1* e à proposição de que este seria um forte gene candidato, pois estava posicionado na região proposta inicialmente, continha mutações regulatórias, sem sentido e de mudança de quadro de leitura que co-segregavam com a doença nessas famílias e que eram raras na população geral (Miki *et al.*, 1994).

Entretanto, existem argumentações de que para doenças e características complexas este tipo de análise não é tão efetiva. Isso porque, diferentemente de doenças monogênicas onde existe apenas um gene atuando na caracterização da mesma, nas doenças e características complexas existem diversos genes e cada um deles pode ter efeitos mais modestos e, conseqüentemente, diminuir a chance de encontrar tal ligação (Risch e Merikangas, 1996; Binder, 2006; Borecki *et al.*, 2008). Nesse caso, a fração de recombinação é desconsiderada e apenas o valor máximo de LOD *score* utilizado. Dessa forma, são

adicionados marcadores em regiões próximas aos marcadores que sugeriram a ligação até atingir um valor de LOD que fosse efetivamente significativo (+3), sem poder estimar distâncias entre esse marcador e o *locus* da característica.

1.8 Variabilidade Genética e Marcadores genéticos

Toda a diversidade biológica encontrada na Terra, assim como as diferenças observadas entre indivíduos - como altura, peso, cor de pele e crescimento facial - são fruto da variabilidade genética existente e da relação desta com o ambiente. Essa variabilidade genética tem como fonte primária a mutação que pode ser definida como a alteração na sequência de DNA (ácido desoxirribonucléico) original. Assim, o acúmulo de mutações em grandes períodos de tempo pode levar à variabilidade intra-espécie assim como à origem de espécies diferentes.

Os marcadores genéticos são regiões do genoma que apresentam variabilidade e possibilitam a diferenciação entre indivíduos e/ou populações. A utilização de marcadores vem auxiliando tanto no entendimento das relações evolutivas entre as populações humanas como na busca de regiões no genoma que levam ao desenvolvimento de doenças e características de interesse. Os principais tipos de marcadores genéticos atuais são os microssatélites e os polimorfismos de nucleotídeo único.

1.8.1 Microssatélite

Marcadores microssatélites ou STRPs (*short tandem repeat polymorphism*) são repetições em tandem, como (GT)_n, geralmente menores que 60 pares de base. Podem ser repetições de um único nucleotídeo ou ser bi-, tri-, tetra- ou pentanucleotídeos. Foram descritos no final da década de 80 (Weber e May, 1989) e rapidamente substituíram os RFLPs (polimorfismo de tamanho de fragmento de restrição) como marcador genético padrão para o

mapeamento de doenças monogênicas. Isso ocorreu pela maior facilidade e menor tempo necessário para a genotipagem, além de outros fatores como a abundância de microssatélites no genoma em relação aos RFLPs, o que permitiu a construção de mapas mais densos, e a sua natureza multialélica, que o torna mais informativo devido à sua maior heterozigose. Consequentemente, essas vantagens permitiram maior poder das análises de ligação (Maresso *et al.*, 2008).

Ao longo da década de 90, o número de STRPs mapeados atingiu a casa dos milhares, tornando a análise de ligação com microssatélites o método principal para identificação gênica de doenças complexas. Dessa forma diversos estudos de escaneamento de genoma total foram realizados nesse período, tanto para doenças monogênicas como para multifatoriais. Apesar do sucesso da descoberta de diversos genes para várias doenças Mendelianas, não alcançou o mesmo êxito para características complexas. Isso deveu-se a diversas razões, dentre as quais a baixa herdabilidade e a definição imprecisa do fenótipo dessas doenças e características (Hirschhorn *et al.*, 2002).

1.8.2 SNPs

Denomina-se polimorfismos de nucleotídeo único, os SNPs, a substituição de uma única base de DNA por outra ou a inserção/deleção de uma base naquela posição específica do genoma. É sinônimo de mutação de ponto e podem ser classificados em dois tipos: transição (substituições entre purinas ou entre pirimidinas) ou transversão (substituições de purinas por pirimidinas ou vice-versa). Como os efeitos de transversões são geralmente maiores devido à mudanças na estrutura química do DNA, elas são menos comuns. Os SNPs ocorrem, em média, a cada 500-1000 pares de base (pb), o que faz deles a variação mais abundante e uniformemente distribuída em todo o genoma. Dessa forma, são hoje considerados marcadores ideais para o escaneamento do genoma total e, como são em geral

bialélicos, são mais fáceis, rápidos e menos dispendiosos para estudar que os microssatélites (Maresso *et al.*, 2008). Talvez o aspecto mais importante dos SNPs em relação ao seu uso no escaneamento do genoma total é que podem ser herdados juntos em haplótipos ou blocos de desequilíbrio de ligação (Daly *et al.*, 2001; Gabriel *et al.*, 2002).

Um argumento dito sempre era que o conjunto mais denso de marcadores genéticos poderia ser mais produtivo. Esse conjunto existe hoje devido ao catálogo de milhões de SNPs e de novas plataformas de genotipagem massiva e que oferecem outra rota para o mapeamento de genes em doenças complexas (Maresso *et al.*, 2008).

Os SNPs podem ocorrer em regiões codantes e não-codantes do genoma. Entretanto, variantes em regiões codantes são menos comuns que em outras áreas do genoma devido à possibilidade de mudança deletéria no fenótipo. Por outro lado, apesar da maioria dos SNPs não ter relação com predisposição a doenças, parte dessa variação deve ser responsável por parte da variação fenotípica observada dentro e entre populações, incluindo várias doenças. Nos últimos anos, o entendimento do papel da região não-codante e intergênica do DNA aumentou sensivelmente e SNPs localizados nessas regiões receberam mais atenção. Isso porque podem também ter repercussão no fenótipo visto que essa variação pode ter efeitos em eventos epigenéticos, no processamento gênico, na ligação de fatores de transcrição, na regulação de promotores, entre outros (Maresso *et al.*, 2008).

Durante o início do século XXI, diversos grupos compararam o escaneamento total do genoma nas análises de ligação entre SNPs e STRs. Foi observado que os SNPs eram mais precisos em definir uma área como também detectam *loci* que não eram detectados com STRs, sendo hoje sugeridos como melhores nesse tipo de abordagem metodológica (Evans e Cardon, 2004; John *et al.*, 2004; Middleton *et al.*, 2004; Schaid *et al.*, 2004; Nsengimana *et al.*, 2005; Tayo *et al.*, 2005; Xing *et al.*, 2005).

2. PROPOSIÇÃO

HIPÓTESE

A maloclusão de Classe III é um distúrbio complexo com sugestão de ser derivado de mutação em pelo menos um gene sendo que esse pode ser rastreado no genoma com a utilização de amostras de famílias que portam esse distúrbio.

OBJETIVO GERAL

Buscar regiões gênicas candidatas ao desenvolvimento da maloclusão de Classe III em famílias brasileiras e colombianas.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Selecionar famílias informativas com base em heredogramas;
2. Avaliar oito marcadores do tipo SNPs localizados no braço curto do cromossomo 7 em afetados da família e não afetados não aparentados, porém pertencentes às famílias;
3. Realizar análises estatísticas de ligação utilizando genótipos e heredogramas;
4. A partir da localização de regiões candidatas, buscar genes candidatos no banco NCBI (*National Center for Biotechnology Information* – www.ncbi.nlm.nih.gov, acessado em fevereiro de 2010).

3. METODOLOGIA

3.1 Amostra

O presente projeto é parte integrante do projeto “Mapeamento genético do prognatismo mandibular”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Brasília (CEP-UnB) e pelo Comitê Nacional de ética em Pesquisa (CONEP), e parte do projeto de busca de genes envolvidos no desenvolvimento da Mo. Classe III em colaboração da *Pontificia Universidad Javeriana*, Bogotá, Colômbia, aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Colégio de Odontologia, e da *University of Kentucky* (Lexington-KY-Estados Unidos), aprovado pelo *Institutional Review Board* dessa mesma instituição. Foram obtidos consentimento para participação no projeto de todos os adultos ou guardiões legais no caso de menores.

O diagnóstico de Classe III dos probandos, baseado nos exames clínicos, fotográficos e/ou radiográficos das famílias brasileiras tiveram o diagnóstico confirmado pelo dentista Ricardo Machado Cruz durante a realização de sua tese de doutoramento (Cruz, 2006) dentro do projeto supracitado. Processo semelhante foi realizado com as famílias colombianas pela dentista Liliane Ortero da *Pontificia Universidad Javeriana*.

A seleção das famílias foi baseada na presença de pelo menos dois membros que apresentassem o fenótipo de Classe III. Os heredogramas (Figura 7 e Anexo 1) foram estendidos em entrevistas chegando a um total de 1379 indivíduos em 36 famílias, sendo destes 728 indivíduos em 14 famílias do Brasil e 651 indivíduos em 22 famílias colombianas. Os heredogramas foram desenhados usando o programa *Clinical Pedigree* (Chapman e Winnett, 2008). Amostras biológicas foram coletadas de 68 indivíduos pertencentes às famílias brasileiras e 132 às colombianas, totalizando 200 indivíduos amostrados.

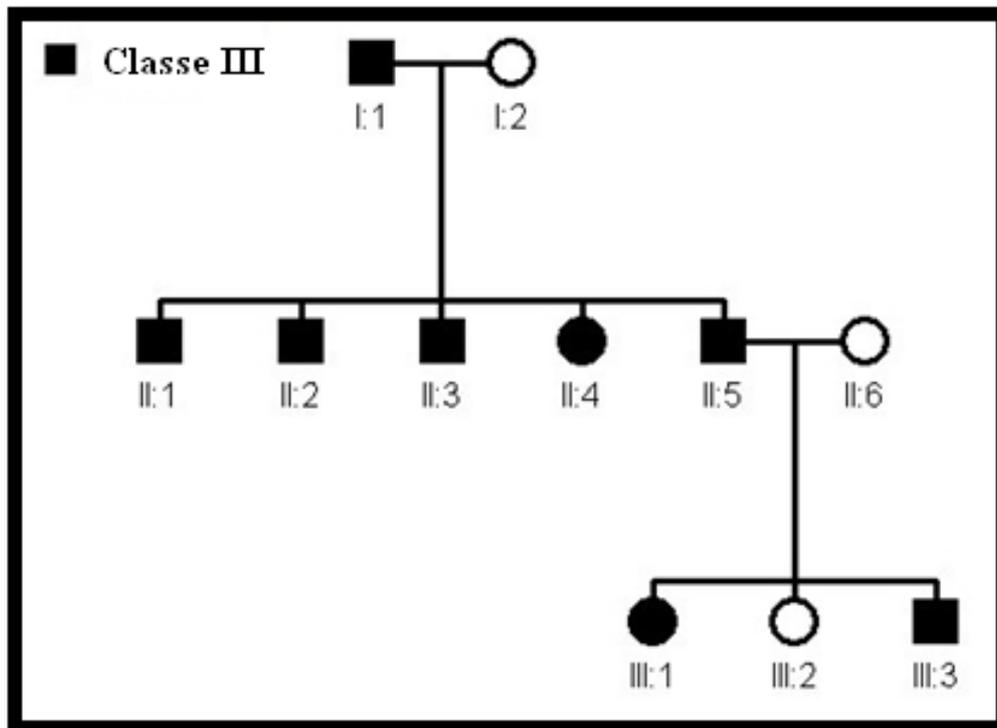


Figura 7. Heredograma de uma das famílias brasileiras onde pode ser observado o padrão de herança autossômico dominante.

3.2 Coleta do material biológico, Extração e Quantificação de DNA

O material biológico coletado foi sangue venoso ou, alternativamente, células da mucosa oral. No caso de 12 das 14 famílias brasileiras, o sangue venoso foi coletado e processado entre 2002-04, conforme descrito em (Cruz, 2006). A coleta de material das demais duas famílias foi realizada posteriormente no ano de 2009. Para a coleta de células da mucosa oral de famílias adicionais foram utilizados *swabs* para a raspagem do local, os quais foram posteriormente transferidos para um tubo contendo salina 0,9%. No Laboratório de Genética da Universidade de Brasília, o material coletado em *swab* foi centrifugado, a salina foi retirada e foi adicionado tampão glicerol 40% em citrato tripotássio (0,1M), KH_2PO_4 (0,0345M) e K^2HPO_4 (0,0344M). A extração do DNA foi realizada com a utilização do kit comercial *Illustra blood genomic Prep Mini Spin Kit*® (GE Healthcare do Brasil Ltda, São Paulo-SP, Brasil). As etapas realizadas foram as descritas no manual de instrução do produto.

Para as amostras colombianas, a extração e purificação de DNA foi realizada utilizando metodologia de *Salting out* (Miller *et al.*, 1988).

Após extração de DNA, foi realizada a quantificação das amostras utilizando o *NanoDrop®1000 Spectrophotometer* (Thermo Scientific NanoDrop products, Wilmington-DE, EUA) e diluição para concentração indicada para a genotipagem.

3.3 Transporte das amostras

Para o transporte das amostras coletadas no Brasil, foi utilizado o procedimento de secagem a vácuo utilizando o equipamento *SpeedVac®* (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham-MA, EUA), localizado no Laboratório de Toxicologia da Universidade de Brasília. Nesse procedimento, tubos de polipropileno com as amostras são centrifugados em rotação relativamente baixa (1500 rpm) durante 7-8 horas até completa evaporação do líquido e precipitação do DNA.

3.4 Seleção dos marcadores genéticos

Foram selecionados oito marcadores do tipo SNPs localizados no braço curto do cromossomo 7 humano. Para a seleção dos marcadores genéticos foi levado em consideração à frequência em populações européias, visto que não há dados para estes marcadores em populações brasileiras e que o principal contribuinte para a constituição atual da população brasileira foi o europeu (Godinho *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2008). Na Tabela 3 estão apresentadas as frequências observadas em estudos populacionais com amostras representativas de europeus e africanos constantes do HapMap. No caso da européia, os dados são referentes a um banco de amostras conhecido como CEPH (*Centre d'Etude du Polymorphisme Humain*) que são referentes a amostras coletadas de indivíduos residentes

norte-americanos com ancestralidade do norte e oeste da Europa. A amostra africana refere-se a uma população Ioruba da Nigéria.

Três desses marcadores - rs1044701, rs1299548 e rs1882600 – foram selecionados com base na observação de evidência de ligação em uma das famílias colombianas durante estudo de escaneamento total de genoma (Ortero, L. dados não publicados). A partir dos dados obtidos para esses três marcadores os demais cinco marcadores foram selecionados. Estes estão posicionados na direção q-terminal do SNP rs1882600, o que visou refinar a análise na região cromossômica próxima a este marcador que, como será apresentado em resultados, forneceu evidência de ligação. A posição cromossômica de cada marcador selecionado está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3. Posição cromossômica dos SNPs selecionados para análise e número de referência do marcador na empresa fornecedora (Applied Biosystems Inc). Frequência do alelo menos comum (AMC). Dados retirados e adaptados de www.appliedbiosystems.com, acessado em fevereiro de 2010.

dbSNP	TaqMan nº	Posição Crom.7	AMC CEPH	AMC Yoruba	Sequência do probe([VIC/FAM])
rs1044701	C_7608248_10	4.272.360	0,38 (A)	0,08 (A)	GCGGGACACGAGGACACGGGACGGC[A/G]TCTCCAGAATTGCTTGTACGTAGG
rs1299548	C_7606875_10	7.268.818	0,43 (A)	0,18 (G)	GAAGTAAGATGGATTTGTGGGAAAT[A/G]ATTTTCCTTGAGCCATTTTTCCAAAG
rs1882600	C_11167329_10	7.328.048	0,36 (G)	0,16 (T)	ATGACCGAAAACACACCCAGGGCAG[G/T]TTAGTCATGCTCGGGGCTATTGTCT
rs1294611	C_7606851_10	7.332.656	0,23 (T)	0,29 (T)	GACACCCTGTAAACAGTCCAAAAG[C/T]AAACGCAGTATTGCGAGTAGCTACT
rs9640034	C_339444_10	7.356.231	0,26 (C)	0,23 (T)	CTTAAAGAATATGGAGGGCCCTTAA[C/T]GCATTTGAAGGAGGAAAATAATTGG
rs9640038	C_30462954_10	7.371.594	0,25 (C)	0,19 (T)	CGACACCTGGAGTCCAGGGCTGCTC[C/T]GTGTAGCTGGACAAGCAGACGTGTT
rs11526212	C_31572701_10	7.394.060	0,28 (G)	0,32 (A)	AAATCAAAGACCTAAAACAAAGCT[A/G]CAGGTGTGGATTTCTCCCTACGCAG
rs7800782	C_11816434_10	7.411.519	0,36 (G)	0,00 (G)	AGTATGGTAATTTAAGATAGATTGA[C/G]GTCTGTGGAAGATTTATTCTTTCT

3.5 Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-PCR)

A RT-PCR foi realizada na *University of Kentucky Hereditary Genomics Laboratory* utilizando um termociclador do tipo *LightCycler®480 II (Roche Applied Science, Indianapolis-IN, USA)* e com *TaqMan SNP Genotyping Assays® (Applied Biosystems Inc, Foster City-CA, USA)*. O protocolo utilizado foi o do fabricante. Esse protocolo necessita de apenas três soluções sendo o DNA – na concentração de 1 a 20ng por poço –, *2X TaqMan Universal PCR Master Mix* e *20X Primer e TaqMan Probe dye mix*. Para cada poço foram adicionas 6,25µl do *Master Mix*, 0,63µl do mix de *prime/probe* e 5,7µl de DNA à 1ng/µl. Uma característica do protocolo *TaqMan* da *Applied Biosystems®* é o protocolo único para todos os marcadores, tanto nas soluções, como descrito acima, e na condições e temperaturas utilizadas no termociclador (Tabela 4). Após o término da etapa de PCR foi gerado uma análise denominada *Endpoint Genotype* onde a fluorescência emitida ao final de cada ciclo é calculada para cada poço e adicionada até o final de toda a etapa de PCR. Isso gera um gráfico mostrando a fluorescência total emitida de cada amostra, e com base na emissão de fluorescência específica para cada marcador, mostra o genótipo do indivíduo.

Tabela 4. Condições utilizadas (temperatura e tempo) de acordo com o fabricante na reação de PCR em tempo real para todos os marcadores analisados.

	Ativação da Enzima	PCR	
	AmpliTaQ Gold	Ciclo (40 ciclos)	
Etapa	Espera/Ativação	Desnaturação	Anelamento/Extensão
Tempo	10 minutos	15 segundos	1 minuto
Temperatura	95 °C	92 °C	60 °C

3.6 Análise de ligação

Previamente à análise estatística específica buscando sinais de ligação, foi realizado um controle de qualidade onde, primeiramente, os heredogramas foram verificados utilizando

o programa RELPAIR (Epstein *et al.*, 2000). Os genótipos dos parentes foram avaliados para verificar, por exemplo, se havia algum caso de não paternidade. Após a avaliação, foi definido se era necessário ou não a retirada de indivíduos não relacionados à família e/ou mudança de *status* de membros da família (em geral mudança de irmão para meio-irmão).

Análise de segregação prévia indicou um padrão de herança autossômico dominante para a Classe III, entretanto, a presença de portadores obrigatórios não afetados sugeriu um modelo com penetrância incompleta como mais indicado (Cruz *et al.*, 2008). Baseado nessa hipótese, a análise de ligação realizada foi a paramétrica para um padrão de herança autossômica dominante com um nível de penetrância de 80% e frequência populacional de 0,01 para o alelo causador. Essa frequência foi extrapolada da estimativa condicional na estrutura e genótipos das famílias. Inicialmente foram utilizados somente indivíduos afetados que é uma abordagem altamente conservativa. Em análises subsequentes, indivíduos que entraram nas famílias através de casamento e não apresentaram nenhum outro relacionamento com o heredograma foram incorporados na análise como não-afetados. Essa abordagem ainda é substancialmente mais conservativa do que utilizar informação de todos os membros do heredograma, mas consideramos razoável para uma característica que é extremamente variável, que depende de exames clínicos e apresenta penetrância incompleta. A análise realizada foi de dois pontos, avaliando os valores de LOD *score* sobre um conjunto de valores de θ usando o programa MENDEL (Lange *et al.*, 2001) devido a sua capacidade de interpretar sobreposição de casamentos (casamentos entre primos, entre indivíduos de duas gerações diferentes da família).

3.7 Busca de genes candidatos

Após interpretação das análises de ligação, utilizamos o banco de dados da NCBI (*National Center for Biotechnology Information* – www.ncbi.nlm.nih.gov, acessado em

fevereiro de 2010) para a busca de genes candidatos localizados na região obtida. Com base na lista de genes localizados nessa região (Anexo 2) e com base na interpretação da (s) função (ões) de cada um, foram propostos genes candidatos e possíveis mecanismos biológicos pelos quais podem estar atuando no desenvolvimento da maloclusão de Classe III.

4. RESULTADOS

Os três genótipos possíveis esperados para cada marcador aqui analisados, que são bialélicos, foram observados nas famílias em análise. Na Figura 8 (A-H) estão apresentados os perfis obtidos da análise da RT-PCR para as famílias brasileiras e colombianas para cada um dos marcadores genéticos.

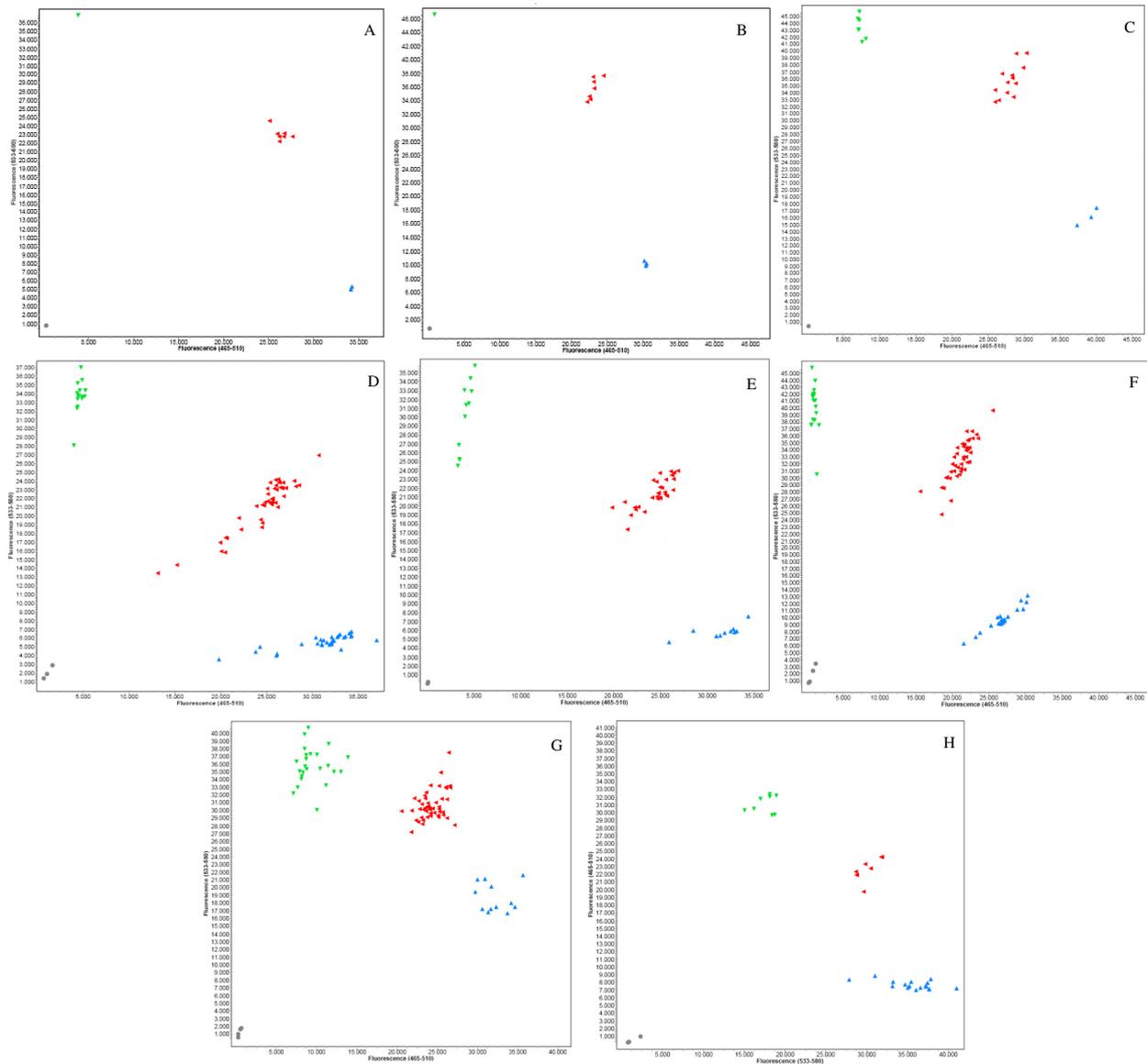


Figura 8. Distribuição dos genótipos dos marcadores genéticos rs1044701 (A), rs1299548 (B); rs1882600 (C), rs1294611 (D); rs9640034 (E); rs9640038 (F); rs11526212 (G) e rs7800782 (H) evidenciando os três genótipos possíveis: verde e azul - indivíduos homocigotos; vermelho - indivíduos heterocigotos. A cor cinza é o controle negativo da reação.

A Tabela 5 mostra os valores de LOD *score* obtidos com a análise de ligação paramétrica com a avaliação de oito marcadores do tipo SNP em 14 famílias brasileiras e 22 colombianas que apresentam maloclusão de Classe III. A Figura 9 mostra o perfil dos valores de LOD *score* obtido com os diversos valores de fração de recombinação, que varia de 0 (ligação completa) a 50% (segregação independente). Observa-se que o LOD *score* máximo estimado para o SNP rs1882600 foi de 2,36, o que sugere evidência de ligação. Já para o marcador rs1299548, apesar de ter sido observado o LOD *score* de -3.50 quando $\theta=0$, apresentou uma curva onde o valor máximo do LOD *score* encontra-se entre $\theta=0$ e 0,5 – assim como o marcador rs1882600 –, o que sugere evidência de ligação, porém também sugere evidência concreta contra a hipótese de $\theta=0$, ou seja, o *locus* do marcador não pode ser o próprio *locus* de susceptibilidade (Tabela 5, Figura 9). Já o marcador rs1044701 apresentou evidência clara de exclusão apresentando LOD *score* de -5.96 quando $\theta=0$ (Tabela 5, Figura 9). Dessa forma, a região de ligação observada no SNP rs1882600 deve estender-se na direção q-terminal numa região ainda não delimitada e na direção p-terminal até o limite do SNP rs1044701. Assim, se fez necessária a análise de marcadores posicionados na direção q-terminal do SNP rs1882600 para restringir a área genômica co-segregando com Classe III.

Com essas informações, cinco marcadores adicionais do tipo SNP – rs1294611, rs9640034, rs9640038, rs11526212 e rs7800782 – foram genotipados para todos os indivíduos de todas as famílias do Brasil e Colômbia. Através da análise de ligação, os SNPs rs1294611, rs9640034, rs9640038 e rs11526212 obtiveram valores de LOD *score* inconclusivos, onde não foi observado nem sinal de ligação e nem sinal de exclusão (Tabela 5, Figura 9). Porém, o marcador rs7800782 – o mais distante na direção q-terminal, localizado a 83.471 pares de bases do SNP rs1882600 – apresentou um LOD *score* de -5,34 quando $\theta=0$, o que evidência sinal de exclusão (Tabela 5, Figura 9).

Com esses dados e desconsiderando a fração de recombinação, foi possível propor que na região cromossômica, de aproximadamente três milhões de pares de bases, delimitada pelo SNP rs1044701 na direção p-terminal e pelo SNP rs7800782 na direção q-terminal existe algum gene envolvido no desenvolvimento da maloclusão de Classe III nestas famílias brasileiras e colombianas. A Figura 10 mostra o cromossomo 7 com as posições dos marcadores genéticos e com destaque para essa região com evidência de ligação.

Ao se levar em consideração a fração de recombinação, podemos observar que o marcador rs1044701 apresentou uma área de exclusão de 5 cM para ambas as direções. O marcador rs1299548 apresentou uma área de exclusão de 1 cM para ambas as direções, mas também apresentou um valor de LOD score positivo e maior de +1 quando θ foi 0,20 e 0,30, sugerindo ligação com a doença numa região distante (20 à 30 cM), mas também providenciando evidência significativa de exclusão para esse *locus*. O marcador rs1882600 apresentou um valor de LOD score máximo no $\theta=0,10$, ou seja, que existe uma fração de recombinação de 10% entre esse marcador e o *locus* da característica. Utilizando uma regra simples para o Intervalo de Confiança (diminuindo 1 do valor máximo do LOD e observando onde, aproximadamente, nos valores de fração de recombinação esses valores se encontrariam (Thomas, 2004)), a região onde estaria localizado esse gene seria de aproximadamente 0 à 30 cM desse marcador. Os marcadores rs1294611, rs9640034, rs9640038 e rs11526212 obtiveram a mesma resposta que na interpretação relatada acima. O marcador rs7800782 apresentou uma área de exclusão de 5 cM para ambas as direções.

Tabela 5. Valores de LOD *score* obtidos com a análise de oito marcadores do tipo SNP em 14 famílias brasileiras e 22 colombianas com ocorrência de maloclusão de Classe III relativos às frações de recombinação, θ , de 0 a 50% e valor máximo observado.

Marcador	Valores de θ									
	Máx.	0,00	0,01	0,05	0,10	0,15	0,20	0,30	0,40	0,50
rs1044701	0,34	-5,96	-4,71	-2,30	-1,00	-0,31	0,07	0,34	0,19	0,00
rs1299548	1,09	-3,50	-2,51	-0,62	0,39	0,88	1,09	1,01	0,53	0,00
rs1882600	2,36	1,31	1,57	2,15	2,36	2,30	2,09	1,41	0,60	0,00
rs1294611	0,01	-1,43	-1,31	-0,94	-0,59	-0,34	-0,17	-0,02	0,01	0,00
rs9640034	0,31	-0,07	-0,02	0,09	0,22	0,30	0,31	0,23	0,09	0,00
rs9640038	0,09	-1,41	-1,31	-0,95	-0,55	-0,24	-0,05	0,09	0,06	0,00
rs11526212	0,39	-0,70	-0,61	-0,23	0,14	0,30	0,39	0,32	0,15	0,00
rs7800782	0,14	-5,34	-4,34	-2,38	-1,24	-0,60	-0,22	0,12	0,14	0,00

LOD scores

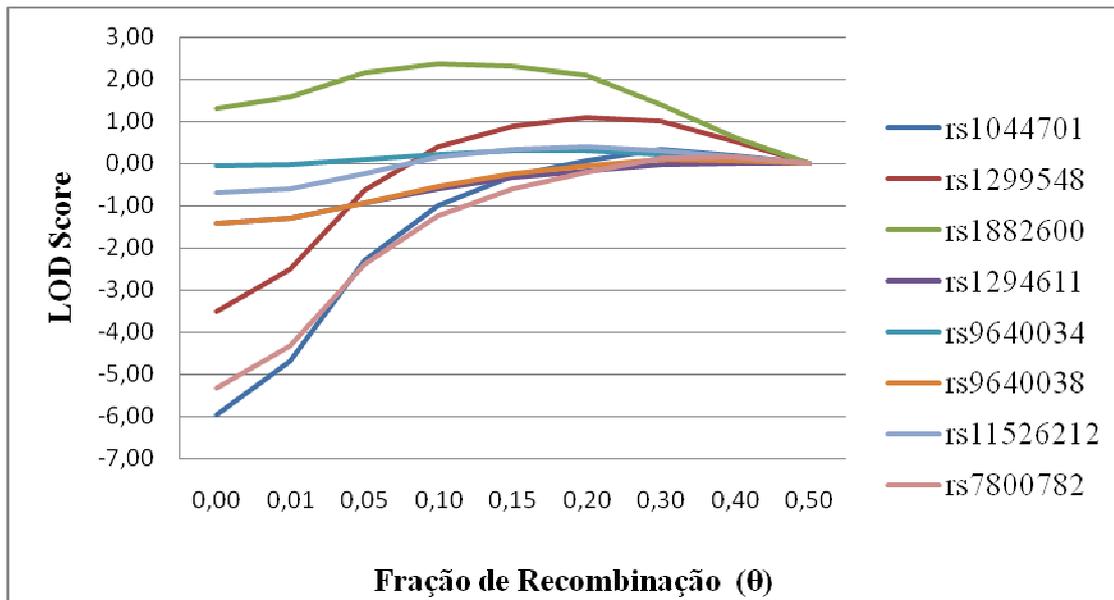


Figura 9. Valores de LOD Score (eixo Y) pela Fração de Recombinação (eixo X) para cada marcador em todas as famílias.

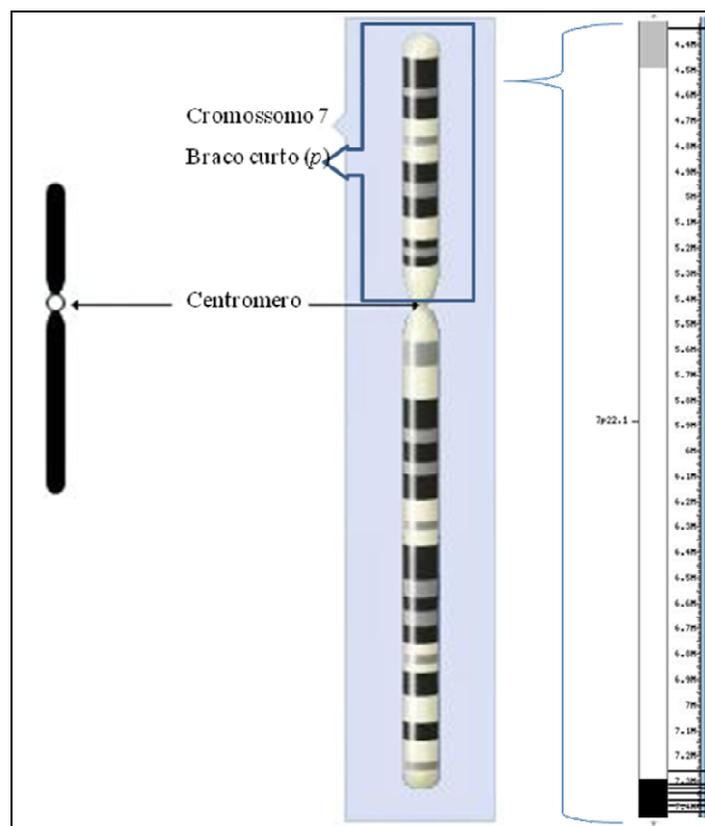


Figura 10. Cromossomo 7 humano mostrando as posições dos marcadores genéticos e destacando a região com evidência de ligação para a maloclusão de Classe III.

5. DISCUSSÃO

As populações latino-americanas, como a brasileira e a colombiana, foram formadas principalmente por uma mistura entre africanos, europeus e ameríndios, sendo que a principal contribuição parental genética para essas populações atuais foi européia (Godinho *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2008). O componente asiático é muito recente e praticamente não teve impacto na constituição genética pela forma de organização dessas populações com formações de colônias asiáticas e baixo grau de miscigenação (casamento) com a população nativa.

Devido a essa maior heterogeneidade encontrada no Brasil e Colômbia, é esperado que seja possível investigar/buscar o máximo de genes relacionados a características complexas, como a Classe III, que em populações não-miscigenadas. Dessa forma, não é de se estranhar encontrar regiões genômicas diferentes das descritas anteriormente que levam ao desenvolvimento da Classe III. Ou seja, os genes que levam ao desenvolvimento desta característica estão relacionados com a composição genética “ancestral” da população. Assim, ao apresentar um novo cromossomo com evidência de ligação para o desenvolvimento de Classe III nossos dados corroboram que a origem populacional está intimamente relacionada aos genes e regiões genômicas causadores dessa característica.

Considera-se que os principais e mais importantes pré-requisitos para se ter sucesso em um mapeamento de ligação é um conjunto de famílias onde é observada a segregação da característica a ser analisada, como também a avaliação correta dessa característica (Thomas, 2004; Ziegler e König, 2006; Rao, 2008). Isso porque a determinação de ligação é fundamentalmente um processo estatístico e incertezas introduzidas pela dificuldade acerca do status dos indivíduos podem levar a distúrbios nos resultados ou mesmo obscurecer completamente o sinal de ligação. Dessa maneira, erros de diagnóstico, penetrância incompleta ou presença de fenocópias podem acarretar na falha na análise de ligação, mesmo quando o número amostral é alto. Isso é especialmente real quando resultam na inclusão de

indivíduos sem a característica do grupo em questão ou com doença diferente (Rao e Gu, 2001; Botstein e Risch, 2003). Assim, nossas amostras foram selecionadas de famílias onde existia a comprovação de segregação de Classe III e com a análise dos casos afetados por especialistas da área para que o mínimo de erro fosse introduzido.

A escolha do método de análise (paramétrico ou não-paramétrico) está associada ao desenho do estudo, ou seja, as suposições sobre a melhor maneira de se mapear genes para a característica em questão. A chave para decidir entre análises paramétricas ou não-paramétricas é a análise de segregação. Assim, ao se encontrarem evidências da presença de um gene principal, e se este está atuando de forma mendeliana, a análise de ligação paramétrica tem maiores chances de encontrar tal ligação. Enquanto que análises de ligação não-paramétricas, como a realizada nas famílias japonesas e coreanas (Yamaguchi *et al.*, 2005) são mais eficientes quando sabe-se da existência de uma contribuição genética, mas os conhecimentos acerca desta sejam limitados. Desta maneira, utilizamos a análise de ligação paramétrica, pois tínhamos evidências prévias de que existe um gene principal ao menos para famílias brasileiras (Cruz *et al.*, 2008), associado à observação de que o padrão de herança (autossômica dominante com penetrância incompleta) em nossas famílias era constante, tendo maior chance de encontrar ligação.

É relevante ainda comentar que ao se estudar características ou doenças complexas existem alguns problemas que devem ser levados em consideração. O primeiro, e provavelmente o mais comum, é a variabilidade na penetrância da característica, ou seja, existem indivíduos que possuem o alelo “causador” da doença/característica, mas não a manifestam. Dessa forma, podemos caracterizar erroneamente o indivíduo e, assim, diminuir a chance de encontrar a ligação que de fato existe. Por esse motivo, indivíduos onde não era possível admitir com certeza que não eram afetados – por exemplo, filhos (as) de indivíduos afetados, diagnosticados como não afetados, e que não possuíam filhos – foram excluídos das

análises. Outro problema que pode aparecer é a fenocópia, onde o indivíduo, apesar de apresentar a característica não possui o alelo específico. Porém, ao se utilizarem famílias grandes com vários casos como no presente estudo, essa probabilidade de encontro de fenocópias diminui substancialmente – considerando que a maior contribuição dessa característica seja genética e não ambiental. À não consideração desses possíveis problemas, podemos acabar inflando o erro do tipo I, onde poderíamos excluir uma região de ligação onde de fato existe uma ligação.

O fracasso de replicação dos estudos de ligação para Classe III pode ter várias explicações como: o estudo original ser um falso positivo, a amostra de replicação não teve poder suficiente (falso negativo), o estudo de replicação foi baseado em população diferente. Pode haver heterogeneidade de *locus* ou pode ser uma consequência estatística de se tentar mapear vários genes envolvidos em uma característica poligênica (Rao e Gu, 2001). Uma maneira de resolver esse problema em doenças e características complexas é a meta-análise onde seria utilizado um banco de resultados prévios (Rao e Gu, 2001; Dawn Teare e Barrett, 2005; Rao, 2008). Entretanto, tal análise há de funcionar quando os estudos são feitos sob condições homogêneas, quando as análises estatísticas são similares e quando os fenótipos são medidos com o mesmo critério (Rao e Gu, 2001). Ou seja, no caso específico de Classe III, que é uma característica quantitativa, seria necessária uma definição de um limiar a ser utilizado por todos. Porém, se tal limiar for inapropriado pode resultar numa perda de eficácia dos estudos (Dawn Teare e Barrett, 2005).

Do ponto de visto evolutivo, há um grande debate ainda sobre o impacto da pressão seletiva, especialmente o clima, e a deriva genética na modelagem do crânio humano moderno. Efeito significativo da seleção natural foi estimado para determinadas características craniais (Harvati e Weaver, 2006), enquanto para outras não foi observado (Cramon-Taubadel, 2009). Essa diferença é notável quando se comparam os traços fenotípicos

utilizados em cada estudo. Efeitos de pressão seletiva foram evidenciados com relação a medidas de tamanho, enquanto esse efeito não foi observado com relação à forma. Porém, outros estudos vêm demonstrando que os efeitos de pressão seletiva podem ser, na verdade, devido a não consideração de efeitos de deriva genética e distância populacional, sendo que apenas em regiões de temperaturas extremamente baixas essa pressão seletiva teria ocorrido (Betti *et al.*, 2009; Betti *et al.*, 2010). Dessa forma, é possível, talvez provável, que a região observada no presente estudo e as diferentes regiões genômicas relatadas como estando relacionadas à Mo. Classe III possam ser consequências de efeito de deriva genética nas populações ancestrais que povoaram os continentes.

A diferença observada nos valores de LOD *score* para os marcadores rs1299548 e rs1882600 pode ser devido às diferenças de frequência alélica entre esses marcadores. Essa diferença pode ter um efeito importante na inferência de genótipos possíveis para indivíduos não genotipados nas gerações anteriores e dessa maneira influenciar no valor de LOD *score* (Ziegler e König, 2006), o que poderia explicar o padrão encontrado.

Ao se compararem as duas formas de interpretar os dados podemos notar que a grande diferença está principalmente na região ao redor dos marcadores. Se, de fato, os valores de fração de recombinação não devem ser levados em conta, podemos então propor que definimos a área genômica no cromossomo 7 onde estão presente o(s) gene(s) que levam ao desenvolvimento da Mo. Classe III. Por outro lado, se a fração de recombinação for levada em consideração podemos ver que a região no cromossomo 7 pode chegar a ser 30 cM – provavelmente na direção q-terminal – de distância do marcador rs1882600, ampliando a área genômica e sendo necessário mais marcadores para a averiguação região. Essa região deve ser na direção q-terminal, pois o marcador rs1044701 tem uma região de exclusão de 5 cM em ambas as direções, o que praticamente cobre toda a região p-terminal se levarmos em conta

que 1 cM ~ 0,88 milhões de pares de base. Porém, sem outros estudos não é possível excluir toda essa região.

5.1 Classe III é uma característica heterogênea, genética e fenotipicamente

Uma característica presente na Maloclusão de Classe III é a heterogeneidade, tanto genética como fenotípica. Dessa forma, já foi sugerida a divisão em sub-fenótipos que seriam então admitidos como provenientes do mesmo componente genético o que, conseqüentemente, poderia levar a um aumento do poder da análise de ligação (Bui *et al.*, 2006). Esse talvez seja um dos motivos da diferença dos valores de LOD *score* encontrados para a família colombiana anteriormente, especialmente para o marcador rs1044701. Porém, tal divisão em subgrupos distintos pode acabar tendo conseqüências posteriores, especialmente, na extrapolação dos dados de um subgrupo específico encontrado em uma ou algumas poucas famílias para a população em geral. Uma solução mais atraente é a análise de escaneamento de genoma total em todas as famílias que pode acabar revelando outras regiões que são mais influentes nelas, mas tal procedimento demanda um custo muito maior monetariamente e também implica em maior dificuldade estatística. Tal análise poderá ser realizada no futuro.

Nossos resultados suportam a hipótese de que a Classe III é uma característica heterogênea e apresenta uma nova região cromossômica com evidência de ligação. Outro fator que sugere essa heterogeneidade de *locus* é que dois marcadores – rs1044701 e rs1299548 – que apresentaram evidência de ligação (LOD *score* máximo > 1,8, Ortero, L. dados não publicados) para Classe III em uma única grande família colombiana obtiveram evidência de exclusão quando analisados para todas as famílias. Dessa maneira, essa nova evidência vem para suportar que o crescimento e desenvolvimento dessa característica e, provavelmente, da própria mandíbula como um todo, é complexo, envolvendo diversos genes

cada um tendo um papel diferente, atuando em períodos diferentes e com magnitudes diferentes. Além dessa variabilidade genética afetando o desenvolvimento dessa característica, existem evidências e sugestões de que o ambiente também tem o seu papel (Mossey, 1999; Singh, 1999).

Uma forma de buscar solucionar o problema da heterogeneidade de *locus* é a análise dos valores de LOD *score* para cada família separadamente e, dessa forma, selecionar aquelas que apresentem valores positivos para maiores análises e excluir as demais. Mas, para tal procedimento são necessários dois fatores: um grande número de famílias e que o efeito do gene em questão seja relativamente forte, como no caso de doenças monogênicas. O nosso número de famílias, apesar de alto quando comparado com a maioria dos estudos recentes envolvendo a Mo. Classe III, é pequeno quando comparado a estudos que utilizaram esse procedimento.

Suporte adicional para a idéia de poligenia adveio de outras análises de ligação. Para um conjunto de famílias japonesas e coreanas foi observado sinal de ligação para os cromossomos 1, 6 e 19. Entretanto, evidência de ligação para o cromossomo 4 foi observada apenas nas famílias coreanas, enquanto que nas japonesas, os resultados apontaram evidência de ligação para os cromossomos 9 e 10 (Yamaguchi *et al.*, 2005). Em estudo com quatro famílias colombianas foi observada evidência de ligação para os cromossomos 1, 3, 11 e 12 (Frazier-Bowers *et al.*, 2009). Estudo de genes candidatos em dez famílias brasileiras não apresentou sinal de ligação para os cromossomos 1, 4, 6, 7, 10 e 19 (Cruz, 2006). Em estudo prévio do nosso projeto, utilizando uma única grande família colombiana (40 indivíduos) não foi encontrada nenhuma destas evidências e sim sinal para o cromossomo 7 (Ortero, L, dados não publicados). Porém, na nossa análise utilizando famílias colombianas e brasileiras foi observado sinal de ligação no cromossomo 7 em regiões distintas da testada inicialmente. O mais provável, portanto, é que essas discrepâncias devam ter sido causadas pela

heterogeneidade genética entre as populações e amostras, apesar de que erros devido ao tamanho reduzido das amostras também possam ser a explicação.

Uma das formas da doença de Charcot-Marie-Tooth, a tipo 2D, teve seu mapeamento genético e físico em uma região no cromossomo humano 7p. Após maiores estudos foram encontradas quatro mutações do tipo substituição não sinônima no gene do glicil tRNA sintetase em famílias portando essa doença. Esse foi o primeiro relato de um gene de tRNA sintetase implicado em doenças genéticas humanas (Antonellis *et al.*, 2003). Uma característica importante dessa doença é sua heterogeneidade genética, tendo sido descritos padrões de herança autossômico recessivo, dominante e ligado ao X e mais de 10 genes responsáveis pelas suas diferentes formas (Kochanski, 2006).

5.2 Estudos em modelos animais

Estudos em camundongos foi observado que QTLs (*Quantitative Trait Loci*) que levam ao desenvolvimento dos dentes também parecem estar envolvidos com o desenvolvimento da mandíbula (Cheverud, 2000; Klingenberg *et al.*, 2001; Workman *et al.*, 2002). Tal resultado não é totalmente inesperado, pois a maior parte dos genes que influenciam o desenvolvimento dental o faz através de interações fisiológicas entre o tecido ósseo e o mesenquima dentário que dará origem ao dente (Workman *et al.*, 2002).

A definição do tamanho da mandíbula de camundongos também foi relacionada à QTLs encontrados no cromossomo 10 e 11, que correspondem aos cromossomos humanos 12q e 2p, respectivamente. Porém, o tamanho mandibular não está restrito apenas a essas regiões, pois outros picos mais fracos foram encontrados para outras regiões de distintos cromossomos (Dohmoto *et al.*, 2002). Em estudo similar buscando identificar QTLs afetando o tamanho e a forma da mandíbula, foi observado que dois *loci* no cromossomo 5 e um no cromossomo 15 são especialmente importantes. A maior parte do cromossomo 5 de camundongos tem correspondência com o cromossomo 7 humano e aparentemente um desses

loci está localizado em 7p, local onde observamos evidência de ligação no presente trabalho. Esse *loci* aparentemente está relacionado com o tamanho e comprimento da mandíbula (Suto, 2009).

A análise da expressão gênica da mandíbula pós-natal em camundongos revelou um grande número de genes relacionados a receptores celulares que tiveram sua expressão diminuída. Entre estes está o gene *platelet-derived growth factor alpha (PDGFA)*, localizado em 7p22 humano – o que nos levou a considerá-lo um dos genes candidatos a Classe III. Esse gene tem, dentre as diversas funções relatadas, atividade de fator de crescimento, ligante ao colágeno e regulação positiva da replicação do DNA (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>, acessado em fevereiro de 2010). Além desse gene, diversos outros foram observados e possuem funções como: formação óssea, diferenciação dos osteoblastos e regulação neural que podem estar refletindo os eventos moleculares que estão acontecendo no tecido mandibular durante o seu desenvolvimento, o que inclui o sistema nervoso (Oshikawa *et al.*, 2004).

Outro fato bem interessante é que em um dos estudos foi observado que o gene *colágeno IAI* parece estar atuando tanto na forma do dente como da mandíbula de camundongos (Tsutsui *et al.*, 2008). Em humanos, foi observada evidência de ligação em uma região próxima ao gene de colágeno II em famílias colombianas (Frazier-Bowers *et al.*, 2009) e em nosso estudo o gene colágeno XXVIII está sendo proposto como um gene candidato. Dessa forma, apesar de Classe III ser uma característica complexa e os genes possivelmente distribuídos em diferentes cromossomos, uma possível via metabólica pode estar se revelando, onde os genes produtores de colágeno aparentemente podem ter um papel importante no desenvolvimento craniofacial.

5.3 Propostas de genes candidatos

Partindo da hipótese de que a fração de recombinação não deve ser considerada, foi delimitada uma região de aproximadamente três milhões de pares de base, delimitada pelos SNPs rs1044701 e rs7800782, compreendendo 65 seqüências gênicas. Destas, 43 são genes funcionais, 10 pseudogenes e 12 *loci* hipotéticos (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, acessado em fevereiro de 2010). A lista total desses genes com suas funções e características conhecidas encontra-se no Anexo 2. Entre esses genes podemos destacar os seguintes *FO XK1* (*forkhead Box K1*), *RADIL* (*Ras association and DIL domains*), *RBaK* (*Retinoblastoma-associated KRAB zinc finger*), *ACTB* (*Actina Beta*), *EIF2AK1* (*Eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 1*), *RAC1* (*Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1*), *ZNF12* (*Zinc finger protein 12*) e *COL28A1* (*Collagen alpha-1(XXVIII)*) como genes candidatos ao desenvolvimento da Classe III. Se levar em consideração a hipótese de que a fração de recombinação é válida, a região pode chegar a cobrir 30 cM de distância aumentando consideravelmente o número de genes incluindo os candidatos. Entre outros genes que podemos incluir estariam: *CARD11* (*caspase recruitment domain family, member 11*), *PDGFA* (descrito anteriormente) e *IL6* (*interleucina 6; interferon beta-2*).

O gene *FO XK1* é uma proteína da família FOX onde existe um domínio de ligação ao DNA de, aproximadamente, 100 resíduos de aminoácidos (Kato e Kato, 2004). Além desse domínio característico, o *FO XK1* apresenta o domínio FHA (domínio *Forkhead associated*) que pode atuar como ativador transcricional pelo recrutamento dependente de fosforilação do co-ativador *Ndd1p* em outras proteínas (Darieva *et al.*, 2003; Reynolds *et al.*, 2003). Em relação à sua função, foi observado que pode atuar como fator de transcrição regulado positivamente em miócitos em diferenciação e em músculos sujeitos a estímulos nervosos em adultos (Bassel-Duby *et al.*, 1994). Pode também funcionar como repressor de transcrição seja independentemente (Yang *et al.*, 1997), interagindo com a proteína *SIN3B* (*SIN3 homolog B*,

transcription regulator), e formando um complexo de repressão (Yang *et al.*, 2000), ou ainda se ligando ao fator de transcrição *SRF* (*Serum response factor*) quando esta está ligada ao promotor de genes reprimindo sua ação (Freddie *et al.*, 2007). Dessa forma, considerando a função de regulador de transcrição, consideramos que *FOXK1* é um gene candidato ao desenvolvimento da Classe III.

O gene *RADIL* codifica uma proteína de 1075 aminoácidos com três domínios: RA, presente em proteínas da rota metabólica da Ras e Rap – conhecidas vias de transdução de sinais; DIL, sem função conhecida, mas está presente em várias proteínas associadas ao citoesqueleto; e PDZ, uma conhecida plataforma de interação proteína–proteína. Em relação a sua função, foi observado que tem uma função importante na adesão e na migração celular das células da crista neural. Quando este gene apresenta-se defeituoso foi observado defeitos na cartilagem craniofacial, em neurônios, ganglia cranial, células glia da linha lateral, entre outros (Smolen *et al.*, 2007). Dessa maneira, uma mutação neste gene pode levar a defeitos em tecidos com origem na crista neural incluindo o complexo craniofacial.

O gene *RBaK* é um membro da família de repressores de transcrição *KRAB* (*Kruppel-associated Box*). Ele codifica uma proteína de 714 aminoácidos com um domínio KRAB e 16 domínios dedos de zinco do tipo Kruppel que são, em geral, regiões de ligação ao DNA (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=Rbak>, acessado em fevereiro de 2010). Funcionalmente, foi observado que a proteína *RBaK* se liga a proteína *RB* (Retinoblastoma), uma proteína chave na supressão de tumor pela supressão dos genes ativados pelo membros da família *E2F*. Foi observado que tanto *RB* e *RBaK* expressos ectopicamente funcionam como repressores de transcrição e tem efeitos similares na síntese de DNA e na expressão de um promotor dependente de *E2F* (Skapek *et al.*, 2000). Observou-se ainda que o *RBaK* se liga ao receptor de andrógeno (*AR*) independente do *RB* e funciona como co-ativador na regulação do ciclo celular em diversas células e tecidos (Hofman *et al.*, 2003), além de ter sido também

sugerida sua participação na diferenciação das células CD34 hematopoiéticas (Gomes *et al.*, 2002). Dessa forma, o *RBaK* pode exercer funções tanto na ativação como na repressão da expressão gênica. A possibilidade da interação com hormônios produzidos durante a puberdade pode influenciar, ou até mesmo direcionar, o desenvolvimento da mandíbula e levar ao fenótipo de Classe III.

O gene *ACTB* codifica uma proteína de 103 aminoácidos sendo um dos seis diferentes tipos de actinas que são altamente conservadas evolutivamente. Essa proteína é uma das duas actinas não musculares e é um dos principais constituintes do aparato de contração. Em relação a sua função, a actina beta modula a migração celular durante a embriogênese, diferenciação e, possivelmente, carcinogênese (Dugina *et al.*, 2009). Uma mutação do tipo substituição não sinônima em gene de actinas não musculares está relacionada com malformações, perda de audição e/ou anormalidades neurológicas, como distonia tardia (Procaccio *et al.*, 2006). Assim, mutações de menor impacto podem levar a uma grande migração celular para a região mandibular e, dessa forma, estar relacionadas com o crescimento exagerado.

O gene *EIF2AK1* codifica uma proteína de 630 aminoácidos possuindo dois motivos HRM (*Hormone Receptor Domain*) e um domínio de proteína quinase. Essa proteína media a regulação negativa de síntese protéica em resposta a várias condições de estresse e na regulação negativa da tradução iniciada por ferro e que é capaz de responder a estímulos externos e ao estresse. Além disso, também apresenta função de iniciador de tradução (Shao *et al.*, 2001). Essa regulação negativa pode levar à parada de produção de proteínas que sejam necessárias para cessar o crescimento mandibular e dessa forma levar ao desenvolvimento da Classe III.

O gene *RAC1* codifica uma proteína de 192 aminoácidos pertencente à superfamília RAS, descrita no gene *RADIL*, de proteínas ligantes ao GTP. Essa proteína está presente na

membrana plasmática e quando ligada ao GTP está na sua forma ativa. Nesse estado, foi demonstrado que pode se ligar a uma variedade de proteínas efetoras que regulam respostas celulares como processos de secreção, fagocitose de células apoptóticas, polarização de células epiteliais e pelo enrugamento da membrana por indução do fator de crescimento (Ridley *et al.*, 1992). Além disso, os membros dessa família também regulam o controle do crescimento celular, reorganização citoesquelética e ativação de proteínas quinases (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, acessado em fevereiro de 2010). Dessa maneira, essa proteína pode estar agindo em várias vias metabólicas que podem participar na definição do fenótipo de Classe III.

O gene *ZNF12* codifica uma proteína de 501 aminoácidos que possui um domínio KRAB e oito dedos de zinco do tipo Kruppel, o que é similar ao descrito para o gene *RBaK* explicado anteriormente. Foi relatado que essa proteína possui a função de inativação de transcrição iniciada por *AP-1* (*Activator Protein 1*) e *SRS* (*SAG1-related sequences*) e, dessa forma, seria um repressor de transcrição na via MAPK de sinais para mediar funções celulares (Zhao *et al.*, 2006). Assim, essa proteína pode estar regulando negativamente genes necessários para cessar o crescimento mandibular e/ou inibindo o crescimento maxilar, o que teria como conseqüências o desenvolvimento do fenótipo de Classe III.

O gene *COL28A1* codifica uma proteína de 1125 aminoácidos que possui dois domínios VWA (*von Willebrand factor A*), seis domínios semelhantes ao colágeno (*collagen-like*) e um domínio BPTI/Kunitz (*Kunitz/bovine pancreatic trypsin inhibitor*). Essa proteína foi descrita em 2006 (Veit *et al.*, 2006) e sua função ainda não é conhecida. Pensa-se que esta deve atuar como uma proteína de ligação celular (<http://www.uniprot.org>, acessado em fevereiro de 2010). Porém, como dito anteriormente, um estudo em camundongos apontou o colágeno do tipo I (Tsutsui *et al.*, 2008) e um estudo com famílias colombianas apontou o colágeno do tipo II (Frazier-Bowers *et al.*, 2009) como possíveis genes candidatos. Dessa

forma, encontrar um gene de colágeno nessa região é extremamente interessante e podemos começar a pensar que o desenvolvimento da mandíbula está relacionado e é dependente da família do colágeno. Mas como essa família interage ainda é uma pergunta a ser respondida.

O gene *CARD11* codifica uma proteína de 1154 aminoácidos que apresenta três domínios: um domínio CARD (*Caspase recruitment domains*), um domínio semelhante à guanilato quinase e um domínio PDZ, descrita no gene *RADIL*. Em relação a sua função, já foi relatada que está envolvida, e é essencial, como co-estimulador na ativação de células T mediada por receptores celulares (Ohnuma *et al.*, 2007). Além disso, foi observado que mutantes para esse gene não conseguem interagir com a proteína *BCL10* (*B-cell CLL/lymphoma*) e, em consequência, perdem atividade de transcrição do fator NF-kappaB e da produção de citocinas. Esse gene quando expresso nas células ativa NF-kappaB e induz a fosforilação de BCL10 (<http://www.uniprot.org>, acessado em fevereiro de 2010). Assim, essa proteína pode interagir de forma indireta na produção ou na repressão de genes que possam estar relacionados com o desenvolvimento do fenótipo de Classe III.

O gene *IL6* codifica uma citocina de 212 aminoácidos com diversas funções biológicas. Entre essas funções foi observado que é um potente indutor da resposta aguda da inflamação, tem um papel essencial na diferenciação das células B (Hirano *et al.*, 1986), está envolvida na diferenciação de linfócitos e monócitos, induz crescimento do mieloma e plasmacitoma e diferenciação das células nervosas, entre outras (<http://www.uniprot.org/uniprot/P05231>, acessado em fevereiro de 2010). Além disso, está relacionado com a regulação negativa de proliferação celular (Zilberstein *et al.*, 1986) e na regulação positiva da diferenciação de osteoblasto (Dodds *et al.*, 1994). Dessa forma, esse gene pode estar relacionado o fenótipo de Classe III através de vias metabólicas diferentes, tanto em papéis essenciais como em secundários ativando ou inibindo genes.

5.4 Considerações finais

O conhecimento acerca dos genes envolvidos no desenvolvimento da Classe III e, conseqüentemente, do complexo mandíbula/maxila pode contribuir para o melhor entendimento em diversas áreas da biologia. Por exemplo, uma das principais características na evolução humana é a observação da diminuição da mandíbula, ou seja, ao se conhecerem os genes que levam ao seu desenvolvimento podemos estudar como ocorreu a seleção destes durante nosso processo evolutivo. Outra área que poderia se beneficiar desse conhecimento é a genética forense, que vem buscando, nos últimos anos, genes que estão relacionados com o fenótipo e aparência para que ao se coletar uma amostra uma estimativa de como o indivíduo é possa ser realizada. E ainda, o conhecimento acerca de como é o desenvolvimento desse complexo pode ajudar a entender diversas alterações craniofaciais e doenças.

5.5 Conclusões

- A análise de ligação mostrou evidencia de ligação que permitiu a indicação de uma região de aproximadamente três milhões de pares de base situada no 7p humano;
- Se considerar a fração de recombinação, essa região aumenta podendo chegar a 30cM;
- A heterogeneidade de *locus* foi confirmada pelo encontro de região cromossômica com evidencia de ligação distinta de relatos prévios.
- Uma serie de 11 genes candidatos foram propostos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGLE, E. CLASSIFICATION OF MALOCCLUSION. THE DENTAL COSMOS, v.41, n.3, p.248-264. 1899.
- ANTONELLIS, A., R. E. ELLSWORTH, N. SAMBUUGHIN, I. PULS, A. ABEL, S.-Q. LEE-LIN, A. JORDANOVA, I. KREMENSKY, K. CHRISTODOULOU, L. T. MIDDLETON, K. SIVAKUMAR, V. IONASESCU, B. FUNALOT, J. M. VANCE, L. G. GOLDFARB, K. H. FISCHBECK E E. D. GREEN. GLYCYL tRNA SYNTHETASE MUTATIONS IN CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE TYPE 2D AND DISTAL SPINAL MUSCULAR ATROPHY TYPE V. THE AMERICAN JOURNAL OF HUMAN GENETICS, v.72, n.5, p.1293-1299. 2003.
- ARIENZA, B. PROGNATISMO MANDIBULAR. REV ASOC ODONT ARGENT, v.59, n.1, p.12-17. 1971.
- ARTESE, F. MÁ OCLUSÃO CLASSE II DE ANGLE TRATADA SEM EXTRAÇÕES E COM CONTROLE DE CRESCIMENTO. REVISTA DENTAL PRESS DE ORTODONTIA E ORTOPEDIA FACIAL, v.14, n.3, p.114-127. 2009.
- BASSEL-DUBY, R., M. D. HERNANDEZ, Q. YANG, J. M. ROCHELLE, M. F. SELDIN E R. S. WILLIAMS. MYOCYTE NUCLEAR FACTOR, A NOVEL WINGED-HELIX TRANSCRIPTION FACTOR UNDER BOTH DEVELOPMENTAL AND NEURAL REGULATION IN STRIATED MYOCYTES. MOL. CELL. BIOL., v.14, n.7, JULY 1, 1994, p.4596-4605. 1994.
- BERTRAM, S. K., J. W. WILLIAM E H. F. RICHARD. HEREDITY AND THE CRANIOFACIAL COMPLEX. AMERICAN JOURNAL OF ORTHODONTICS, v.45, n.3, p.172-217. 1959.
- BETTI, L., F. BALLOUX, T. HANIHARA E A. MANICA. THE RELATIVE ROLE OF DRIFT AND SELECTION IN SHAPING THE HUMAN SKULL. AMERICAN JOURNAL OF PHYSICAL ANTHROPOLOGY, v.141, n.1, p.76-82. 2010.
- BETTI, L., F. O. BALLOUX, W. AMOS, T. HANIHARA E A. MANICA. DISTANCE FROM AFRICA, NOT CLIMATE, EXPLAINS WITHIN-POPULATION PHENOTYPIC DIVERSITY IN HUMANS. PROCEEDINGS OF THE ROYAL SOCIETY B: BIOLOGICAL SCIENCES, v.276, n.1658, MARCH 7, 2009, p.809-814. 2009.
- BINDER, A. IDENTIFICATION OF GENES FOR A COMPLEX TRAIT: EXAMPLES FROM HYPERTENSION. CURR PHARM BIOTECHNOL, v.7, n.1, p.1-13 2006.
- BORECKI, I. B., M. A. PROVINCE, D. C. RAO E C. C. GU. LINKAGE AND ASSOCIATION: BASIC CONCEPTS. IN: (ED.). ADVANCES IN GENETICS: ACADEMIC PRESS, v.VOLUME 60, 2008. LINKAGE AND ASSOCIATION: BASIC CONCEPTS, p.51-74
- BOTSTEIN, D. E N. RISCH. DISCOVERING GENOTYPES UNDERLYING HUMAN PHENOTYPES: PAST SUCCESSES FOR MENDELIAN DISEASE, FUTURE APPROACHES FOR COMPLEX DISEASE NATURE GENETICS, v.33, p.228-237. 2003.
- BUI, C., T. KING, W. PROFFIT E S. FRAZIER-BOWERS. PHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF CLASS III PATIENTS - A NECESSARY BACKGROUND FOR GENETIC ANALYSIS. ANGLE ORTHODONTIST, v.76, n.4, JUL, p.564-569. 2006.
- CHANG, H. P., Y. C. TSENG E H. F. CHANG. TREATMENT OF MANDIBULAR PROGNATHISM. J FORMOS MED ASSOC, v.105, n.10, OCT, p.781-790. 2006.
- CHAPMAN, C. E B. WINNETT. CLINICAL PEDIGREE DRAWING SOFTWARE 2008.
- CHEVERUD, J. M. THE GENETIC ARCHITECTURE OF PLEIOTROPIC RELATIONS AND DIFFERENTIAL EPISTASIS. IN: G. P. WAGNER (ED.). THE CHARACTER CONCEPT IN EVOLUTIONARY BIOLOGY.

- SAN DIEGO: ACADEMIC PRESS, 2000. THE GENETIC ARCHITECTURE OF PLEIOTROPIC RELATIONS AND DIFFERENTIAL EPISTASIS, p.411-433
- CLARKE, P. M., P. GLASZIOU, A. PATEL, J. CHALMERS, M. WOODWARD, S. B. HARRAP, J. A. SALOMON E A. C. G. ON BEHALF OF THE. EVENT RATES, HOSPITAL UTILIZATION, AND COSTS ASSOCIATED WITH MAJOR COMPLICATIONS OF DIABETES: A MULTICOUNTRY COMPARATIVE ANALYSIS. PLOS MED, v.7, n.2, p.e1000236. 2010.
- COPP, A. J. E N. D. GREENE. GENETICS AND DEVELOPMENT OF NEURAL TUBE DEFECTS. THE JOURNAL OF PATHOLOGY, v.220, n.2, p.217-230. 2009.
- CRAMON-TAUBADEL, N. V. CONGRUENCE OF INDIVIDUAL CRANIAL BONE MORPHOLOGY AND NEUTRAL MOLECULAR AFFINITY PATTERNS IN MODERN HUMANS. AMERICAN JOURNAL OF PHYSICAL ANTHROPOLOGY, v.140, n.2, p.205-215. 2009.
- CRUZ, R. M. GENÉTICA DO PROGNATISMO MANDIBULAR: AVALIAÇÃO DE HEREDOGRAMAS, ANÁLISE COMPLEXA DE SEGREGAÇÃO E ANÁLISE DE LIGAÇÃO COM LOCI CANDIDATOS EM FAMÍLIAS BRASILEIRAS AVERIGUADAS A PARTIR DE PROBANDOS AFETADOS. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO BIOLOGIA ANIMAL DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, BRASÍLIA, 2006. 143 p.
- CRUZ, R. M., J. HARTSFIELD, JR., G. FALCAO-ALENCAR, D. L. KOLLER, R. W. PEREIRA, J. MAH, I. FERRARI E S. F. OLIVEIRA. EXCLUSION OF CLASS III CANDIDATE LOCI IN BRAZILIAN FAMILIES. J DENT RES. 2010.
- CRUZ, R. M., H. KRIEGER, R. FERREIRA, J. MAH, J. HARTSFIELD, JR. E S. OLIVEIRA. MAJOR GENE AND MULTIFACTORIAL INHERITANCE OF MANDIBULAR PROGNATHISM. AM J MED GENET A, v.146A, n.1, JAN 1, p.71-77. 2008.
- CRUZ, R. M. E S. F. D. OLIVEIRA. ANÁLISE GENÉTICA DE PROBLEMAS CRANIOFACIAIS: REVISÃO DA LITERATURA E DIRETRIZES PARA INVESTIGAÇÕES CLÍNICO-LABORATORIAIS (PARTE 2). REVISTA DENTAL PRESS DE ORTODONTIA E ORTOPEDIA FACIAL, v.12, p.141-150. 2007.
- DALY, M. J., J. D. RIOUX, S. F. SCHAFFNER, T. J. HUDSON E E. S. LANDER. HIGH-RESOLUTION HAPLOTYPE STRUCTURE IN THE HUMAN GENOME. NAT GENET, v.29, n.2, p.229-232. 2001.
- DARIEVA, Z., A. PIC-TAYLOR, J. BOROS, A. SPANOS, M. GEYMONAT, R. J. REECE, S. G. SEDGWICK, A. D. SHARROCKS E B. A. MORGAN. CELL CYCLE-REGULATED TRANSCRIPTION THROUGH THE FHA DOMAIN OF FKH2P AND THE COACTIVATOR NDD1P. CURRENT BIOLOGY, v.13, n.19, p.1740-1745. 2003.
- DAWN TEARE, M. E J. H. BARRETT. GENETIC LINKAGE STUDIES. THE LANCET, v.366, n.9490, 2005/9/23/, p.1036-1044. 2005.
- DODDS, R., K. MERRY, A. LITTLEWOOD E M. GOWEN. EXPRESSION OF mRNA FOR IL1 BETA, IL6 AND TGF BETA 1 IN DEVELOPING HUMAN BONE AND CARTILAGE. J. HISTOCHEM. CYTOCHEM., v.42, n.6, JUNE 1, 1994, p.733-744. 1994.
- DOHMOTO, A., K. SHIMIZU, Y. ASADA E T. MAEDA. QUANTITATIVE TRAIT LOCI ON CHROMOSOMES 10 AND 11 INFLUENCING MANDIBLE SIZE OF SMXA RI MOUSE STRAINS. J DENT RES, v.81, n.7, JUL, p.501-504. 2002.
- DOWNS, W. G. STUDIES IN THE CAUSES OF DENTAL ANOMALIES. GENETICS, v.12, n.6, NOV, p.570-580. 1927.

- DUGINA, V., I. ZWAENEPOEL, G. GABBIANI, S. CLEMENT E C. CHAPONNIER. {BETA}- AND {GAMMA}-CYTOPLASMIC ACTINS DISPLAY DISTINCT DISTRIBUTION AND FUNCTIONAL DIVERSITY. J CELL SCI, v.122, n.16, AUGUST 15, 2009, p.2980-2988. 2009.
- EASTON, D. F., D. T. BISHOP, D. FORD E G. P. CROCKFORD. GENETIC LINKAGE ANALYSIS IN FAMILIAL BREAST AND OVARIAN CANCER: RESULTS FROM 214 FAMILIES. THE BREAST CANCER LINKAGE CONSORTIUM. AM J HUM GENET, v.52, n.4, p.678-701 1993.
- EL-GHERIANI, A. A., B. S. MAHER, A. S. EL-GHERIANI, J. J. SCIOTE, F. A. ABU-SHAHBA, R. AL-AZEMI E M. L. MARAZITA. SEGREGATION ANALYSIS OF MANDIBULAR PROGNATHISM IN LIBYA. JOURNAL OF DENTAL RESEARCH, v.82, n.7, JULY 1, 2003, p.523-527. 2003.
- EL-MANGOURY, N. H. E Y. A. MOSTAFA. EPIDEMIOLOGIC PANORAMA OF DENTAL OCCLUSION. THE ANGLE ORTHODONTIST, v.60, n.3, p.207-214. 1990.
- EPSTEIN, M. P., W. L. DUREN E M. BOEHNKE. IMPROVED INFERENCE OF RELATIONSHIP FOR PAIRS OF INDIVIDUALS. THE AMERICAN JOURNAL OF HUMAN GENETICS, v.67, n.5, p.1219-1231. 2000.
- ERVERDI, N. E A. ACAR. ZYGOMATIC ANCHORAGE FOR EN MASSE RETRACTION IN THE TREATMENT OF SEVERE CLASS II DIVISION 1. THE ANGLE ORTHODONTIST, v.75, n.3, p.483-490. 2005.
- EVANS, D. M. E L. R. CARDON. GUIDELINES FOR GENOTYPING IN GENOMEWIDE LINKAGE STUDIES: SINGLE-NUCLEOTIDE-POLYMORPHISM MAPS VERSUS MICROSATELLITE MAPS. AM J HUM GENET, v.75, n.4, p.687-692 2004.
- FRAZIER-BOWERS, S., R. RINCON-RODRIGUEZ, J. ZHOU, K. ALEXANDER E E. LANGE. EVIDENCE OF LINKAGE IN A HISPANIC COHORT WITH A CLASS III DENTOFACIAL PHENOTYPE. JOURNAL OF DENTAL RESEARCH, v.88, p.56-60. 2009.
- FREDDIE, C. T., Z. JI, A. MARAIS E A. D. SHARROCKS. FUNCTIONAL INTERACTIONS BETWEEN THE FORKHEAD TRANSCRIPTION FACTOR FOXK1 AND THE MADS-BOX PROTEIN SRF. NUCL. ACIDS RES., v.35, n.15, AUGUST 1, 2007, p.5203-5212. 2007.
- GABRIEL, S. B., S. F. SCHAFFNER, H. NGUYEN, J. M. MOORE, J. ROY, B. BLUMENSTIEL, J. HIGGINS, M. DEFELICE, A. LOCHNER, M. FAGGART, S. N. LIU-CORDERO, C. ROTIMI, A. ADEYEMO, R. COOPER, R. WARD, E. S. LANDER, M. J. DALY E D. ALTSHULER. THE STRUCTURE OF HAPLOTYPE BLOCKS IN THE HUMAN GENOME. SCIENCE, v.296, n.5576, JUNE 21, 2002, p.2225-2229. 2002.
- GODINHO, N., C. GONTIJO, M. DINIZ, G. FALCAO-ALENCAR, G. DALTON, C. AMORIM, R. BARCELOS, M. KLAUTAUGUIMARAES E S. OLIVEIRA. REGIONAL PATTERNS OF GENETIC ADMIXTURE IN SOUTH AMERICA. FORENSIC SCIENCE INTERNATIONAL: GENETICS SUPPLEMENT SERIES, v.1, p.329-330. 2008.
- GOMES, I., T. T. SHARMA, S. EDASSERY, N. FULTON, B. G. MAR E C. A. WESTBROOK. NOVEL TRANSCRIPTION FACTORS IN HUMAN CD34 ANTIGEN-POSITIVE HEMATOPOIETIC CELLS. BLOOD, v.100, n.1, JUNE 17, 2002, p.107-119. 2002.
- GRANDO, G., A. A. YOUNG, M. VEDOVELLO FILHO, S. A. VEDOVELLO E G. O. RAMIREZ-YANES. PREVALENCE OF MALOCCLUSIONS IN A YOUNG BRAZILIAN POPULATION. INT J ORTHOD MILWAUKEE, v.19, n.2, p.13-16. 2008.
- HARVATI, K. E T. D. WEAVER. HUMAN CRANIAL ANATOMY AND THE DIFFERENTIAL PRESERVATION OF POPULATION HISTORY AND CLIMATE SIGNATURES. THE ANATOMICAL RECORD PART A:

- DISCOVERIES IN MOLECULAR, CELLULAR, AND EVOLUTIONARY BIOLOGY, v.288A, n.12, p.1225-1233. 2006.
- HAUSER, E. R., M. BOEHNKE, S.-W. GUO E N. RISCH. AFFECTED-SIB-PAIR INTERVAL MAPPING AND EXCLUSION FOR COMPLEX GENETIC TRAITS: SAMPLING CONSIDERATIONS. GENETIC EPIDEMIOLOGY, v.13, n.2, p.117-137. 1996.
- HIRANO, T., K. YASUKAWA, H. HARADA, T. TAGA, Y. WATANABE, T. MATSUDA, S.-I. KASHIWAMURA, K. NAKAJIMA, K. KOYAMA, A. IWAMATSU, S. TSUNASAWA, F. SAKIYAMA, H. MATSUI, Y. TAKAHARA, T. TANIGUCHI E T. KISHIMOTO. COMPLEMENTARY DNA FOR A NOVEL HUMAN INTERLEUKIN (BSF-2) THAT INDUCES B LYMPHOCYTES TO PRODUCE IMMUNOGLOBULIN. NATURE, v.324, n.6092, p.73-76. 1986.
- HIRSCHHORN, J. N., K. LOHMUELLER, E. BYRNE E K. HIRSCHHORN. A COMPREHENSIVE REVIEW OF GENETIC ASSOCIATION STUDIES. GENET MED, v.4, n.2, p.45-61 2002.
- HOFMAN, K., J. SWINNEN, F. CLAESSENS, G. VERHOEVEN E W. HEYNS. THE RETINOBLASTOMA PROTEIN-ASSOCIATED TRANSCRIPTION REPRESSOR RBAK INTERACTS WITH THE ANDROGEN RECEPTOR AND ENHANCES ITS TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY. J MOL ENDOCRINOL, v.31, n.3, DECEMBER 1, 2003, p.583-596. 2003.
- ISHII, H., S. MORITA, Y. TAKEUCHI E S. NAKAMURA. TREATMENT EFFECT OF COMBINED MAXILLARY PROTRACTION AND CHINCAP APPLIANCE IN SEVERE SKELETAL CLASS III CASES. AMERICAN JOURNAL OF ORTHODONTICS AND DENTOFACIAL ORTHOPEDICS, v.92, n.4, p.304-312. 1987.
- JACOBSON, A., W. G. EVANS, C. B. PRESTON E P. L. SADOWSKY. MANDIBULAR PROGNATHISM. AMERICAN JOURNAL OF ORTHODONTICS, v.66, n.2, p.140-171. 1974.
- JOHN, S., N. SHEPHARD, G. LIU, E. ZEGGINI, M. CAO, W. CHEN, N. VASAVDA, T. MILLS, A. BARTON, A. HINKS, S. EYRE, K. W. JONES, W. OLLIER, A. SILMAN, N. GIBSON, J. WORTHINGTON E G. C. KENNEDY. WHOLE-GENOME SCAN, IN A COMPLEX DISEASE, USING 11,245 SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS: COMPARISON WITH MICROSATELLITES. THE AMERICAN JOURNAL OF HUMAN GENETICS, v.75, n.1, p.54-64. 2004.
- KATOH, M. E M. KATOH. HUMAN FOX GENE FAMILY (REVIEW). INT J ONCOL, v.25, n.5, p.1495-1500 2004.
- KHOURY, M. J. FROM GENES TO PUBLIC HEALTH: THE APPLICATIONS OF GENETIC TECHNOLOGY IN DISEASE PREVENTION. GENETICS WORKING GROUP. AM J PUBLIC HEALTH, v.86, n.12, DECEMBER 1, 1996, p.1717-1722. 1996.
- KLINGENBERG, C. P., L. J. LEAMY, E. J. ROUTMAN E J. M. CHEVERUD. GENETIC ARCHITECTURE OF MANDIBLE SHAPE IN MICE: EFFECTS OF QUANTITATIVE TRAIT LOCI ANALYZED BY GEOMETRIC MORPHOMETRICS. GENETICS, v.157, n.2, p.785-802 2001.
- KOCHANSKI, A. HOW TO ASSESS THE PATHOGENICITY OF MUTATIONS IN CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE AND OTHER DISEASES? J APPL GENET, v.47, n.3, p.255-260 2006.
- LALAND, K. N., J. ODLING-SMEE E S. MYLES. HOW CULTURE SHAPED THE HUMAN GENOME: BRINGING GENETICS AND THE HUMAN SCIENCES TOGETHER. NAT REV GENET, v.11, n.2, p.137-148. 2010.
- LANGE, K., R. CANTOR, S. HORVATH, M. PEROLA, C. SABATTI, J. SINSHEIMER E E. SOBEL. MENDEL VERSION 4.0: A COMPLETE PACKAGE FOR THE EXACT GENETIC ANALYSIS OF DISCRETE TRAITS

- IN PEDIGREE AND POPULATION DATA SETS. AM J HUM GENET, v.69 N.SUPPLEMENT, p.504. 2001.
- LIN, Y., L. BAI, W. CHEN E S. XU. THE NF-KAPPAB ACTIVATION PATHWAYS, EMERGING MOLECULAR TARGETS FOR CANCER PREVENTION AND THERAPY. EXPERT OPINION ON THERAPEUTIC TARGETS, v.14, n.1, p.45-55. 2010.
- MAH, J. GENETICS OF THE "HABSBURG JAW". EUROP ORTHOD SOC RES, v.1, p.1-8. 2001.
- MARESSO, K., U. BROECKEL, D. C. RAO E C. C. GU. GENOTYPING PLATFORMS FOR MASS-THROUGHPUT GENOTYPING WITH SNPs, INCLUDING HUMAN GENOME-WIDE SCANS. IN: (ED.). ADVANCES IN GENETICS: ACADEMIC PRESS, v.VOLUME 60, 2008. GENOTYPING PLATFORMS FOR MASS-THROUGHPUT GENOTYPING WITH SNPs, INCLUDING HUMAN GENOME-WIDE SCANS, p.107-139
- MARTINS, M. D. G. A. E K. C. LIMA. PREVALENCE OF MALOCCLUSIONS IN 10- TO 12-YEAR-OLD SCHOOLCHILDREN IN CEARÁ, BRAZIL. ORAL HEALTH & PREVENTIVE DENTISTRY, v.7, n.3, p.217-233. 2009.
- MIDDLETON, F. A., M. T. PATO, K. L. GENTILE, C. P. MORLEY, X. ZHAO, A. F. EISENER, A. BROWN, T. L. PETRYSHEN, A. N. KIRBY, H. MEDEIROS, C. CARVALHO, A. MACEDO, A. DOURADO, I. COELHO, J. VALENTE, M. J. SOARES, C. P. FERREIRA, M. LEI, M. H. AZEVEDO, J. L. KENNEDY, M. J. DALY, P. SKLAR E C. N. PATO. GENOMEWIDE LINKAGE ANALYSIS OF BIPOLAR DISORDER BY USE OF A HIGH-DENSITY SINGLE-NUCLEOTIDE-POLYMORPHISM (SNP) GENOTYPING ASSAY: A COMPARISON WITH MICROSATELLITE MARKER ASSAYS AND FINDING OF SIGNIFICANT LINKAGE TO CHROMOSOME 6Q22. THE AMERICAN JOURNAL OF HUMAN GENETICS, v.74, n.5, p.886-897. 2004.
- MIKI, Y., J. SWENSEN, D. SHATTUCK-EIDENS, P. FUTREAL, K. HARSHMAN, S. TAVTIGIAN, Q. LIU, C. COCHRAN, L. BENNETT, W. DING E A. ET. A STRONG CANDIDATE FOR THE BREAST AND OVARIAN CANCER SUSCEPTIBILITY GENE BRCA1. SCIENCE, v.266, n.5182, OCTOBER 7, 1994, p.66-71. 1994.
- MILLER, S. A., D. D. DYKES E H. F. POLESKY. A SIMPLE SALTING OUT PROCEDURE FOR EXTRACTING DNA FROM HUMAN NUCLEATED CELLS. NUCLEIC ACIDS RES, v.16, n.3, FEB 11, p.1215. 1988.
- MORTON, N. E. SEQUENTIAL TESTS FOR THE DETECTION OF LINKAGE. AM J HUM GENET, v.7, n.3, p.277-318 1955.
- MOSS, M. L. NEW STUDIES OF CRANIAL GROWTH. BIRTH DEFECTS ORIG ARTIC SER, v.11, n.7, p.283-295. 1975.
- MOSS, M. L. THE FUNCTIONAL MATRIX HYPOTHESIS REVISITED. 3. THE GENOMIC THESIS. AM J ORTHOD DENTOFACIAL ORTHOP, v.112, n.3, SEP, p.338-342. 1997.
- MOSSEY, P. A. THE HERITABILITY OF MALOCCLUSION: PART 2. THE INFLUENCE OF GENETICS IN MALOCCLUSION. BR J ORTHOD, v.26, n.3, SEP, p.195-203. 1999.
- MOYERS, R. E. ORTODONTIA. RIO DE JANEIRO: GUANABARA KOOGAN S. A. 1991. 483 p.
- NGAN, P. EARLY TREATMENT OF CLASS III MALOCCLUSION: IS IT WORTH THE BURDEN? AMERICAN JOURNAL OF ORTHODONTICS AND DENTOFACIAL ORTHOPEDICS, v.129, n.4, SUPPLEMENT 1, p.S82-S85. 2006.

- NISHIMURA, R., K. NOJIMA, Y. NISHII, J. HANAI, T. ARATAKI, T. UCHIYAMA E H. YAMAGUCHI. MULTIDISCIPLINARY TREATMENT OF MANDIBULAR PROGNATHISM WITH MULTIPLE CONGENITALLY MISSING TEETH. BULL TOKYO DENT COLL, v.47, n.1, FEB, p.25-31. 2006.
- NSENGIMANA, J., H. RENARD E D. GOLDGAR. LINKAGE ANALYSIS OF COMPLEX DISEASES USING MICROSATELLITES AND SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS: APPLICATION TO ALCOHOLISM. BMC GENETICS, v.6, n.SUPPL 1, p.S10. 2005.
- OHNUMA, K., M. UCHIYAMA, T. YAMOCHI, K. NISHIBASHI, O. HOSONO, N. TAKAHASHI, S. KINA, H. TANAKA, X. LIN, N. H. DANG E C. MORIMOTO. CAVEOLIN-1 TRIGGERS T-CELL ACTIVATION VIA CD26 IN ASSOCIATION WITH CARMA1. JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, v.282, n.13, MARCH 30, 2007, p.10117-10131. 2007.
- OSHIKAWA, M., N. SUGANO, R. ISHIGAKI E K. ITO. GENE EXPRESSION IN THE DEVELOPING RAT MANDIBLE: A GENE ARRAY STUDY. ARCHIVES OF ORAL BIOLOGY, v.49, n.4, p.325-329. 2004.
- PENA, S. D. J. E M. L. F. PENNA. O PROGNATISMO MANDIBULAR DOS HABSBURGOS NA FAMILIA IMPERIAL BRASILEIRA. REV BR GENET, v.11, n.4, p.1017-1021. 1988.
- PROCACCIO, V., G. SALAZAR, S. ONO, M. L. STYERS, M. GEARING, A. DAVILA, R. JIMENEZ, J. JUNCOS, C.-A. GUTEKUNST, G. MERONI, B. FONTANELLA, E. SONTAG, J. M. SONTAG, V. FAUNDEZ E B. H. WAINER. A MUTATION OF [BETA]-ACTIN THAT ALTERS DEPOLYMERIZATION DYNAMICS IS ASSOCIATED WITH AUTOSOMAL DOMINANT DEVELOPMENTAL MALFORMATIONS, DEAFNESS, AND DYSTONIA. THE AMERICAN JOURNAL OF HUMAN GENETICS, v.78, n.6, p.947-960. 2006.
- RAO, D. C. AN OVERVIEW OF THE GENETIC DISSECTION OF COMPLEX TRAITS. IN: (ED.). ADVANCES IN GENETICS: ACADEMIC PRESS, v.VOLUME 60, 2008. AN OVERVIEW OF THE GENETIC DISSECTION OF COMPLEX TRAITS, p.3-34
- RAO, D. C. E C. GU. FALSE POSITIVES AND FALSE NEGATIVES IN GENOME SCANS. GENETIC DISSECTION OF COMPLEX TRAITS, v.42, p.487-498. 2001.
- REYNOLDS, D., B. J. SHI, C. MCLEAN, F. KATSIS, B. KEMP E S. DALTON. RECRUITMENT OF THR 319-PHOSPHORYLATED NDD1P TO THE FHA DOMAIN OF FKH2P REQUIRES CLB KINASE ACTIVITY: A MECHANISM FOR CLB CLUSTER GENE ACTIVATION. GENES & DEVELOPMENT, v.17, n.14, JULY 15, 2003, p.1789-1802. 2003.
- RIDLEY, A. J., H. F. PATERSON, C. L. JOHNSTON, D. DIEKMANN E A. HALL. THE SMALL GTP-BINDING PROTEIN RAC REGULATES GROWTH FACTOR-INDUCED MEMBRANE RUFFLING. CELL, v.70, n.3, p.401-410. 1992.
- RISCH, N. E K. MERIKANGAS. THE FUTURE OF GENETIC STUDIES OF COMPLEX HUMAN DISEASES. SCIENCE, v.273, n.5281, SEPTEMBER 13, 1996, p.1516-1517. 1996.
- SCHAID, D. J., J. C. GUENTHER, G. B. CHRISTENSEN, S. HEBBRING, C. ROSENOW, C. A. HILKER, S. K. MCDONNELL, J. M. CUNNINGHAM, S. L. SLAGER, M. L. BLUTE E S. N. THIBODEAU. COMPARISON OF MICROSATELLITES VERSUS SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN A GENOME LINKAGE SCREEN FOR PROSTATE CANCER-SUSCEPTIBILITY LOCI. THE AMERICAN JOURNAL OF HUMAN GENETICS, v.75, n.6, p.948-965. 2004.
- SCHOENWETTER, R. F. A POSSIBLE RELATIONSHIP BETWEEN CERTAIN MALOCCLUSIONS AND DIFFICULT OR INSTRUMENT DELIVERIES. ANGLE ORTHOD, v.44, n.4, OCT, p.336-340. 1974.

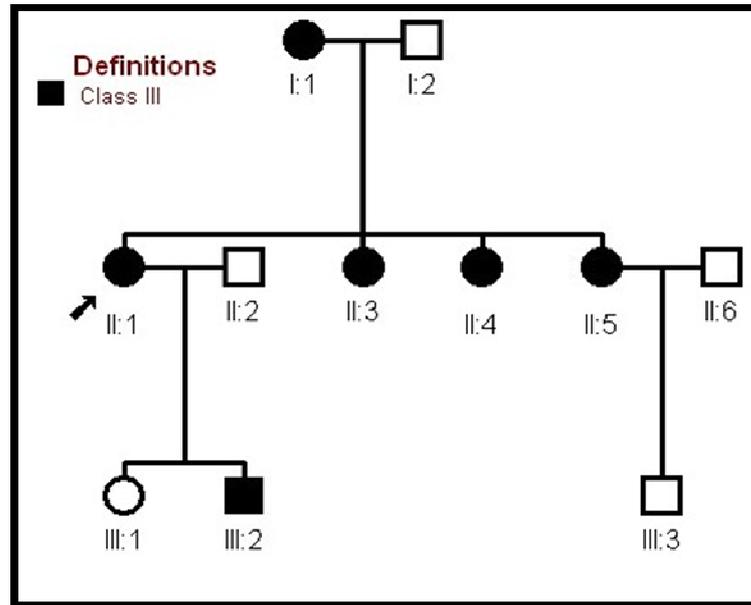
- SHAO, J., N. GRAMMATIKAKIS, B. T. SCROGGINS, S. UMA, W. HUANG, J.-J. CHEN, S. D. HARTSON E R. L. MATTS. HSP90 REGULATES P50CDC37 FUNCTION DURING THE BIOGENESIS OF THE ACTIVE CONFORMATION OF THE HEME-REGULATED EIF2 α KINASE. JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, v.276, n.1, JANUARY 5, 2001, p.206-214. 2001.
- SINGH, G. D. MORPHOLOGIC DETERMINANTS IN THE ETIOLOGY OF CLASS III MALOCCLUSIONS: A REVIEW. CLINICAL ANATOMY, v.12, n.5, p.382-405. 1999.
- SINGH, G. D., J. A. MCNAMARA, JR. E S. LOZANOFF. MORPHOMETRY OF THE CRANIAL BASE IN SUBJECTS WITH CLASS III MALOCCLUSION. J DENT RES, v.76, n.2, FEB, p.694-703. 1997.
- SINGH, G. D., J. A. MCNAMARA, JR. E S. LOZANOFF. PROCRUSTES, EUCLIDEAN AND CEPHALOMETRIC ANALYSES OF THE MORPHOLOGY OF THE MANDIBLE IN HUMAN CLASS III MALOCCLUSIONS. ARCH ORAL BIOL, v.43, n.7, JUL, p.535-543. 1998.
- SKAPEK, S. X., D. JANSEN, T.-F. WEI, T. MCDERMOTT, W. HUANG, E. N. OLSON E E. Y.-H. P. LEE. CLONING AND CHARACTERIZATION OF A NOVEL KRUPPEL-ASSOCIATED BOX FAMILY TRANSCRIPTIONAL REPRESSOR THAT INTERACTS WITH THE RETINOBLASTOMA GENE PRODUCT, RB. JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, v.275, n.10, MARCH 10, 2000, p.7212-7223. 2000.
- SMOLEN, G. A., B. J. SCHOTT, R. A. STEWART, S. DIEDERICHS, B. MUIR, H. L. PROVENCHER, A. T. LOOK, D. C. SGROI, R. T. PETERSON E D. A. HABER. A RAP GTPASE INTERACTOR, RADIL, MEDIATES MIGRATION OF NEURAL CREST PRECURSORS. GENES & DEVELOPMENT, v.21, n.17, SEPTEMBER 1, 2007, p.2131-2136. 2007.
- SONNESEN, L. E I. KJÆR. CERVICAL COLUMN MORPHOLOGY IN PATIENTS WITH SKELETAL CLASS III MALOCCLUSION AND MANDIBULAR OVERJET. AMERICAN JOURNAL OF ORTHODONTICS AND DENTOFACIAL ORTHOPEDICS, v.132, n.4, p.427.e427-427.e412. 2007.
- STROHMAYER, W. DIE VEREBURG DES HAPSBURGER FAMILIENTYPUS. NOVA ACTA LEOPOLD, v.5, p.219-296. 1937.
- SUTO, J.-I. IDENTIFICATION OF MULTIPLE QUANTITATIVE TRAIT LOCI AFFECTING THE SIZE AND SHAPE OF THE MANDIBLE IN MICE. MAMMALIAN GENOME, v.20, n.1, p.1-13. 2009.
- TAYO, B., Y. LIANG, S. STRANGES E M. TREVISAN. GENOME-WIDE LINKAGE ANALYSIS OF AGE AT ONSET OF ALCOHOL DEPENDENCE: A COMPARISON BETWEEN MICROSATELLITES AND SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS. BMC GENETICS, v.6, n.SUPPL 1, p.S12. 2005.
- THOMAS, D. C. STATISTICAL METHODS IN GENETIC EPIDEMIOLOGY. NOVA YORK: OXFORD UNIVERSITY PRESS. 2004
- TOPALOGLU-AK, A., E. EDEN E J. FRENCKEN. MANAGING DENTAL CARIES IN CHILDREN IN TURKEY - A DISCUSSION PAPER. BMC ORAL HEALTH, v.9, n.1, p.32. 2009.
- TSUTSUI, T. W., M. RIMINUCCI, K. HOLMBECK, P. BIANCO E P. G. ROBey. DEVELOPMENT OF CRANIOFACIAL STRUCTURES IN TRANSGENIC MICE WITH CONSTITUTIVELY ACTIVE PTH/PTHrP RECEPTOR. BONE, v.42, n.2, p.321-331. 2008.
- UEKI, K., D. TAKAZAKURA, K. MARUKAWA, M. SHIMADA, K. NAKAGAWA E E. YAMAMOTO. RELATIONSHIP BETWEEN THE MORPHOLOGIES OF THE MASSETER MUSCLE AND THE RAMUS AND OCCLUSAL FORCE IN PATIENTS WITH MANDIBULAR PROGNATHISM. JOURNAL OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY, v.64, n.10, p.1480-1486. 2006.

- VEIT, G., B. KOBBE, D. R. KEENE, M. PAULSSON, M. KOCH E R. WAGENER. COLLAGEN XXVIII, A NOVEL VON WILLEBRAND FACTOR A DOMAIN-CONTAINING PROTEIN WITH MANY IMPERFECTIONS IN THE COLLAGENOUS DOMAIN. JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, v.281, N.6, FEB 10, P.3494-3504. 2006.
- WANG, S., N. RAY, W. ROJAS, M. V. PARRA, G. BEDOYA, C. GALLO, G. POLETTI, G. MAZZOTTI, K. HILL, A. M. HURTADO, B. CAMRENA, H. NICOLINI, W. KLITZ, R. BARRANTES, J. A. MOLINA, N. B. FREIMER, M. C. BORTOLINI, F. M. SALZANO, M. L. PETZL-ERLER, L. T. TSUNETO, J. E. DIPIERRI, E. L. ALFARO, G. BAILLIET, N. O. BIANCHI, E. LLOP, F. ROTHHAMMER, L. EXCOFFIER E A. RUIZ-LINARES. GEOGRAPHIC PATTERNS OF GENOME ADMIXTURE IN LATIN AMERICAN MESTIZOS. PLoS GENETICS, v.4, P.E1000037. 2008.
- WEBER, J. L. E P. E. MAY. ABUNDANT CLASS OF HUMAN DNA POLYMORPHISMS WHICH CAN BE TYPED USING THE POLYMERASE CHAIN REACTION. AM J HUM GENET, v.44, N.3, P.388-396. 1989.
- WIMMER, E., S. MUELLER, T. M. TUMPEY E J. K. TAUBENBERGER. SYNTHETIC VIRUSES: A NEW OPPORTUNITY TO UNDERSTAND AND PREVENT VIRAL DISEASE. NAT BIOTECH, v.27, N.12, P.1163-1172. 2009.
- WOLFF, G., T. F. WIENKER E H. SANDER. ON THE GENETICS OF MANDIBULAR PROGNATHISM: ANALYSIS OF LARGE EUROPEAN NOBLE FAMILIES. J MED GENET, v.30, N.2, FEB, P.112-116. 1993.
- WORKMAN, M. S., L. J. LEAMY, E. J. ROUTMAN E J. M. CHEVERUD. ANALYSIS OF QUANTITATIVE TRAIT LOCUS EFFECTS ON THE SIZE AND SHAPE OF MANDIBULAR MOLARS IN MICE. GENETICS, v.160, N.4, P.1573-1586 2002.
- XING, C., F. SCHUMACHER, G. XING, Q. LU, T. WANG E R. ELSTON. COMPARISON OF MICROSATELLITES, SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS (SNPs) AND COMPOSITE MARKERS DERIVED FROM SNPs IN LINKAGE ANALYSIS. BMC GENETICS, v.6, N.SUPPL 1, P.S29. 2005.
- YAMAGUCHI, T., S. B. PARK, A. NARITA, K. MAKI E I. INOUE. GENOME-WIDE LINKAGE ANALYSIS OF MANDIBULAR PROGNATHISM IN KOREAN AND JAPANESE PATIENTS. J DENT RES, v.84, N.3, MAR, P.255-259. 2005.
- YANG, Q., R. BASSEL-DUBY E R. WILLIAMS. TRANSIENT EXPRESSION OF A WINGED-HELIX PROTEIN, MNF-BETA, DURING MYOGENESIS. MOL. CELL. BIOL., v.17, N.9, SEPTEMBER 1, 1997, P.5236-5243. 1997.
- YANG, Q., Y. KONG, B. ROTHERMEL, D. J. GARRY, R. BASSEL-DUBY E R. S. WILLIAMS. THE WINGED-HELIX/FORKHEAD PROTEIN MYOCYTE NUCLEAR FACTOR BETA (MNF-BETA) FORMS A CO-REPRESSOR COMPLEX WITH MAMMALIAN SIN3B. BIOCHEM. J., v.345, N.2, JAN 15, 2000, P.335-343. 2000.
- ZHAO, Y., L. ZHOU, B. LIU, Y. DENG, Y. WANG, Y. WANG, W. HUANG, W. YUAN, Z. WANG, C. ZHU, M. LIU, X. WU E Y. LI. ZNF325, A NOVEL HUMAN ZINC FINGER PROTEIN WITH A RBAK-LIKE RB-BINDING DOMAIN, INHIBITS AP-1- AND SRE-MEDIATED TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY. BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, v.346, N.4, P.1191-1199. 2006.
- ZIEGLER, A. E I. R. KÖNIG. A STATISTICAL APPROACH TO GENETIC EPIDEMIOLOGY. WEINHEIM: WILEY-VCH. 2006. 361 P.

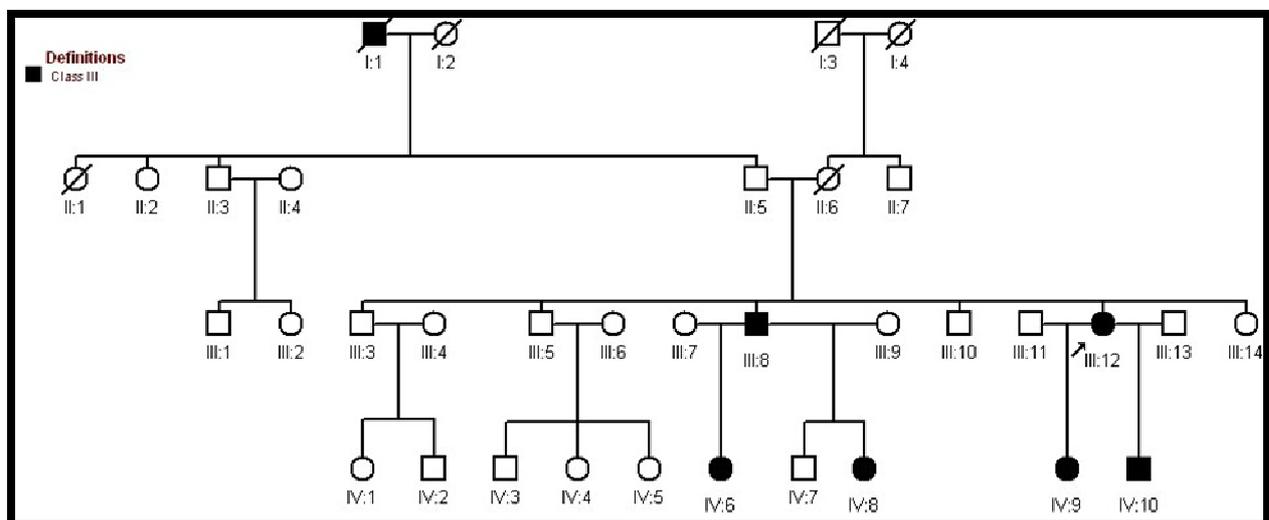
ZILBERSTEIN, A., R. RUGGIERI, J. H. KORN E M. REVEL. STRUCTURE AND EXPRESSION OF CDNA AND GENES FOR HUMAN INTERFERON-BETA-2, A DISTINCT SPECIES INDUCIBLE BY GROWTH-STIMULATORY CYTOKINES. EMBOJ., v.5, n.10, p.2529-2537 1986.

7. ANEXO I

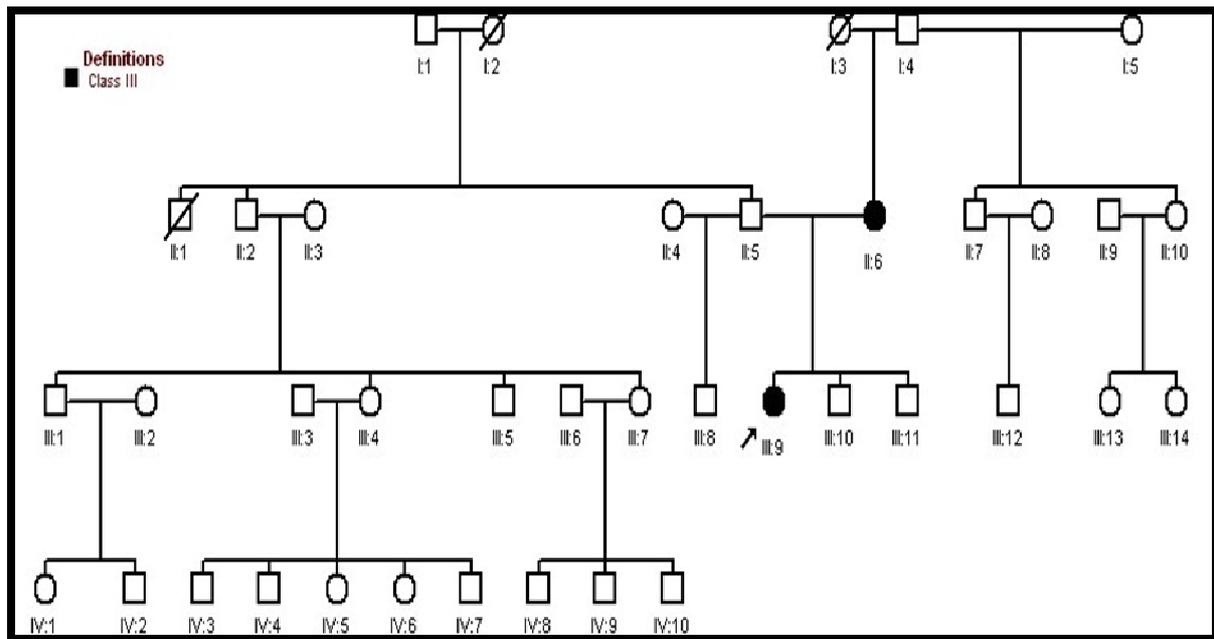
Heredogramas das Famílias Brasileiras



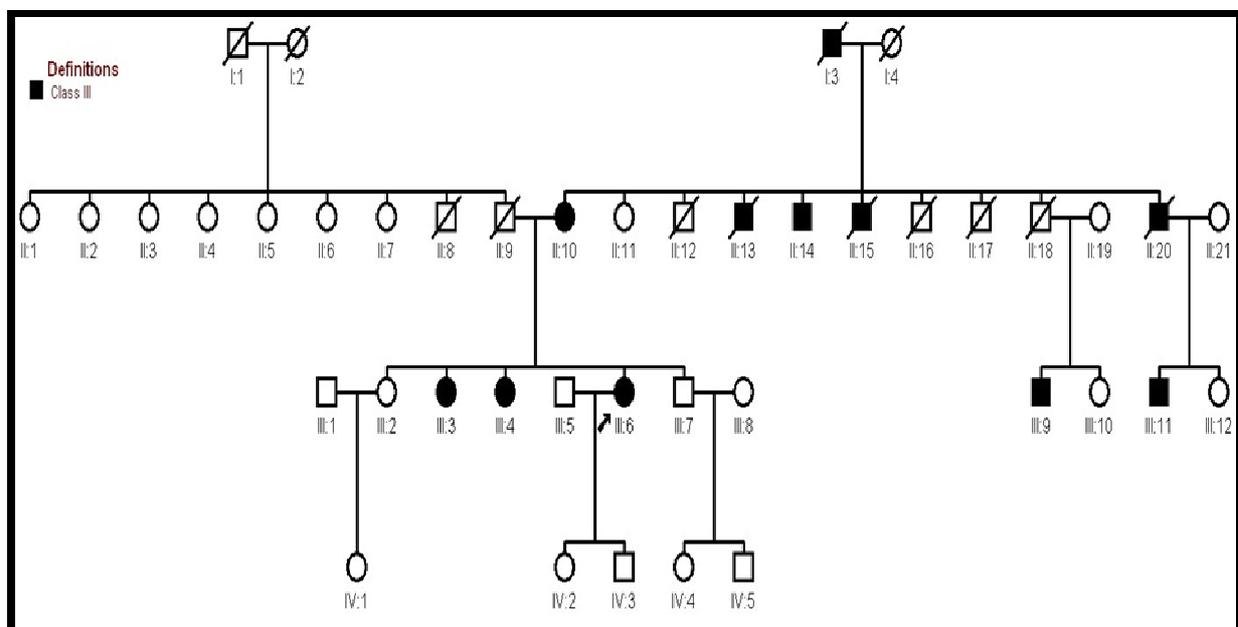
Família 01. Padrão de herança autossômico dominante.



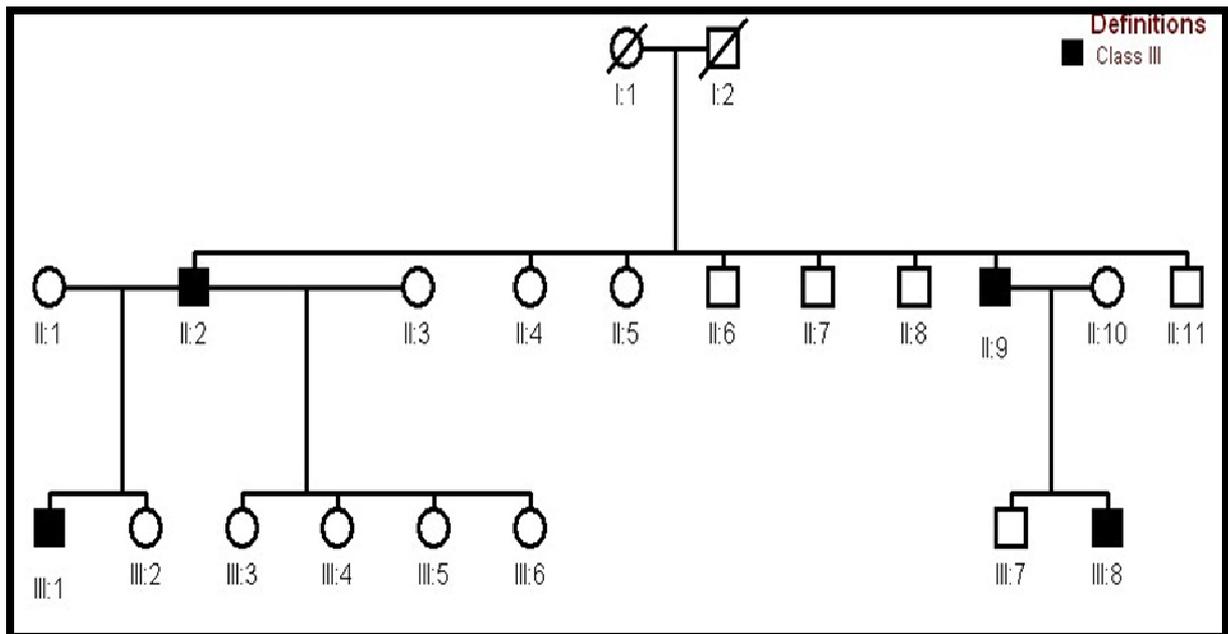
Família 04. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta (salto de geração).



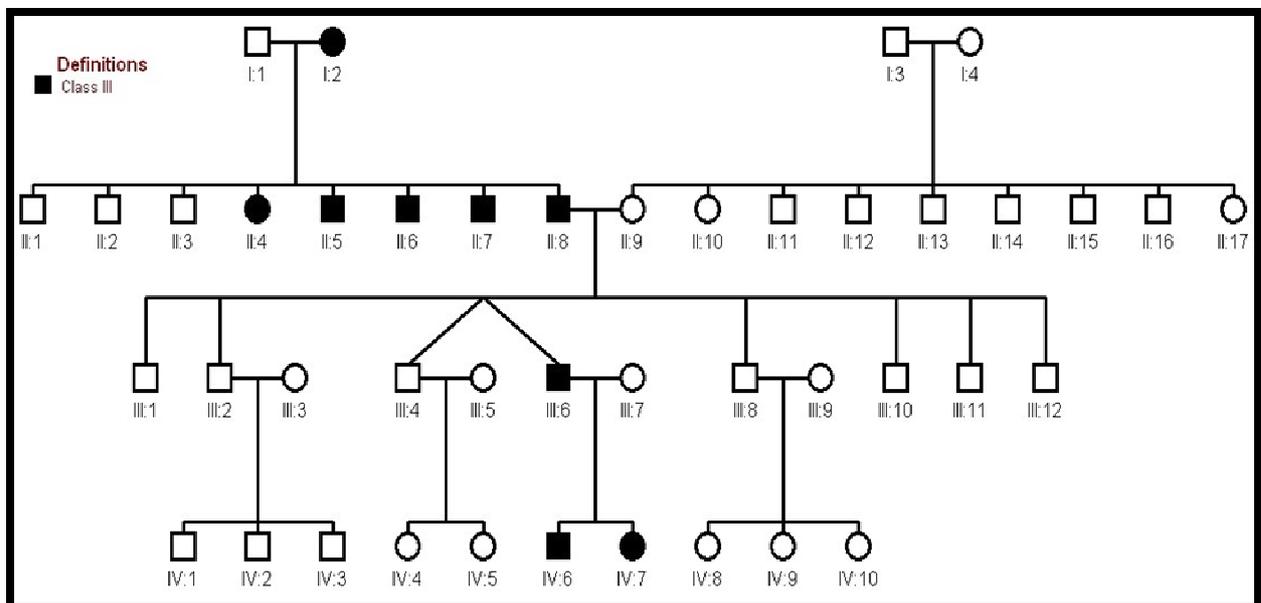
Família 10. Padrão de herança autossômico dominante.



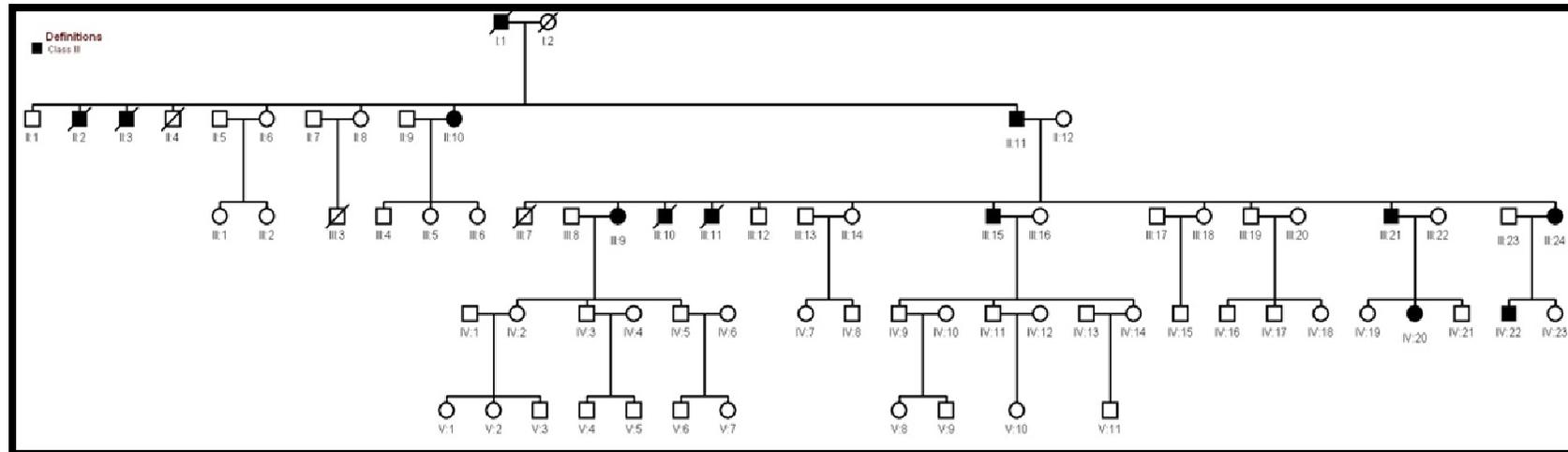
Família 15. Padrão de herança autossômico dominante.



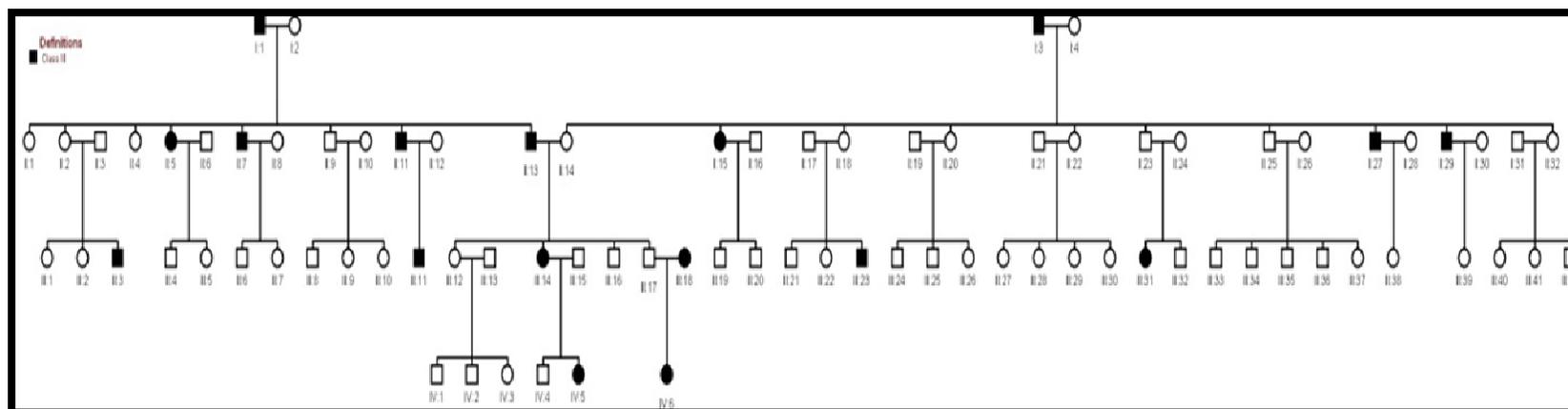
Família 19. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



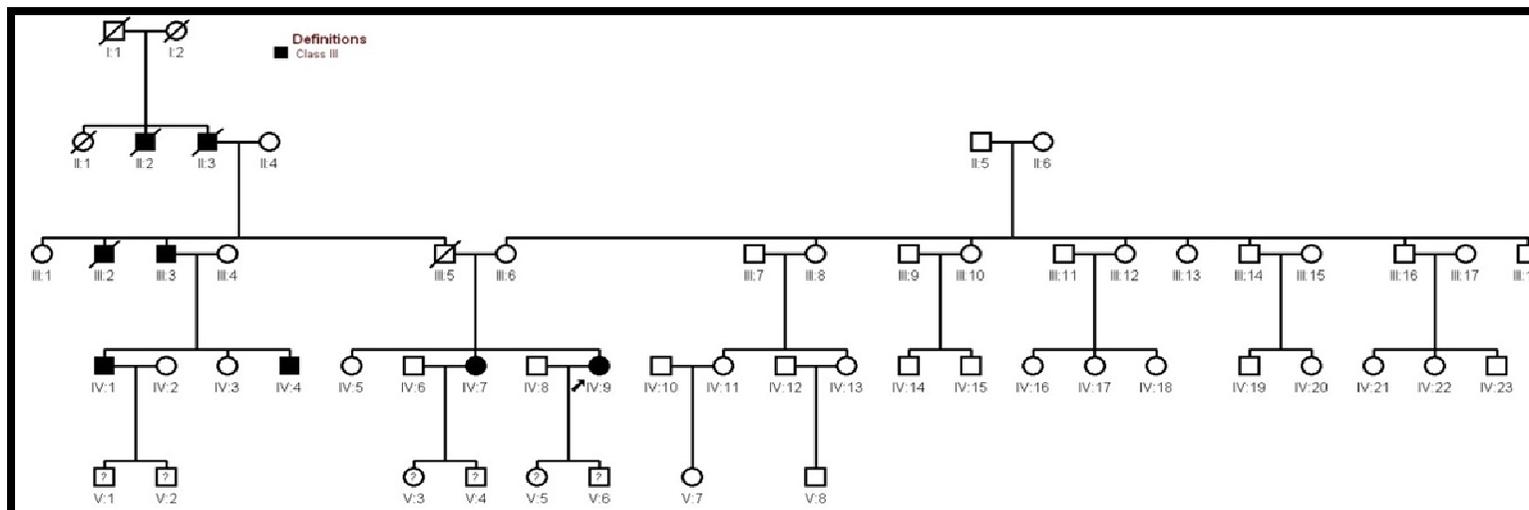
Família 20. Padrão de herança autossômico dominante.



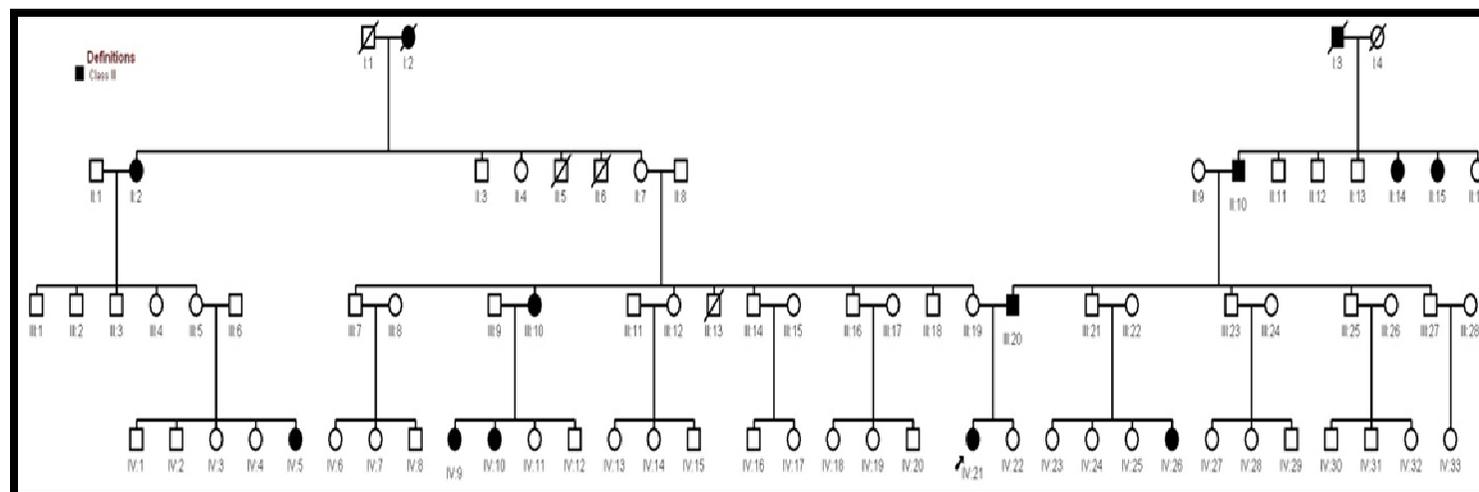
Família 25. Padrão de herança autossômico dominante.



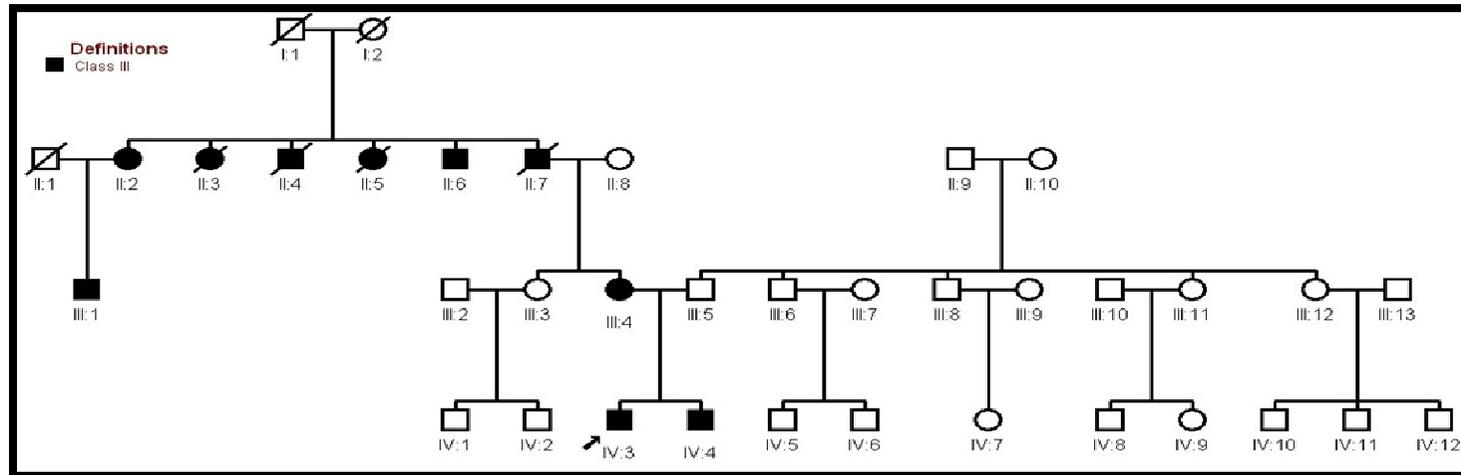
Família 27. Uma família composta de dois ramos, com padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



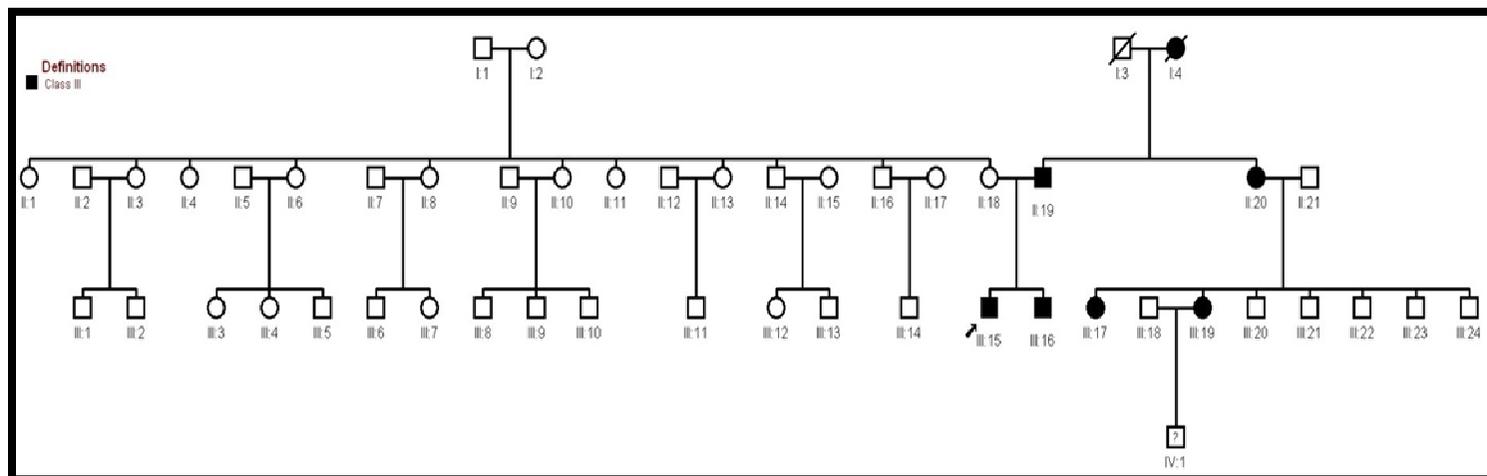
Família 31. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



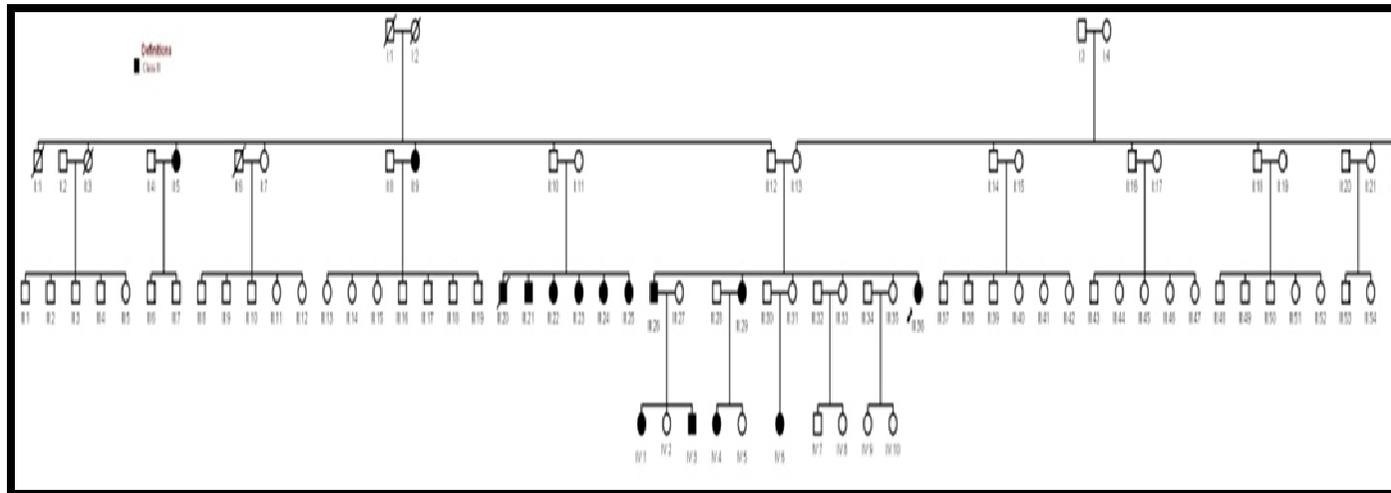
Família 33. Família composta de dois ramos, com padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



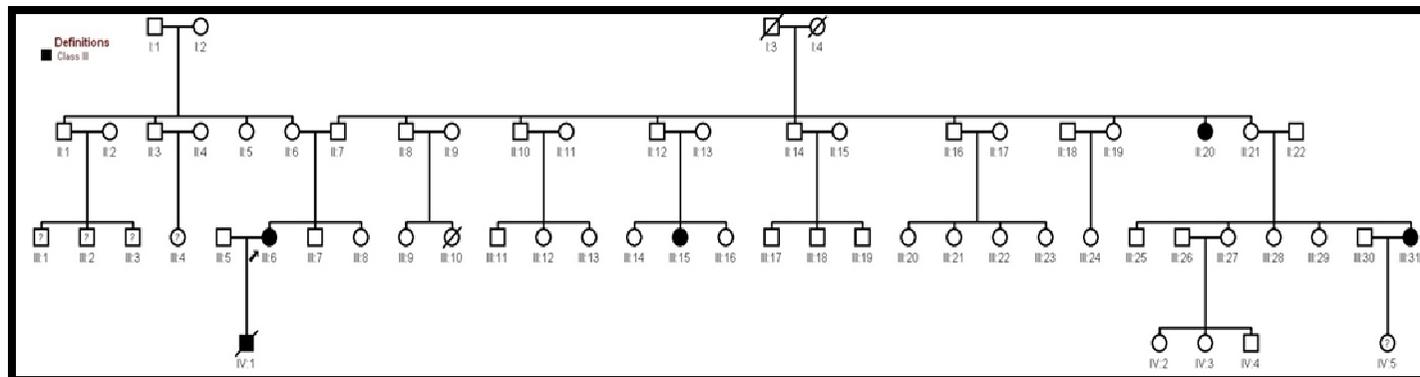
Família 35. Padrão de herança autossômico dominante (I1 e I2 podem estar com informações erradas ou ser com penetrância incompleta).



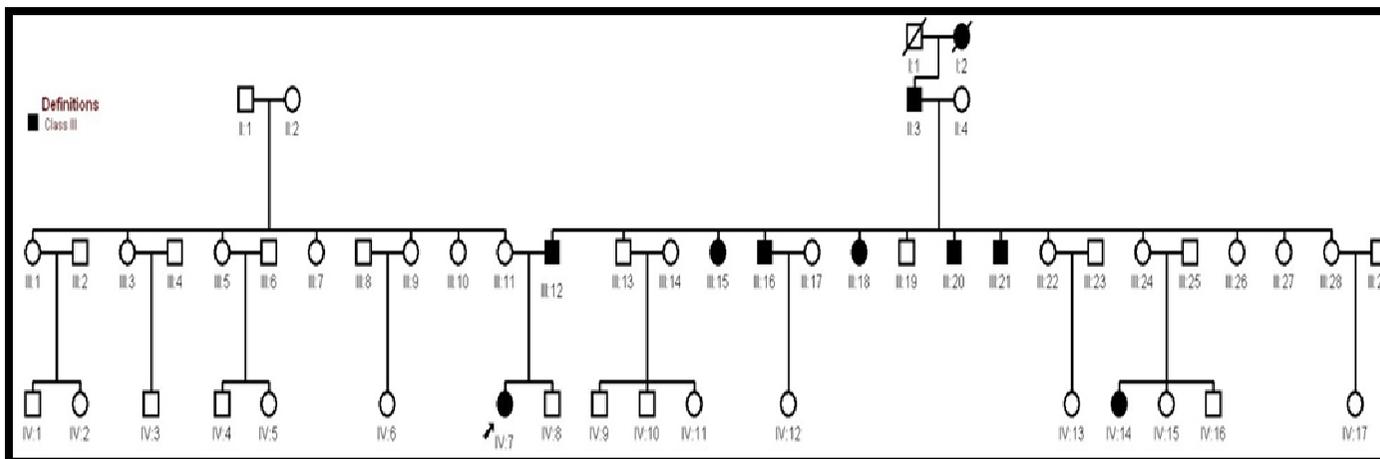
Família 37. Padrão de herança autossômico dominante.



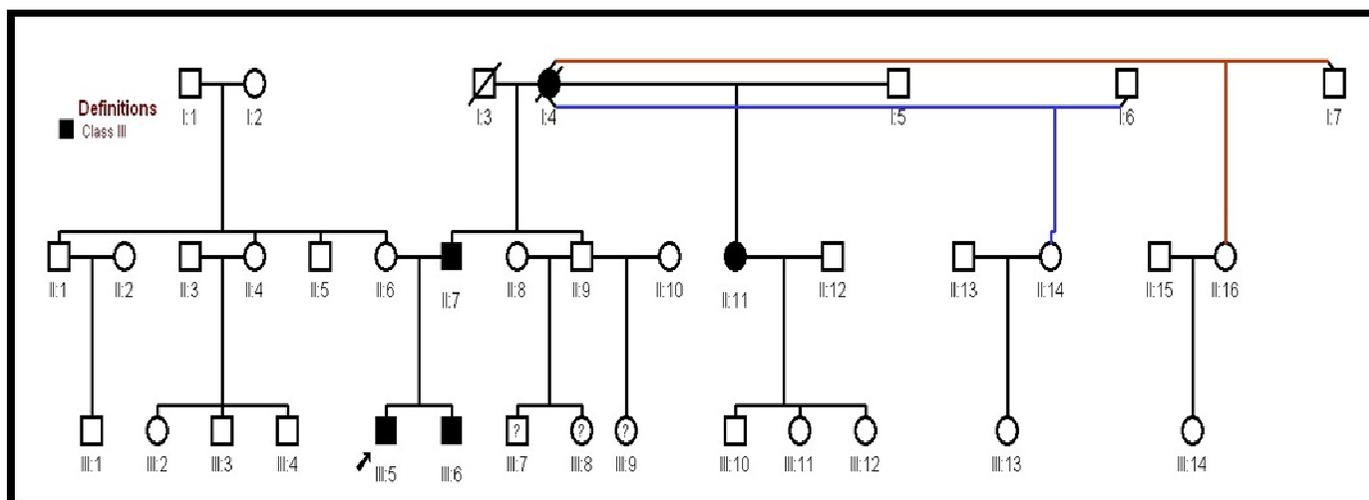
Família 43. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



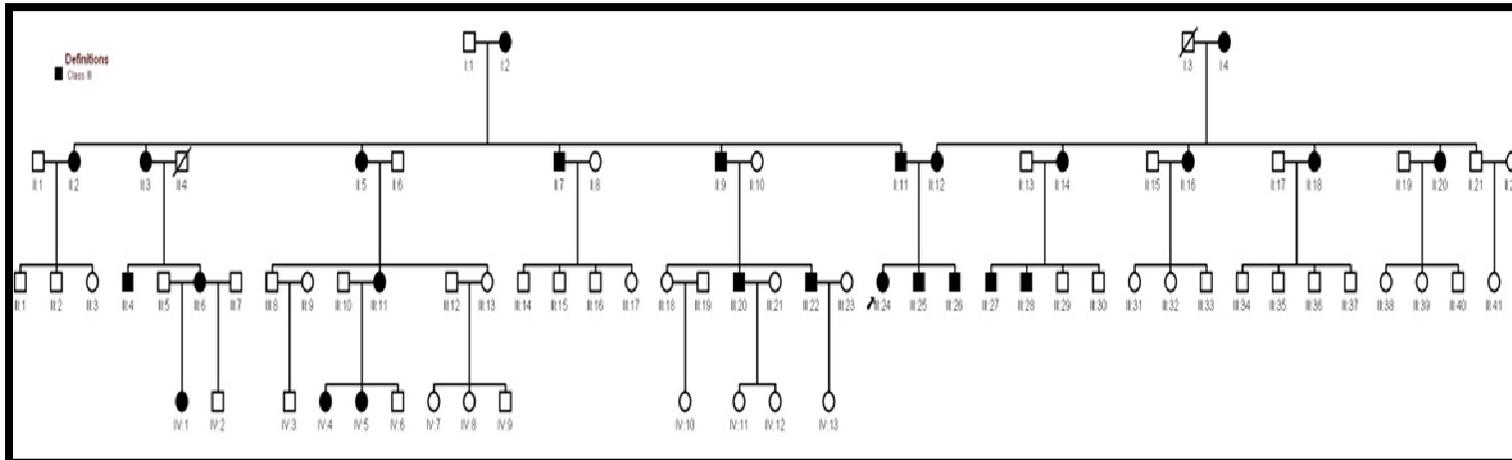
Família 44. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



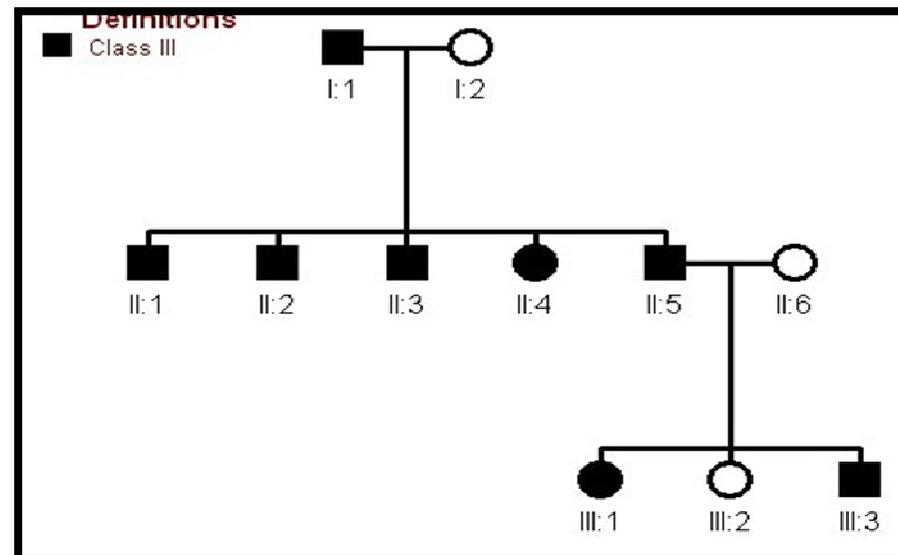
Família 48. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



Família 51. Padrão de herança autossômico dominante.

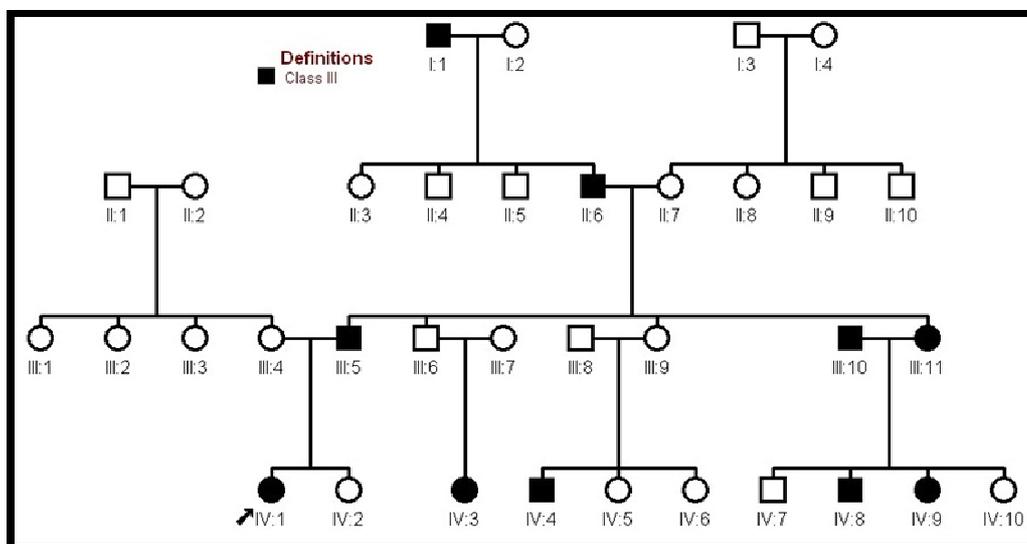


Família 54. Padrão de herança autossômico dominante.

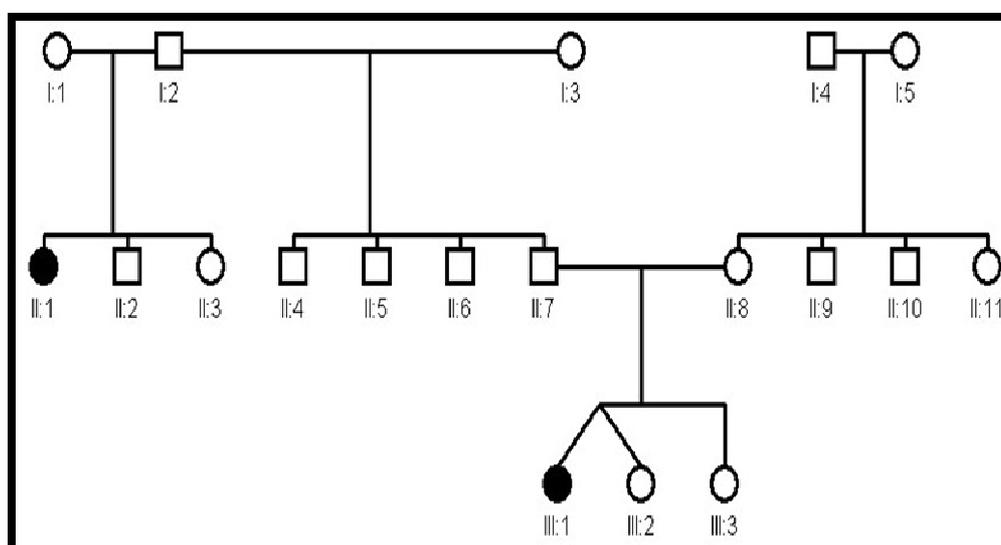


Família 56. Padrão de herança autossômico dominante.

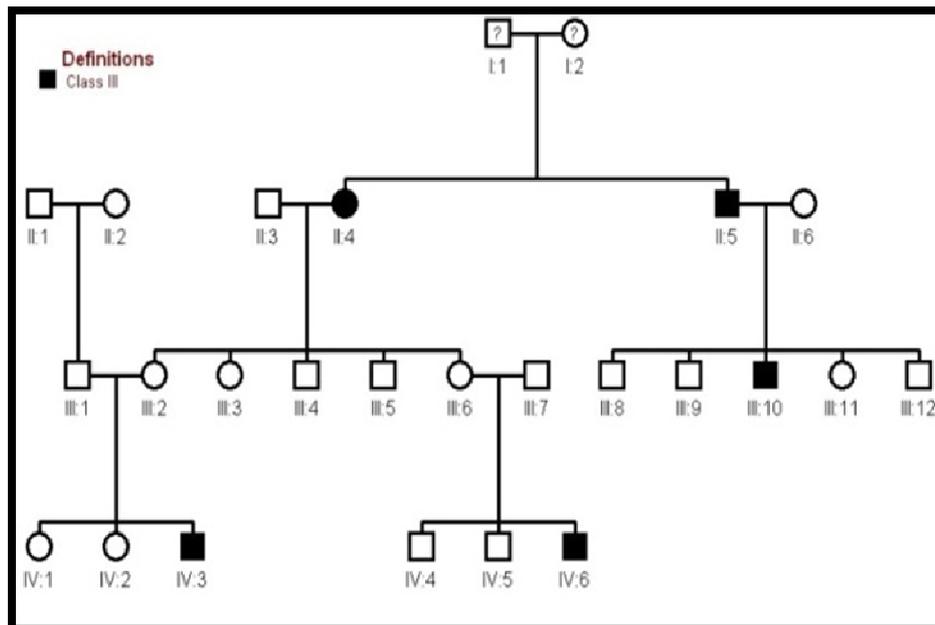
Heredogramas das Famílias Colombianas



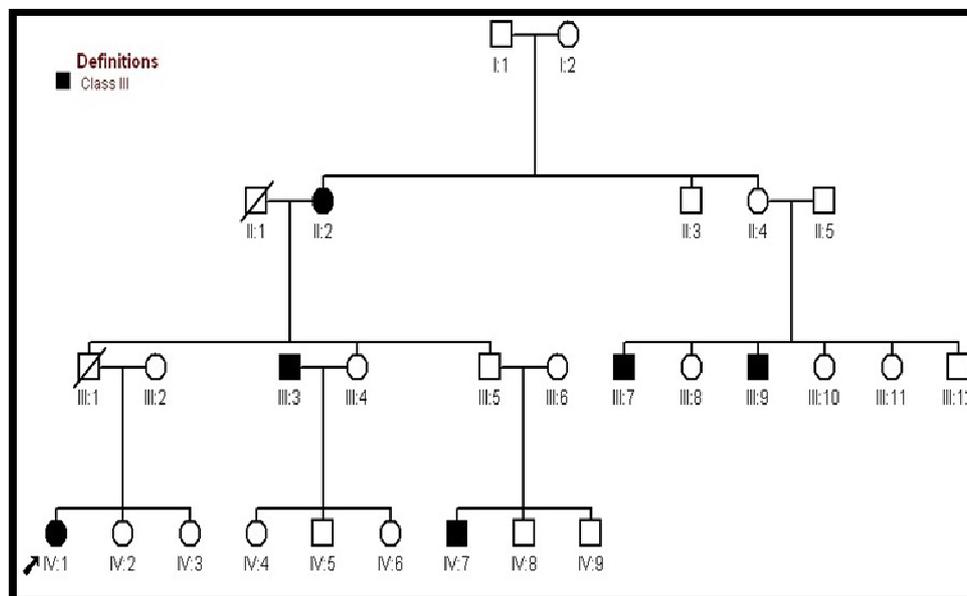
Família 01. Padrão de herança autossômico dominante.



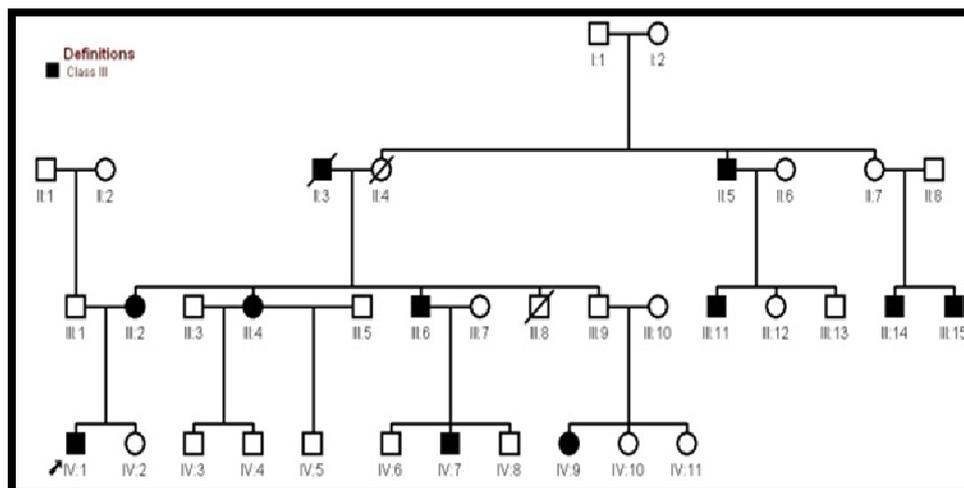
Família 02. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



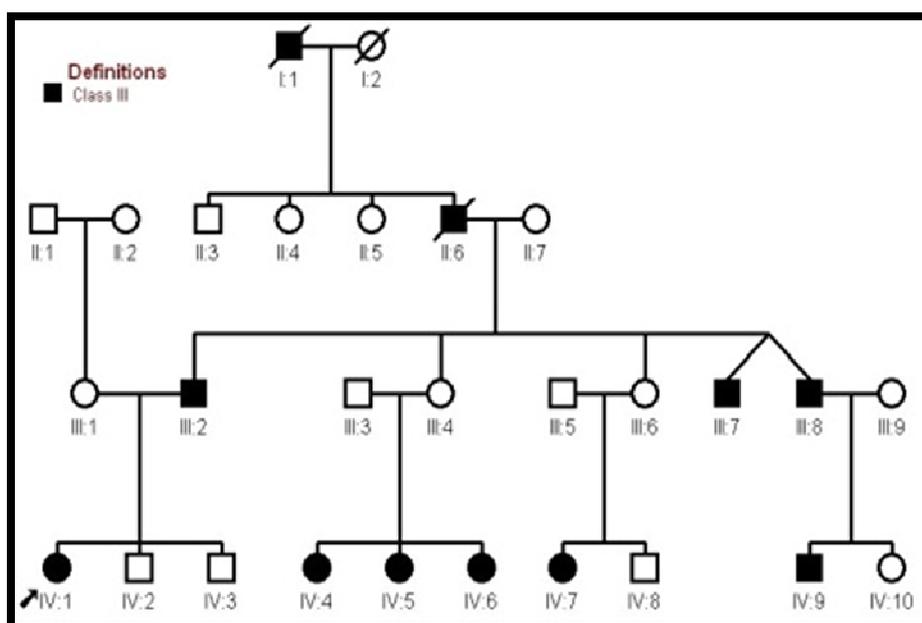
Família 03. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



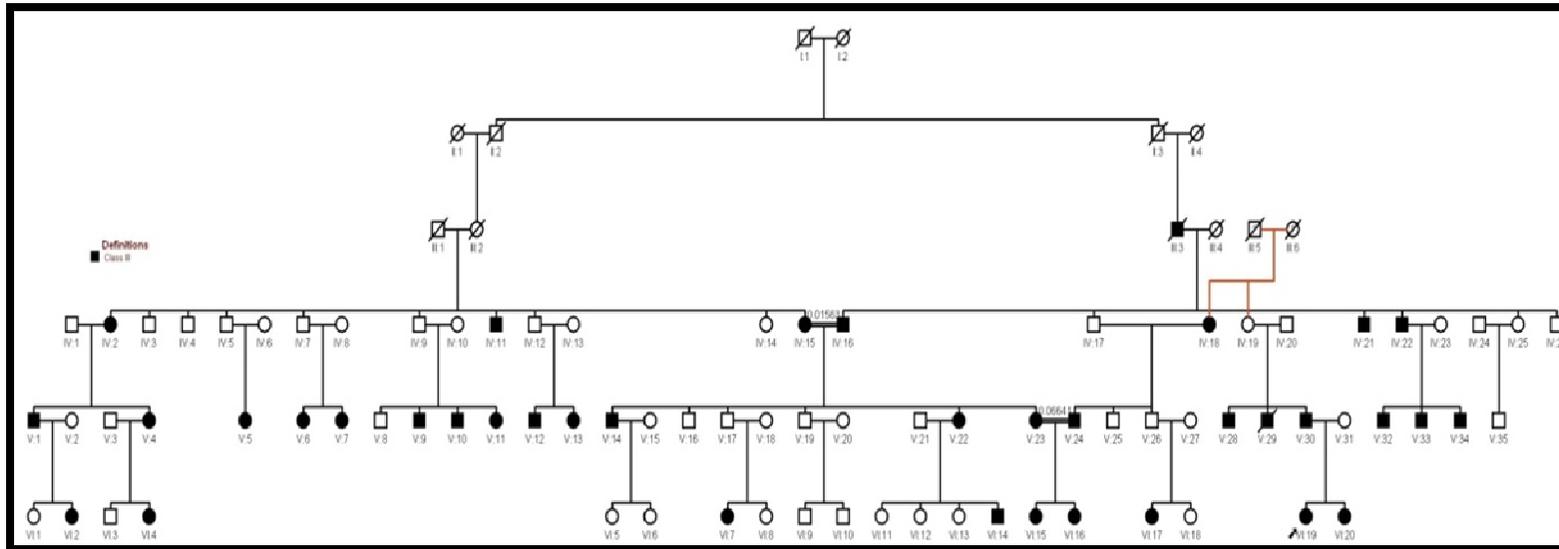
Família 04. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



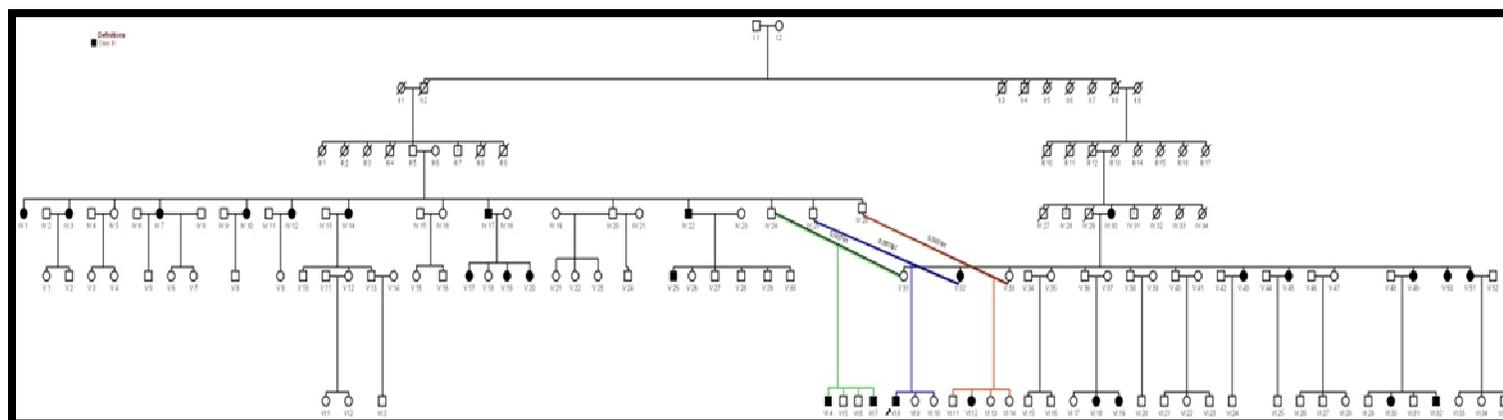
Família 05. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



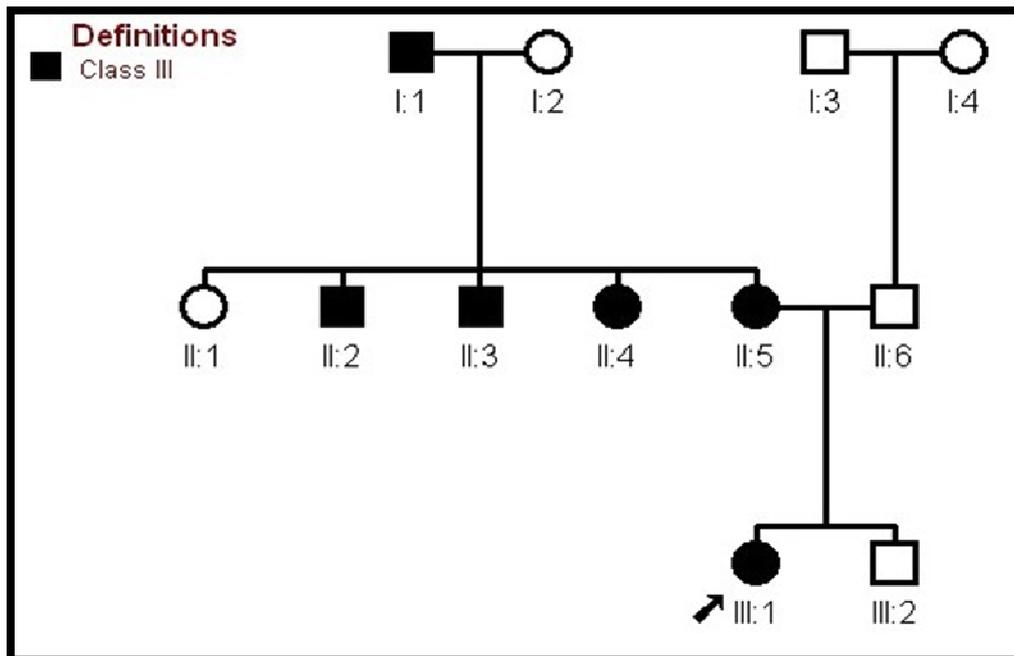
Família 06. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



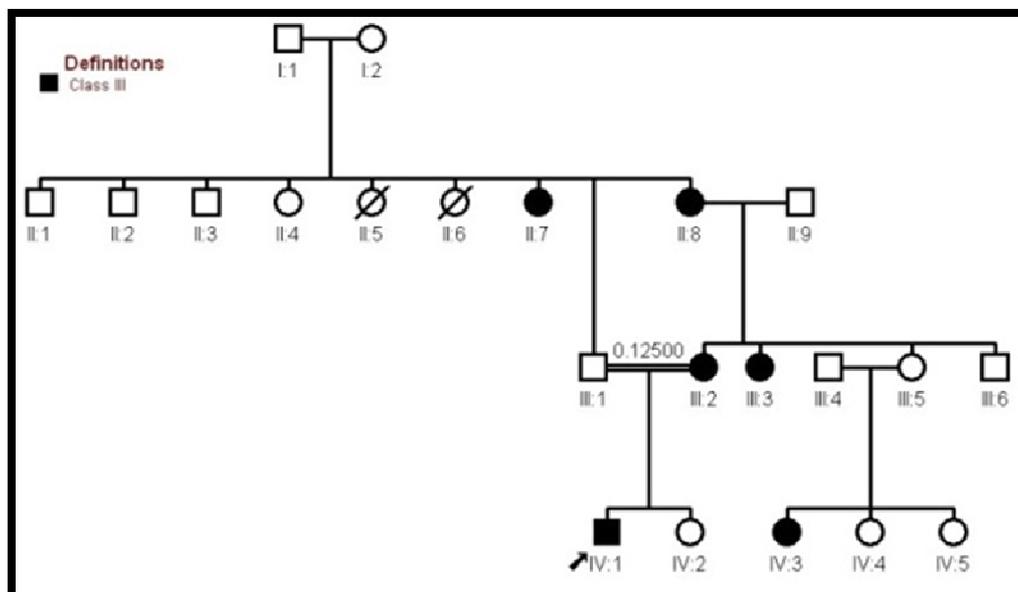
Família 07. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



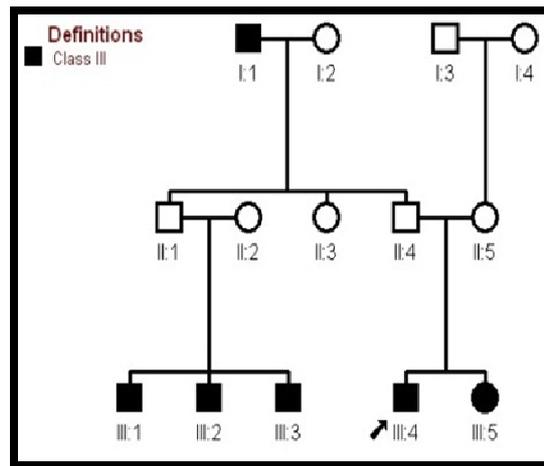
Família 09. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



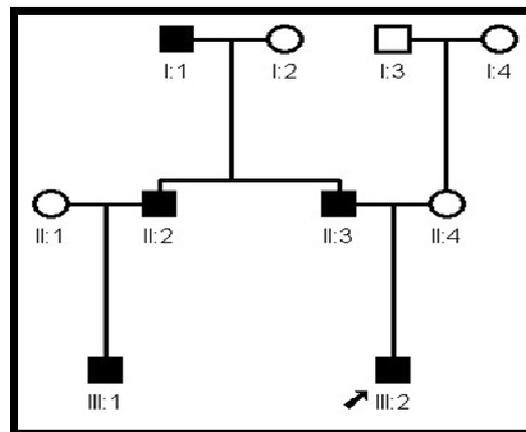
Família 10. Padrão de herança autossômico dominante.



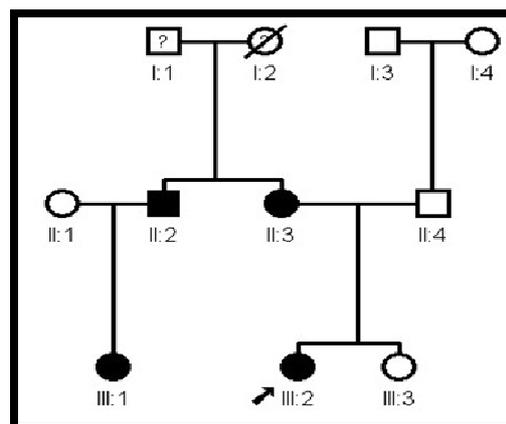
Família 11. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



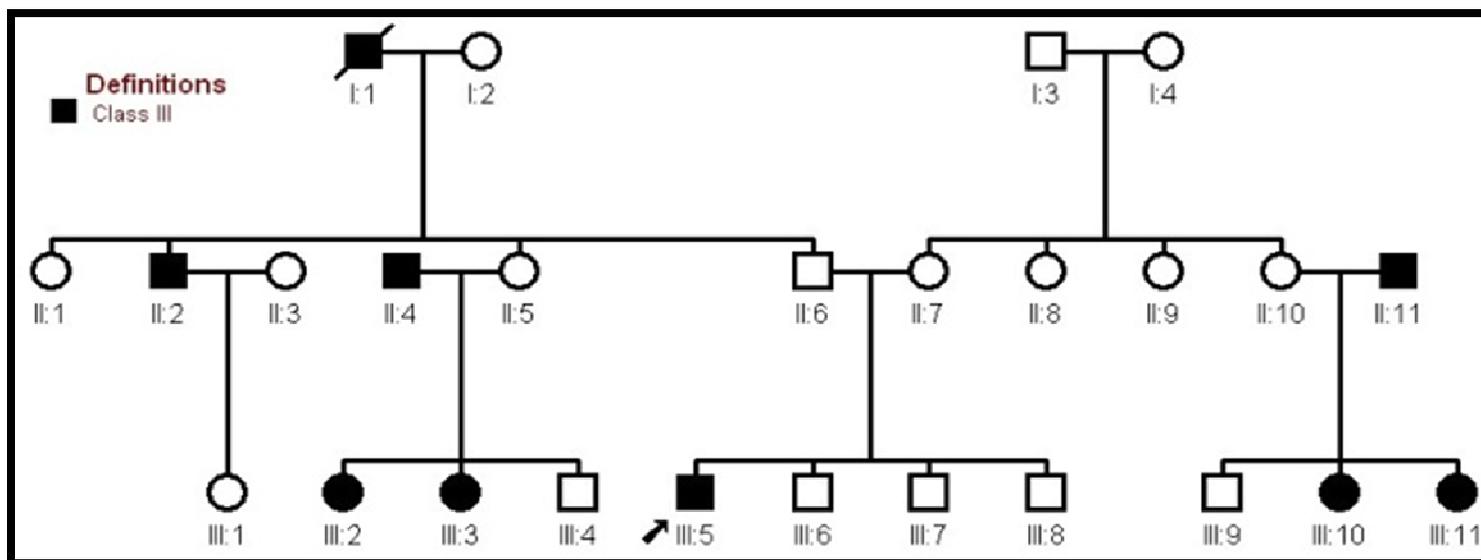
Família 13. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



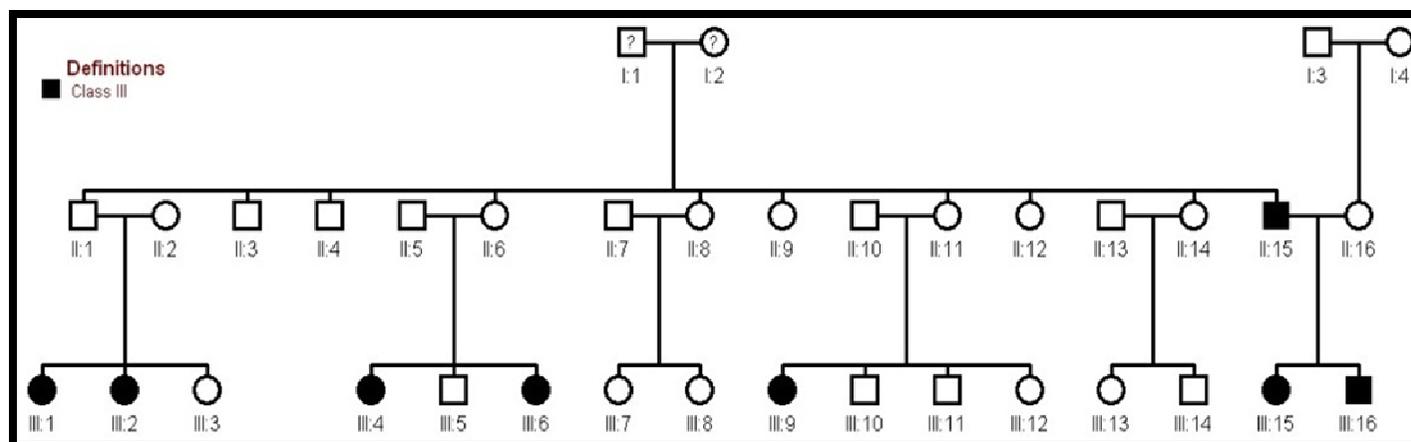
Família 14. Padrão de herança autossômico dominante.



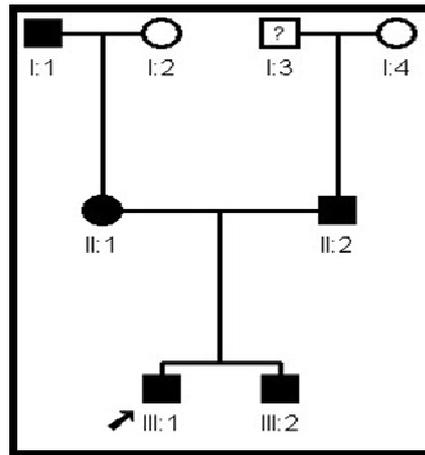
Família 15. Padrão de herança autossômico dominante.



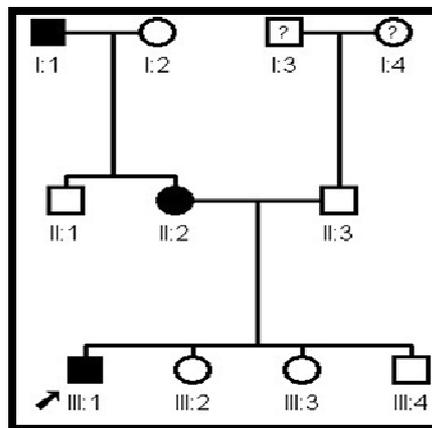
Família 16. Padrão de herança autossômico dominante.



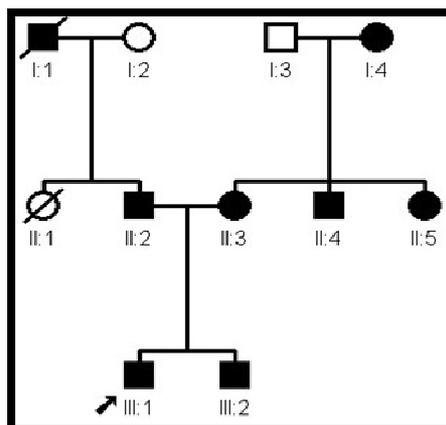
Família 17. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



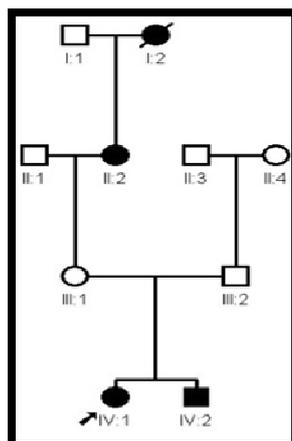
Família 18. Padrão de herança autossômico dominante.



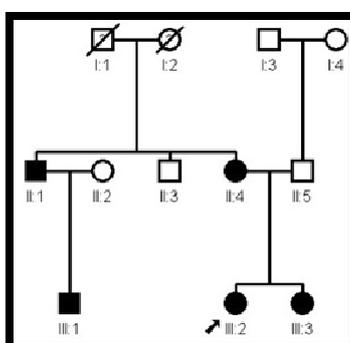
Família 19. Padrão de herança autossômico dominante.



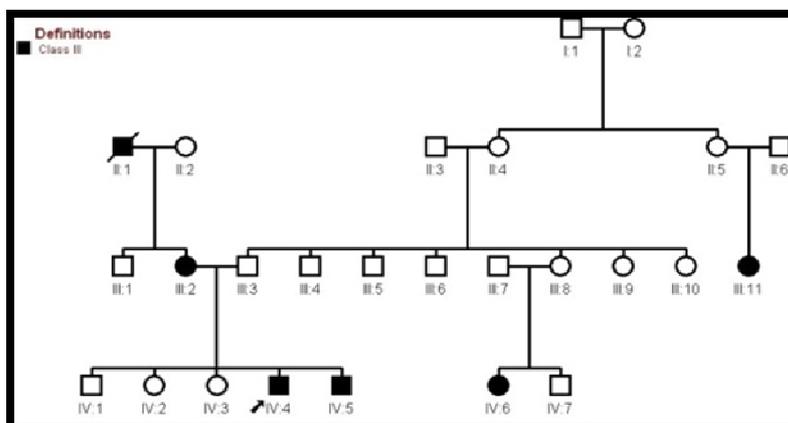
Família 20. Padrão de herança autossômico dominante.



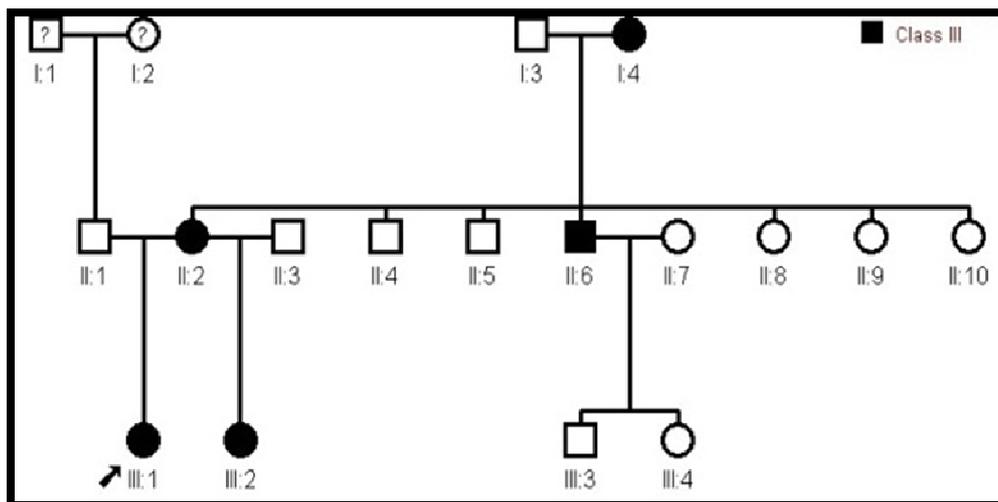
Família 21. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



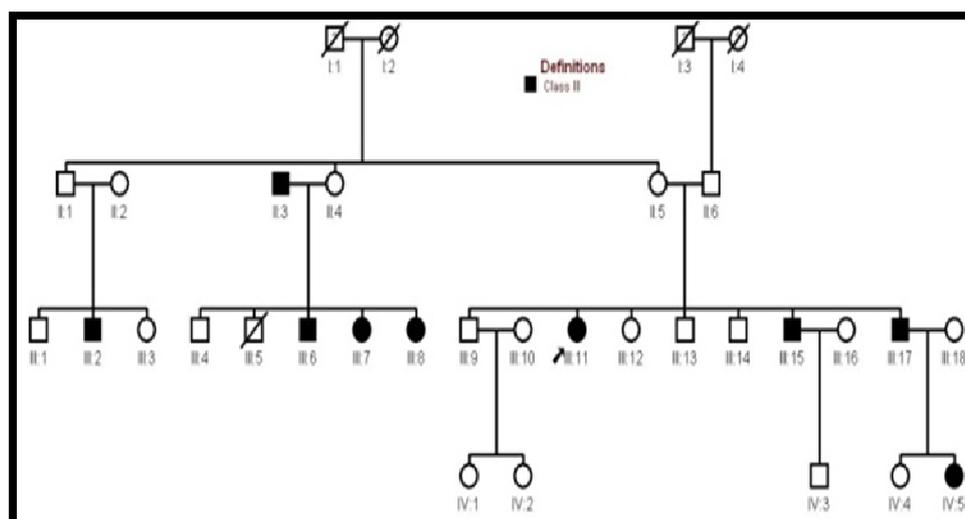
Família 22. Padrão de herança autossômico dominante.



Família 23. Uma família composta de dois ramos, sendo uma com padrão de herança autossômico dominante e outra com padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.



Família 24. Padrão de herança autossômico dominante.



Família 26. Padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta.

8. ANEXO 2

Genes localizados no cromossomo 7 entre os SNPs rs1044701 e rs7800782 segundo o banco de dados da NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/> acessado em fevereiro de 2010).

1. *SDK1 – sidekick homolog 1, cell adhesion molecule (chicken)*

- a. Posição: 3,341,080 – 4,308,632
- b. Tipo de gene: Codificador de Proteína (validado)
- c. Função genética:
 - i. Ligação protéica.
- d. Processos celulares:
 - i. Adesão celular.
- e. Localização:
 - i. Presente na membrana celular.

2. hipotético *LOC730351*

- a. Posição: 4,305,252 – 4,308,632
- b. Tipo de gene: Codificador de Proteína (modelo)

3. hipotético *LOC100288658*

- a. Posição: 4,721,601 – 4,723,482
- b. Tipo de gene: Codificador de Proteína (modelo)

4. *FO XK1 - forkhead box K1*

- a. Posição: 4,721,930 – 4,811,074
- b. Tipo de gene: Codificador de Proteína (validado)
- c. Função genética:
 - i. Ligação sequência-específica ao DNA;
 - ii. Atividade de fator de transcrição.
- d. Processos celulares:
 - i. Diferenciação celular;
 - ii. Desenvolvimento de organismos multicelulares;
 - iii. Desenvolvimento de órgãos musculares;
 - iv. Regulação de transcrição dependente de DNA.
- e. Localização:
 - i. Nucléolo;
 - ii. Núcleo.

5. *SNORD13P2 small nucleolar RNA, C/D box 13 pseudogene 2*

- a. Posição: 4,729,060 – 4,729,264
- b. Tipo de gene: Pseudo (inferido)

6. *KIAA0415*

- a. Posição: 4,815,264 – 4,831,399
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Função genética:
 - i. Proteína LOC9907 não caracterizada.

7. *RADIL, Ras association and DIL domains*

- a. Posição: 4,838,740 – 4,923,335
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Função genética:
 - i. Ligação protéica.
- d. Processos celulares:
 - i. Adesão celular;
 - ii. Desenvolvimento de organismos multicelulares;
 - iii. Transdutor de sinais.

8. *PAPOLB, poly(A) polymerase beta (testis specific)*

- a. Posição: 4,897,369 – 4,901,625
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Função genética:
 - i. Ligação ao ATP;
 - ii. Ligação ao RNA;
 - iii. Ligação à Nucleotídeo;
 - iv. Atividade nucleotidiltransferase;
 - v. Atividade polinucleotídica adeniltransferase;
 - vi. Atividade transferase.
- d. Processos celulares:
 - i. Poliadenilação de RNA;
 - ii. Processamento de mRNA;
 - iii. Transcrição.
- e. Localização:
 - i. Citoplasma;
 - ii. Núcleo.

9. *RPL22P16, ribosomal protein L22 pseudogene 16*

- a. Posição: 4,905,061 – 4,905,433
- b. Tipo de gene: Pseudo (inferido)

10. *MMD2, monocyte to macrophage differentiation-associated 2*

- a. Posição: 4,945,620 – 4,998,844
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Atividade receptora.
- d. Processos celulares:
 - i. Citólise.

- e. Localização:
 - i. Membrana celular.

11. *RNF216L, ring finger protein 216-like*

- a. Posição: 5,013,616 – 5,037,800
- b. Tipo de gene: Pseudo (validado)

12. hipotético *LOC100130307*

- a. Posição: 5,071,239 – 5,077,462
- b. Tipo de gene: Pseudo (modelo). Similar ao *Speedy Homolog A* → ligante de quinase; participa no ciclo celular

13. *RBAK, RB-associated KRAB zinc finger*

- a. Posição: 5,085,553 – 5,109,119
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (revisado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação a metais iônicos;
 - ii. Ligação a ácidos nucléicos;
 - iii. Atividade repressora de transcrição;
 - iv. Ligação ao íon zinco.
- d. Processos celulares:
 - i. Regulação de transcrição dependente de DNA.
- e. Localização:
 - i. Intracelular;
 - ii. Núcleo.

14. hipotético *LOC389458*

- a. Posição: 5,111,738 – 5,112,854
- b. Tipo de gene: miscRNA (validado)

15. *OR10AH1P, olfactory receptor, family 10, subfamily AH, member 1 pseudogene*

- a. Posição: 5,156,620 – 5,157,818
- b. Tipo de gene: Pseudo (inferido)

16. *hCG_1786132, hipotético LOC645700*

- a. Posição: 5,161,203 – 5,184,177
- b. Tipo de gene: desconhecido (modelo)

17. *WIP12, WD repeat domain, phosphoinositide interacting 2*

- a. Posição: 5,229,835 – 5,273,486
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Localização:
 - i. Complexo protéico.

18. SLC29A4, solute carrier family 29 (nucleoside transporters), member 4

- a. Posição: 5,322,561 – 5,343,704
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (revisado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Atividade transportador transmembrana de nucleosídeos.
- d. Processos celulares:
 - i. Transporte.
- e. Localização:
 - i. Integrante da membrana plasmática.

19. TNRC18, trinucleotide repeat containing 18

- a. Posição: 5,346,421 – 5,463,177
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (provisório)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligante ao DNA

20. hipotético LOC100133305

- a. Posição: 5,415,620 – 5,463,724
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (modelo)

21. hipotético LOC100129484

- a. Posição: 5,467,214 – 5,469,243
- b. Tipo de gene: desconhecido (modelo)

22. FBXL18, F-box and leucine-rich repeat protein 18

- a. Posição: 5,515,428 – 5,553,399
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Processos celulares:
 - i. Processo catabólico de modificação de proteína.

23. MIR589, microRNA 589

- a. Posição: 5,535,450 – 5,535,548
- b. Tipo de gene: miscRNA (provisório)

24. ACTB actin, beta

- a. Posição: 5,566,779 – 5,570,232
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (revisado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação ao ATP;
 - ii. Ligação a *Kinesin*;
 - iii. Síntese de óxido nítrico
 - iv. Ligação a nucleotídeo;
 - v. Ligação a proteína;
 - vi. Ligação a proteína quinase;

- vii. Constituinte estrutural do citoesqueleto.
- d. Processos celulares:
 - i. Formação dos axônios;
 - ii. Componente do movimento celular.
- e. Localização:
 - i. Complexo MLL5-L;
 - ii. Complexo histona NuA4 acetiltransferase;
 - iii. Axônio;
 - iv. Citoesqueleto cortical;
 - v. Citoplasma;
 - vi. Complexo protéico;
 - vii. Complexo ribonucleoproteico;
 - viii. Fração solúvel.

25. hipotético *LOC100288712*

- a. Posição: 5,569,807 – 5,600,688
- b. Tipo de gene: Pseudo (modelo)

26. hipotético *LOC100288744*

- a. Posição: 5,632,246 – 5,635,063
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (modelo)

27. *FSCN1, fascin homolog 1, actin-bundling protein (Strongylocentrotus purpuratus)*

- a. Posição: 5,632,454 – 5,646,286
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação ao filamento de actina;
 - ii. Ligação a proteína (ponte).
- d. Processos celulares:
 - i. Organização do citoesqueleto;
 - ii. Montagem do filamento de actina;
 - iii. Proliferação celular.
- e. Localização:
 - i. Citoesqueleto de actina
 - ii. Citoplasma
 - iii. *Filopodium*
 - iv. Membrana plasmática

28. hipotético *LOC100287342*

- a. Posição: 5,643,492 – 5,646,286
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (modelo)

29. *RNF216, ring finger protein 216*

- a. Posição: 5,659,678 – 5,821,292

- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (revisado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Atividade de ligase;
 - ii. Ligação de metal iônico;
 - iii. Ligação a proteína;
 - iv. Ligação ao íon zinco.
- d. Processos celulares:
 - i. Apoptose;
 - ii. Interações entre organismos inter-espécies;
 - iii. Processo catabólico de modificação de proteína.
- e. Localização:
 - i. Citoplasma;
 - ii. Núcleo.

30. *ZNF815, zinc finger protein 815*

- a. Posição: 5,862,791 – 5,894,066
- b. Tipo de gene: Pseudo (validado)

31. *OCM, oncomodulin*

- a. Posição: 5,920,429 – 5,925,994
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação ao íon cálcio.
- d. Processos celulares:
 - i. Processos biológicos.
- e. Localização:
 - i. Componente celular.

32. *C7orf28A, chromosome 7 open reading frame 28A*

- a. Posição: 5,938,341 – 5,965,605
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
 - i. Proteína hipotética *LOC51622*

33. *RSPH10B, radial spoke head 10 homolog B (Chlamydomonas)*

- a. Posição: 5,965,777 – 6,010,314
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)

34. *PMS2, postmeiotic segregation increased 2 (S. cerevisiae)*

- a. Posição: 6,012,870 – 6,048,737
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (revisado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação ao ATP;
 - ii. Ligação ao DNA;
 - iii. Ligação ao MutSalpa complexo;

- iv. Atividade endonuclease;
 - v. Atividade hidrolase;
 - vi. Ligação ao DNA *mismatched*;
 - vii. Ligação a proteína;
 - viii. Ligação a inserção ou deleção de única base;
 - ix. Ligação a fita única de DNA.
- d. Processos celulares:
- i. Reparação de *mismatch*;
 - ii. Resposta a danos no DNA
 - iii. Hipermutação somática de genes da imunoglobulina;
 - iv. Recombinação somática de segmentos dos genes da imunoglobulina.
- e. Localização:
- i. Complexo MutLalpha;
 - ii. Núcleo.

35. AIMP2, aminoacyl tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein 2

- a. Posição: 6,048,882 – 6,063,465
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação a proteínas.
- d. Processos celulares:
 - i. Apoptose;
 - ii. Diferenciação celular;
 - iii. Desenvolvimento de organismos multicelulares;
 - iv. Tradução.
- e. Localização:
 - i. Citoplasma;
 - ii. Citosol;
 - iii. Núcleo.

36. EIF2AK1, eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 1

- a. Posição: 6,061,878 – 6,098,860
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (revisado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação ao ATP;
 - ii. Atividade de fator de tradução quinase 2alpha;
 - iii. Ligação ao grupo heme;
 - iv. Ligação a nucleotídeo;
 - v. Atividade homodimerização;
 - vi. Transferase
- d. Processos celulares:
 - i. Regulação negativa de proliferação celular;
 - ii. Regulação negativa de processo biosintético da hemoglobina;
 - iii. Regulação negativa de tradução;

- iv. Regulação negativa de tradução iniciado por ferro;
- v. Resposta a estímulos externos;
- vi. Resposta ao estresse.
- e. Localização:
 - i. Citoplasma.

37. *USP42, ubiquitin specific peptidase 42*

- a. Posição: 6,144,550 – 6,201,195
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Atividade peptidase;
 - ii. Atividade ubiquitinase tiolesterase.
- d. Processos celulares:
 - i. Processo catabólico de ubiquitinação de proteína.

38. *CYTH3, cytohesin 3*

- a. Posição: 6,201,410 – 6,312,242
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (revisado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação ao fosfatidilinositol;
 - ii. Ligação a proteína;
 - iii. Atividade de receptor do inositol;
- d. Processos celulares:
 - i. Participa na regulação positiva da adesão celular;
 - ii. Regulação do sinal de tradução de proteínas ARF
 - iii. Transporte mediado por vesícula.
- e. Localização:
 - i. Citoplasma;
 - ii. Intracelular;
 - iii. Fração da membrana;
 - iv. Membrana plasmática.

39. *C7orf70, chromosome 7 open reading frame 70*

- a. Posição: 6,369,040 – 6,388,590
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)

40. *RAC1, ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 (rho family, small GTP binding protein Rac1)*

- a. Posição: 6,414,126 – 6,443,598
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (revisado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação ao GTP;
 - ii. Ligação a protein dependente de GTP;
 - iii. Atividade GTPase;

- iv. Ligação a enzima;
- v. Ligação a nucleotídeo.
- d. Processos celulares:
 - i. Polimerização do filamento de actina;
 - ii. Morfogênese de estruturas anatómicas;
 - iii. Apoptose;
 - iv. Adesão celular;
 - v. Componente do movimento celular;
 - vi. Indução de apoptose por sinalização extracelular;
 - vii. Resposta inflamatória;
 - viii. Regulação negativa de endocitose mediada por receptores;
 - ix. Regulação positiva da proteína Rho de transdução de sinais;
- e. Localização:
 - i. Citosol;
 - ii. Intracelular;
 - iii. Melanossoma;
 - iv. Membrana plasmática.

41. DAGLB, diacylglycerol lipase, beta

- a. Posição: 6,448,747 – 6,487,643
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação ao íon cálcio;
 - ii. Atividade de hidrolase;
 - iii. Atividade triglicérido lipase.
- d. Processos celulares:
 - i. Processo catabólico do lipídio.
- e. Localização:
 - i. Membrana plasmática.

42. KDELR2, KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor 2

- a. Posição: 6,500,712 – 6,523,849
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (revisado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação a sequência KDEL;
 - ii. Ligação a proteína;
 - iii. Atividade de receptor.
- d. Processos celulares:
 - i. Transporte de proteína intracelular;
 - ii. Retenção de proteína na lumen do retículo endoplasmático rugoso;
 - iii. Transporte mediado por vesícula
- e. Localização:
 - i. Complexo de Golgi;

- ii. Retículo endoplasmático e sua membrana;
- iii. Membrana Plasmática.

43. RPL31P34, ribosomal protein L31 pseudogene 34

- a. Posição: 6,530,372 – 6,530,732
- b. Tipo de gene: pseudo (inferido)

44. GRID2IP, glutamate receptor, ionotropic, delta 2 (Grid2) interacting protein

- a. Posição: 6,536,409 – 6,591,067
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação a actina;
 - ii. Ligação a proteína.
- d. Processos celulares:
 - i. Organização do citoesqueleto de actina;
 - ii. Organização dos componentes celulares.
- e. Localização:
 - i. Junção celular;
 - ii. Membrana plasmática;
 - iii. Membrana pós-sinapse;
 - iv. Sinapse e sinaptosoma.

45. ZDHHC4, zinc finger, DHHC-type containing 4

- a. Posição: 6,617,065 – 6,628,610
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Atividade acetiltransferase;
 - ii. Ligação a metais iônicos;
 - iii. Atividade transferase;
 - iv. Ligação ao íon zinco.
- d. Localização:
 - i. Membrana plasmática.

46. C7orf26, chromosome 7 open reading frame 26

- a. Posição: 6,629,915 – 6,648,355
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (predita)
 - i. Proteína hipotética *LOC79034*

47. ZNF853, zinc finger protein 853

- a. Posição: 6,655,527 – 6,663,921
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (provisório)

48. ZNF316, zinc finger protein 316

- a. Posição: 6,681,537 – 6,694,242

- b. Tipo de gene: desconhecido (modelo)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação ao DNA;
 - ii. Ligação a metais iônicos;
 - iii. Ligação ao íon zinco.
- d. Processos celulares:
 - i. Regulação de transcrição dependente de DNA.
- e. Localização:
 - i. Intracelular;
 - ii. Núcleo.

49. hipotético *LOC100133111*,

- a. Posição: 6,703,506 – 6,716,133
- b. Tipo de gene: pseudo (modelo) similar to zinc finger protein 11B

50. *ZNF12, zinc finger protein 12*

- a. Posição: 6,728,064 – 6,746,566
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (revisado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação ao DNA;
 - ii. Ligação a metais iônicos;
 - iii. Ligação ao íon zinco.
- d. Processos celulares:
 - i. Regulação de transcrição dependente de DNA.
- e. Localização:
 - i. Intracelular;
 - ii. Núcleo.

51. hipotético *LOC100130530*,

- a. Posição: 6,755,261 – 6,761,679
- b. Tipo de gene: pseudo (modelo) similar to speedy homolog A

52. hipotético *LOC100288876*

- a. Posição: 6,769,391 – 6,771,581
- b. Tipo de gene: pseudo (modelo)

53. *PMS2CL, PMS2 C-terminal like pseudogene*

- a. Posição: 6,774,936 – 6,791,232
- b. Tipo de gene: pseudo (provisório)
- c. Funções genéticas:
 - i. Ligação ao ATP;
 - ii. Ligação ao DNA *mismatched*.
- d. Processos celulares:
 - i. Reparo de *mismatch*;

- ii. Resposta a danos no DNA;
 - iii. Hipermutação somática dos genes da imunoglobulina;
 - iv. Recombinação somática de segmentos dos genes da imunoglobulina.
- e. Localização:
- i. Complexo MutLalpha.

54. *RSPH10B2, radial spoke head 10 homolog B2 (Chlamydomonas)*

- a. Posição: 6,793,740 – 6,838,396
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (provisório)

55. *C7orf28B, chromosome 7 open reading frame 28B*

- a. Posição: 6,838,572 – 6,865,861
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (predita)

56. *OR7E39P, olfactory receptor, family 7, subfamily E, member 39 pseudogene*

- a. Posição: 6,874,454 – 6,875,425
- b. Tipo de gene: pseudo (inferido)

57. *OR7E136P, olfactory receptor, family 7, subfamily E, member 136 pseudogene*

- a. Posição: 6,906,287 – 6,907,253
- b. Tipo de gene: pseudo (inferido)

58. *OR7E59P, olfactory receptor, family 7, subfamily E, member 59 pseudogene*

- a. Posição: 6,919,253 – 6,920,211
- b. Tipo de gene: pseudo (inferido)

59. hipotético *LOC100130527*

- a. Posição: 6,928,031 – 6,928,357
- b. Tipo de gene: pseudo (modelo)

60. hipotético *LOC647415*

- a. Posição: 6,963,443 – 6,971,462
- b. Tipo de gene: pseudo (inferido) semelhante ao *asparagine-linked glycosylation 1 homolog pseudogene*

61. hipotético *LOC641924*

- a. Posição: 6,970,611 – 6,979,244
- b. Tipo de gene: pseudo (inferido) semelhante *family with sequence similarity 86, member A pseudogene*

62. hipotético *LOC100128349*

- a. Posição: 6,982,902 – 6,983,075
- b. Tipo de gene: pseudo (modelo)

63. hipotético LOC100131257

- a. Posição: 7,117,926 – 7,141,265
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (modelo) semelhante ao *hCG19534*

64. CIGALT1, core 1 synthase, glycoprotein-N-acetylgalactosamine 3-beta-galactosyltransferase, 1

- a. Posição: 7,222,246 – 7,283,981
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Atividade *glycoprotein-N-acetylgalactosamine 3-beta-galactosyltransferase*;
 - ii. Ligação ao íon magnésio;
 - iii. Atividade transferase (grupos glicosil).
- d. Processos celulares:
 - i. Angiogênese;
 - ii. Diferenciação celular;
 - iii. Desenvolvimento do rim;
 - iv. Desenvolvimento de organismos multicelulares.
- e. Localização:
 - i. Presente na membrane.

65. COL28A1, collagen, type XXVIII, alpha 1

- a. Posição: 7,398,244 – 7,575,460
- b. Tipo de gene: Codificador de proteína (validado)
- c. Funções genéticas:
 - i. Atividade inibidora de peptidase;
 - ii. Ligação a proteína.
- d. Processos celulares:
 - i. Adesão celular.
- e. Localização:
 - i. Membrana, parte basal;
 - ii. Região extracelular