

## ***I. Introdução.***



# 1. O GENOMA HUMANO

O genoma humano é constituído, essencialmente, pelo Ácido Desoxirribonucleico (ADN ou DNA). O Ácido Desoxirribonucleico, vulgarmente designado por ADN, é uma molécula complexa que contém toda a informação genética de determinado organismo. Esta molécula constitui o material hereditário de qualquer ser, sendo que parte dela é transmitida à geração seguinte e o modo de transmissão depende do ser vivo em questão.

Inicialmente, os cientistas consideravam que o “papel” do componente genético pertencia apenas às proteínas devido à sua complexidade. O ADN só foi aceite como o material genético dos seres vivos após as investigações realizadas por Frederick Griffith e, posteriormente, Oswald Avery, C. M. Macleod e M. McCarty. Contudo, mesmo antes da estrutura desta molécula ter sido determinada por James Watson e Francis Crick, em 1953, já Mendel, no século XIX, havia descrito os genes como factores hereditários que seriam responsáveis pelas diferentes características dos diversos organismos. Os genes controlariam a estrutura das proteínas e estariam organizados em cromossomas, que consistiam em ADN e proteínas (Watson J D & Crick F H C, 1953 a; Watson J D & Crick F H C 1953 b; Suzuki D T, *et al*, 1989).

Os Ácidos Nucleicos, isolados há mais de cem anos, são substâncias acídicas que se encontram presentes no núcleo das células (Carey A F, 1996). Durante vários anos considerou-se que o ADN se localizava somente no núcleo, exceptuando-se o das bactérias, encontrando-se organizado em cromossomas (organismos eucariotas). Contudo, o peculiar modo de hereditariedade de alguns genes, nos eucariotas, somente poderia ser explicado através duma localização citoplasmática dos mesmos. Posteriormente, estes genes “extra nucleares” foram encontrados nas mitocôndrias e nos cloroplastos das plantas verdes (Purves, *et al*, 2001; Suzuki D T, *et al*, 1989).

O ADN humano pode ser classificado quanto à sua localização em dois grandes grupos: o ADN nuclear – autossômico, cromossoma X e cromossoma Y – e o ADN mitocondrial. Pode apresentar hereditariedade mendeliana (ADN autossômico e cromossoma X) ou de linhagem, materna (ADN mitocondrial) ou paterna (cromossoma Y). A molécula de ADN pode apresentar tamanho e configuração variável e ser dividida em dois tipos de regiões, codificantes e não – codificantes, conforme possua ou não informação que codifique proteínas. Na Tabela I.1 estão resumidas as principais características e diferenças dos vários tipos de genomas presentes no ser humano (adaptada de Salas A., 1999).

**Tabela I.1** – Características do ADN nuclear (autossômico e cromossoma X), do cromossoma Y e do ADN mitocondrial (adaptada de Salas A., 1999).

	<b>ADN Nuclear</b>	<b>ADN Mitocondrial</b>	<b>Cromossoma Y</b>
<i>Tamanho</i>	3000 MB	16,6 MB	60 MB
<i>N.º moléculas diferentes</i>	23 (XX) ou 24 (XY)	1	1
<i>Tipo de molécula</i>	Linear (cromossomas)	Circular	Linear
<i>Nº genes</i>	~65000-80000	37	?
<i>Densidade de genes</i>	~1 / 40 kb	1 / 0,45 kb	?
<i>ADN não codificante</i>	Abundante	Raro	Abundante
<i>Recombinação</i>	Sim	Não	Não (excepto zonas pseudo-somáticas)
<i>Hereditariedade</i>	Mendeliana* (Autossômico e Cromossoma X)	Materna	Paterna
<i>Transmissão</i>	Com recombinação	Em bloco	Em bloco
<i>Taxa de mutação</i>	Baixa	Alta	Baixa
<i>Tipos de polimorfismos</i>	Variáveis	Sequência (a maioria)	Variáveis

\* **Nota:** Hereditariedade mendeliana consiste na herança por parte do filho de metade do genoma paterno e metade do genoma materno.

## 2. O ADN MITOCONDRIAL

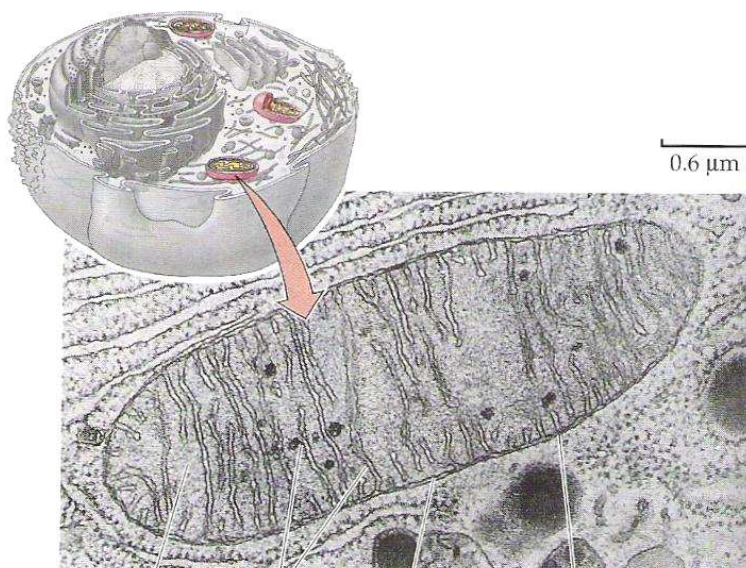
Os polimorfismos do ADN humano tiveram um grande impacto no campo das ciências forenses e da antropologia molecular. De início, o estudo dos polimorfismos do ADN baseava-se essencialmente na análise de marcadores nucleares. O que se deve ao facto de inicialmente se considerar que os genes se encontravam restritos ao genoma nuclear. No entanto, como já foi referido, o modo particular de hereditariedade de alguns genes induziu a uma localização citoplasmática dos mesmos. Consequentemente, o interesse por este genoma extranuclear, que se encontra nas mitocôndrias (ADN mitocondrial), cresceu consideravelmente nos últimos anos devido às suas particularidades que o distinguem do ADN nuclear.

O ADN mitocondrial (ADN mt), pelas suas características, apresenta-se como um marcador com múltiplas aplicações no campo da Genética Forense. Possui hereditariedade citoplasmática (não sofre recombinação), acumula com relativa rapidez mutações e existe em milhares de cópias por célula, podendo permitir o estudo de material biológico em estado de degradação ou em quantidade insuficiente para ser estudado por marcadores nucleares.

No contexto antropológico, o ADN mt é um marcador ideal para o estudo evolutivo das populações humanas devido, essencialmente, à sua elevada taxa mutacional quando comparado com o genoma nuclear e a ausência aparente de recombinação. A molécula de ADN mt possui, assim, um registo da história das populações e dos seus movimentos migratórios durante os últimos 200 000 – 100 000 anos (Purves, *et al*, 2001; Salas A, 1999).

## A Mitocôndria – Função e biogénese

A Mitocôndria é um organelo celular bem distinto, delimitado por duas membranas, pequeno (cerca de 1,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro por 2-8  $\mu\text{m}$  de comprimento) existente na maioria das células eucariotas onde ocorre, em condições aeróbias, a respiração e formação de energia (Purves, *et al*, 2001; Azevedo C, 1999; Stryer L; 1995; Brock, *et al*, 1994). A principal função da mitocôndria é a produção de energia através da fosforilação oxidativa, convertendo a energia química potencial contida em alguns nutrientes em moléculas ricas em energia (adenosina trifosfato, ATP) que a célula pode utilizar. Adicionalmente, verifica-se que contribui também para a síntese de alguns metabolitos celulares, como por exemplo: pirimidinas, aminoácidos, fosfolípidos, nucleótidos e outros (Purves, *et al*, 2001; Attardi G & Schatz G, 1988). Têm aspecto morfológico variável, podendo ocorrer sob diversas formas, como redonda, oval e em bastonete ou filamento, e apresentando variações no seu tamanho, número e distribuição, não só segundo os diferentes tipos de células como também durante o ciclo de vida de uma mesma célula (Fig. I.4). Uma célula humana contém, em média, cerca de 3000 a 5000 destes organelos citoplasmáticos (Azevedo C, 1999).



**Figura I.4** – A mitocôndria (Purves, *et al*, 2001).

As mitocôndrias possuem um sistema genético autônomo e um código genético próprio, diferente do designado por código universal. Contudo a maioria das proteínas presente nestes organelos encontra-se codificada no ADN nuclear, sendo somente algumas codificadas pelo genoma mitocondrial (descrito por Anderson S, *et al*, em 1981, e revisto por Andrews R M, *et al*, em 1999). O genoma mitocondrial apresenta uma grande diversidade de organismo para organismo, ao nível de estrutura, organização e composição genética, modo de expressão e replicação (Azevedo C, 1999; Attardi G & Schatz G, 1988).

O ADN mt dos mamíferos, e consequentemente o humano, é extremamente compacto, excluindo um pequeno segmento próximo do ponto de início da replicação (região controlo ou “D-loop”). Está completamente saturado de genes sem intrões, não contém quase nenhuma região não – codificantes (os genes adjacentes estão unidos ou possuem apenas alguns nucleótidos a separá-los). Estas características marcadamente diferentes das dos genomas eucariotas e aparentadas com as das eubactérias levaram à formulação da Teoria Endossimbionte, apresentada inicialmente por Lynn Margulius. Segundo esta teoria, durante o processo evolutivo, eucariotas primitivos sem capacidade respiratória, terão englobado células procariotas eficientes na capacidade respiratória, estabelecendo-se uma relação de simbiose entre elas, tendo os organismos procariotas perdido a sua autonomia dando origem a organelos, que se revelam agora essenciais para muitos seres eucariotas (Purves, *et al*, 2001; Vogel G, 1997; Anderson S, *et al*, 1981). À luz desta teoria a transferência maciça de genes do organelo para o núcleo terá cessado antes de estar concluída, razão pela qual as mitocôndrias, à semelhança dos cloroplastos, tenham um sistema e código genético próprio (Azevedo C, 1999).

## Genoma mitocondrial humano

Desde 1963 que se sabe que a mitocôndria humana possui o seu próprio genoma, com replicação semi-autônoma (Fig. 1.5). O ADN mitocondrial (ADN mt) humano já foi completamente sequenciado (Anderson S, *et al*, 1981), contém 16569 pares de bases, é uma dupla hélice de forma circular fechada covalentemente, existindo várias cópias por organelo.

Existem duas grandes regiões no ADN mt, a maior, codificante possui informação para 37 das moléculas necessárias para produzir energia, mas, a maioria das funções mitocondriais está codificada no ADN nuclear. Efectivamente, no ADN mt só está especificada a estrutura de 13 proteínas que são subunidades da ATP sintetase e de complexos da cadeia respiratória, 2 ARN's (ácidos ribonucleicos) ribossomais e 22 ARN's de transferência necessários para a produção daquelas subunidades na mitocôndria (Purves, *et al*, 2001; Lodish H, *et al*, 1995; Anderson S, *et al*, 1981).

A distribuição das bases difere nas duas cadeias de ADN mt, sendo a cadeia líder de replicação denominada por “*heavy strain*” (H), pois apresenta maior densidade, por ser mais rica em purinas (nomeadamente Guaninas); a cadeia complementar, composta maioritariamente por pirimidinas (Citosinas, que emparelham com a Guaninas que predominam na cadeia H), é denominada por “*light strain*” (L). Cada cadeia possui um ponto de origem de replicação próprio, separados um do outro por dois terços do genoma (Brock, *et al*, 1994; Anderson S, *et al*, 1981).

A região controlo (não codificante) do ADN mt contém sequências controlo da replicação da cadeia H e transcrição de ambas as cadeias, e tem aproximadamente 1,2kb de comprimento. Esta região, também conhecida como “*D-loop*” (*displacement loop*), por possuir uma cadeia – H de ADN nascente, o 7S ADN, que se encontra emparelhado com a cadeia – L molde (revisito por Wallace D C, 1992; Brock *et al*, 1994; Anderson S, *et al*, 1981). A sequência do “*D-loop*” é muito polimórfica e contém duas regiões hipervariáveis bem caracterizadas, HVRI e HVRII, que se estendem da posição 16024 à 16365 e 73 à 340, respectivamente (segundo Vigilant L *et al*, 1989). Tendo sido descrita uma terceira região hipervariável, HVR III, em 1998, localizada entre as posições 438 e 574, também na região controlo (Lutz S, *et al*, 1998; Bini C, *et al*, 2003).





## Características do ADN mitocondrial

Como já foi referido o ADN mitocondrial apresenta determinadas características que lhe são específicas (ver resumo na Tabela I.1). Essas características são agora apresentadas e discutidas com mais profundidade.

- O ADN mt humano consiste numa molécula de ADN circular (16569 pb), fechada e de cadeia dupla (sendo que a distribuição de bases difere entre as duas cadeias). O facto de ser uma molécula fechada confere-lhe maior estabilidade face a fenómenos degradativos (comparativamente com ADN nuclear), como seja, por exemplo, a acção de exonucleases.
- Existe num grande número de cópias por célula. Estima-se que cada célula humana contenha centenas de mitocôndrias e milhares de cópias de ADN mt, dependendo do tipo de tecido (Purves, *et al*, 2001; revisto por Wallace D C, 1992).
- Este genoma possui uma taxa de mutação elevada, quando comparado com o genoma nuclear, sofre mutações 5-10 vezes mais do que o ADN nuclear (Salas A., 1999), o que significa que evolui mais rapidamente que o genoma nuclear. De facto este genoma difere em média cerca de três a quatro nucleótidos em cada 1000 entre cada dois humanos, com a maioria das diferenças localizadas na região do “D-loop” que é bastante polimórfica (revisto por Wallace D C, 1992; Evans M J, *et al*, 1999).
- Apresenta hereditariedade materna. As mitocôndrias encontram-se no citoplasma das células, sendo a hereditariedade dos seus caracteres genéticos um exemplo de hereditariedade não-Mendeliana (Purves, *et al*, 2001). De facto, as cabeças das células sexuais masculinas (espermatozóides) contêm poucas cópias de ADN mt por célula (apenas algumas centenas), comparadas com as centenas de milhares de cópias presentes no óvulo (revisto por Wallace D C, 1992). Verifica-se, também (nos mamíferos), que mesmo que haja entrada de mitocôndrias paternas no citoplasma do óvulo, num estado inicial da oogénese, ocorre uma eliminação específica do seu

genoma. Os mecanismos celulares despoletados aquando da presença de mitocôndrias espermiáticas, que culminam na destruição do ADN mt paterno, embora ainda não sejam totalmente conhecidos, são específicos para a mesma espécie e foram também observados em células somáticas (Kaneda H, *et al*, 1995; Manfredi G, *et al*, 1997; Reynier P, *et al*, 1998).

Consequentemente, o ADN mt não sofre recombinação, possui natureza haploide, sendo transmitido de geração em geração como um todo. Logo, todos os indivíduos da mesma linhagem materna apresentam, salvo algumas exceções, cópias idênticas de ADN mt.

- O ADN mt sofre uma segregação rápida durante a oogénese e a replicação das células somáticas (Dunbar D R, *et al*, 1995; Blok R B, *et al*, 1997; Reynier P, *et al*, 1998). Dentro duma mitocôndria podem coexistir moléculas de ADN mt mutadas e não mutadas, estado que se designa por heteroplasmia. Devido à segregação replicativa, a deriva genética tende a gerar linhagens (oócitos) homoplásmicas e heteroplásmicas (revisto por Wallace D C, 1992). De forma semelhante, a deriva genética subsequente à divisão celular tende a favorecer o estabelecimento dos dois tipos de linhagens puras, bem como de linhas heteroplásmicas em grau diverso. Em consequência disto resultam dois corolários importantes: (1) os gémeos monozigóticos podem ter genótipos citoplasmáticos diferentes, e (2) o indivíduo, tal como os órgãos que o compõem, é um mosaico de genótipos citoplasmáticos homo e heteroplásmicos (Wallace D C, 1992; Bendall K E, *et al*, 1996; Hühne J, *et al*, 1999; Jazin E E, *et al*, 1996).

Em 1996 Bendall K E, *et al* verificam que o ADN mitocondrial está sujeito a um “efeito de gargalo” muito restritivo, apertado, ou a uma sucessão de “gargalos de garrafa” mais largos que levam a uma selecção de poucas cópias do ADN mitocondrial inicial, o que já havia sido proposto em 1995 por Bendall K E & Sykes B C. Em 1997, Parsons T J, *et al*, vêem reforçar esta teoria, e afirmam que, nos humanos, este “efeito de gargalo” é bastante pequeno, seleccionando apenas algumas moléculas do ADN mt dum “pool” de ADN mt bastante maior.

Contudo, esta segregação aparenta alguma especificidade, devendo-se a mecanismos celulares que ainda não estão totalmente definidos e não pode ser explicada somente com base na teoria do “efeito de gargalo” (Blok R B *et al*, 1997). Os dois factores mais relevantes que interferem na hereditariedade do genoma mitocondrial são:

- \* A presença de determinado tipo de moléculas em muito maior percentagem relativamente a outras residuais (heteroplasmia de baixo grau), podendo ocorrer a transmissão preferencial de um só tipo de molécula de ADN mt;
- \* A presença de uma mutação funcional que inviabilize a sobrevivência da célula portadora de determinado genótipo mitocondrial (oócito).

A ocorrência de uma segregação replicativa e de uma amplificação selectiva do ADN de uma mitocôndria seleccionada ao acaso, durante a oógenese, podem explicar a genética específica e invulgar do ADN mt (Blok R B *et al*, 1997). Adicionalmente a esta selecção de determinado(s) genoma(s) mitocondrial(ais), verifica-se que embora um indivíduo acumule mutações no seu ADNmt durante toda a sua vida somente algumas, por vezes nenhuma, são transmitidas aos seus descendentes, o que será devido a um mecanismo específico de selecção (Reynier P *et al*, 1998).

### 3. Mutações no ADN Mitocondrial

#### Taxa de mutação

A taxa de evolução do ADN mt depende de dois processos: a frequência com que surgem novas mutações, e a probabilidade destas permanecerem na população.

O ADN mt possui uma taxa de mutação elevada, sofre mutações 10-20 vezes mais do que o ADN nuclear, sendo que desde que essa mutação não confira características desfavoráveis à sobrevivência ou se localize numa região não codificante, por exemplo, as regiões hipervariáveis, ela é mantida e transferida à geração seguinte (revisto por Wallace D C, 1992). A região não codificante do ADN mt evolui mais rapidamente do que a codificante (8,4% vs 2-4% por milhão de anos, respectivamente - revisto em: Salas A, 1999). Este facto permite, dum ponto de vista antropológico, obter informação a diferentes escalas temporais, quando são analisadas as duas regiões em conjunto.

No entanto, existe uma grande discrepância nas taxas de mutação do ADN mt calculadas empiricamente por vários autores, nomeadamente quando se comparam as taxas obtidas em estudos genealógicos com as obtidas em estudos filogenéticos (Santos C, *et al*, 2005). Os estudos genealógicos (que implicam uma escala temporal – evolutiva pequena) apresentam taxas de mutação bastante mais elevadas, cerca de vinte a duzentas vezes superiores, quando comparadas com as calculadas em estudos filogenéticos (revisto em Salas A, 1999; Macaulay V A, *et al*, 1997; Howell N & Mackey D, 1997; Parsons T J, *et al*, 1997 e Pääbo S, 1996; Howell N, *et al*, 1996; Santos C, *et al*, 2005). Este facto pode dever-se ao facto de nos primeiros poderem estar a ser observadas mutações em “*hot spots*”, ou mutações novas que possam vir a ser eliminadas por deriva genética antes que atinjam uma frequência significativa na população, logo, uma análise genealógica pode detectar e sobrevalorizar mutações primárias nessas posições que não podem ser extrapoladas para toda a sequência,

uma vez que a maioria das posições evolui muito mais lentamente (Meyer S, *et al*, 1999; Parsons T J, *et al*, 1997; Pääbo S, 1996; Howell N, *et al*, 1996). Os estudos filogenéticos podem, por seu lado, subestimar a taxa de reversão dos “*hot spots*”, ou seja, a existência de algum mecanismo mitocondrial que pode de alguma forma reverter substituições com relativa rapidez, para um estado inicial mais estável tornando estas mutações indetectáveis em estudos deste tipo (revisto em Salas A, 1999; Parsons T J, *et al*, 1997). Parsons T J, *et al* (1997) propõem ainda a possibilidade de algumas das mutações que ocorrem na Região Controlo do ADN mt serem ligeiramente patogénicas, sendo, portanto removidas da população com o tempo. Howell N, *et al*, (1996) apresenta ainda outra justificação: certas posições nucleotídicas podem vir a sofrer pressão selectiva para manterem uma determinada estrutura secundária que influencie a iniciação da replicação e / ou transcrição, provavelmente afectando a ligação de proteínas reguladoras (Meyer S, *et al*, 1999). Howell & Mackay, apresentam, em 1997, outra justificação para esta discrepância: poder dever-se ao processo de fixação de mutações. Nos estudos genealógicos são detectadas mutações nas posições extremamente mutáveis que, embora se tenham fixado em determinado indivíduo, falham em fixar-se ao nível da população. Assim, uma análise deste tipo dependerá essencialmente da deriva genética, enquanto, os estudos filogenéticos serão mais influenciados pela selecção natural.

Howell N & Mackay D, 1997, e Macaulay V A, *et al*, 1997, concordam que é esperado que haja um declínio nas taxas de mutação à medida que a escala temporal aumenta, provavelmente porque as mutações recentes não se fixam todas na população. Assim sendo, não se pode dizer que as taxas filogenéticas ou as genealógicas estejam correctas ou erradas. Ambas devem ser utilizadas para estimar datas de ocorrência de eventos distintos (Macaulay V A, *et al*, 1997; Howell N & Mackey D, 1997; Pääbo S, 1996). Para comparação de sequências que estejam relacionadas, possuam um ancestral comum, na ordem das centenas ou milhares de anos, dever-se-ão aplicar as taxas calculadas a partir de estudos genealógicos. Para comparações numa escala temporal mais alargada, mais de centenas a milhares de anos de divergência, as taxas filogenéticas são mais adequadas.

Contudo, mesmo entre estudos do mesmo tipo, não existe consenso na taxa de mutação do ADN mt (Santos C, *et al*, 2005).

Comparando as taxas de substituição de vários estudos genealógicos (Bendall K E *et al*, 1996; Howell N, *et al*, 1996; Parsons T J, *et al*, 1997; Jazin E, *et al*, 1998) verifica-se que estas também divergem, observando-se, com excepção do estudo de Parsons T J, *et al*, uma baixa transmissão de mutações de mães para filhos. Além das possíveis justificações apresentadas anteriormente, esta discrepância pode ser justificada pela existência de factores nucleares que influenciem a maquinaria de replicação e / ou de reparação ou de polimorfismos de sequência que afectem a estrutura do ADN tornando-o mais exposto aos factores mutacionais (Jazin E, *et al*, 1998). Outra hipótese será o estado de enfermidade dos indivíduos estudados (Howell N, *et al*, 1996; Parsons T J *et al*, 1997) possa afectar a taxa de mutação do ADN mt nestas famílias. A possibilidade da existência de um metabolismo mitocondrial anormal, ou de produtos derivados da transcrição de genes nucleares que intervenham na replicação e / ou reparação do ADN mt que acelerem o aparecimento de mutações, só em determinadas famílias estudadas pode ainda justificar a diferença das taxas de mutação para estudos da mesma índole (Pääbo S, 1996). Pode ainda acontecer que no trabalho de Parsons T J, *et al* (1997) se tenha tido em conta substituições homoplásmicas e heteroplásmicas (Hühne J, *et al*, 1998)

Uma situação semelhante é observada quando comparamos estudos filogenéticos (Vigilant L, *et al*, 1991; Ward R H, *et al*, 1991, Horai S, *et al*, 1995) o que dificulta a datação correcta e adequada de eventos populacionais, dum ponto de vista evolutivo (revisto em Salas A, 1999).

## Factores mutacionais

A elevada taxa de mutação do ADN mitocondrial é explicada por vários factores aos quais o ADN mt está sujeito (revisto em Salas A, 1999):

- Na mitocôndria existe um grande número de radicais livres, produzidos durante a fosforilação oxidativa, que têm efeito mutagénico. De facto, o ADN mt está cerca de 16 vezes mais susceptível ao dano oxidativo do que o ADN nuclear (Brown M D & Wallace D C, 1994; Wallace D C, 1992);
- O ADN mt não possui proteínas que o protejam, como as histonas;
- O ADN mt sofre mais ciclos de replicação, do que o nuclear, devido ao (s) restrito (s) “gargalo (s) de garrafa” que ocorre (m) durante a oogénese, replicação essa que continua a ocorrer durante todo o ciclo celular. Aquando da sua replicação encontra-se no estado de cadeia simples, estando muito mais sujeito a mutações, uma vez que é mais provável a isomeração das bases originando emparelhamentos não-Watson-Crick, do que quando se encontra em cadeia dupla;
- A enzima ADN polimerase responsável pela sua replicação (durante a qual surgem a maioria das mutações) não possui actividade correctora.



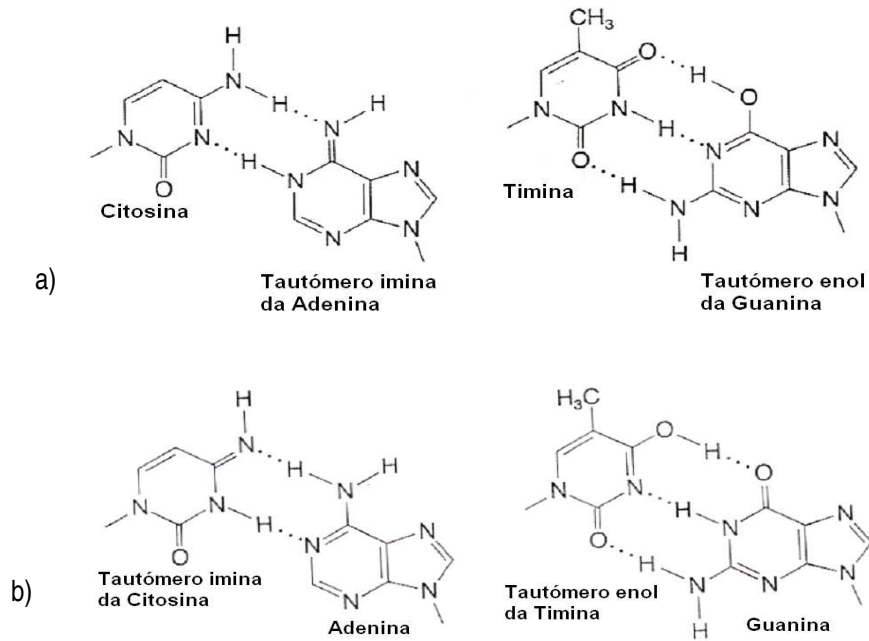
## Mecanismos mutacionais

As mutações são produzidas por vários tipos de alterações na sequência de bases do ADN, quando envolvem alterações num único par de bases designam-se por *mutações pontuais*, são as mais frequentes no ADN mt, e são resultantes de erros durante a replicação, acção de compostos mutagénicos, tais como radicais livres, e a instabilidade das bases nucleotídicas (Purves, *et al*, 2001).

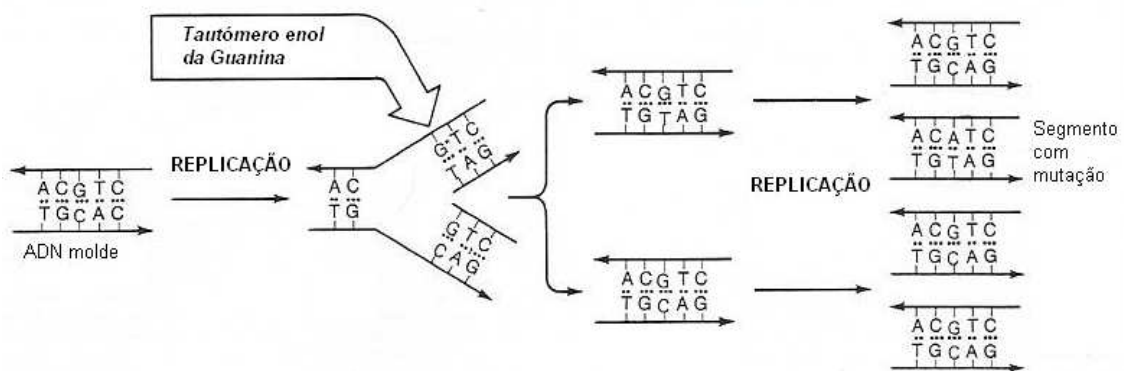
O tipo mais frequente é a *substituição* de um par de bases por outro, que poderá ser uma troca duma purina ou pirimidina por outra purina ou pirimidina, respectivamente, e neste caso é uma *transição*, ou pode ser uma *transversão* se ocorrer uma substituição de uma purina por uma pirimidina, ou vice-versa. Um mecanismo para o aparecimento destas mutações foi inicialmente proposto por Watson J D & Crick F H C (1953 <sup>a, b</sup>), no entanto, não explicaram as diferentes frequências observadas. As transversões (onde ocorre a formação de pares purina-purina ou pirimidina-pirimidina) são, de facto, muito menos frequentes do que as transições (pares pirimidina-purina), o que é explicado pela instabilidade e constante de formação das espécies intermediárias (Topal M D & Fresco J R, 1976).

Watson e Crick sugeriram, no seu célebre trabalho sobre a dupla hélice do ADN, um mecanismo explicativo para a ocorrência espontânea de *transições*. Eles repararam que alguns dos átomos de hidrogénio, de cada uma das quatro bases, pode mudar a sua localização dando origem a Tautómeros. Um grupo *amina* (-NH<sub>2</sub>) pode dar origem a um tautómero de forma *imina* (=NH). Do mesmo modo, em grupo *cetona* (-C=O) pode originar um tautómero de forma *enol* (=C-OH). A fracção de cada base na forma de tautómeros imina ou enol é cerca de 10<sup>-4</sup>. Estes tautómeros podem originar pares de base não-standard que se integrem na dupla hélice (Fig. I.6 e Fig. I.7).

Quanto às *transversões* ainda não é claro como é que estes emparelhamentos se formam espontaneamente, uma vez que a dimensão e estrutura da dupla hélice é proibitiva duma ligação deste tipo, dum ponto de vista de interações estéricas entre grupos adjacentes (Suzuki D T, *et al*, 1989).



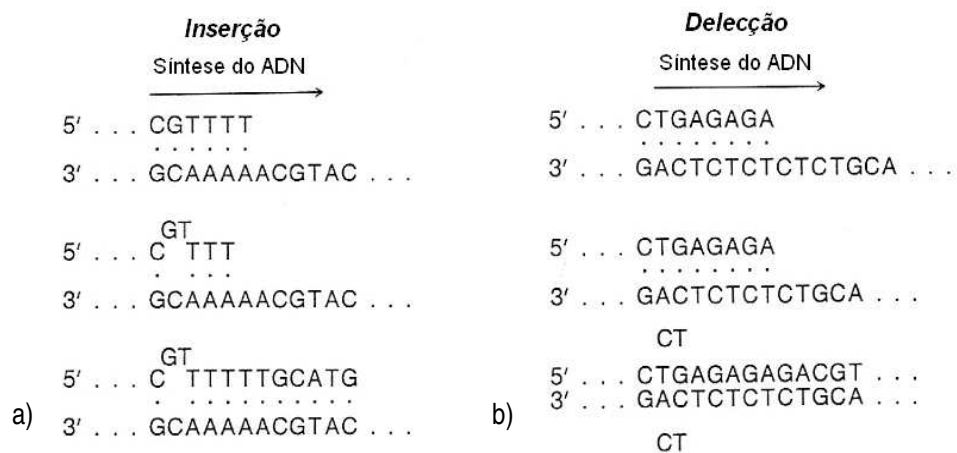
**Figura I.6** – Emparelhamentos irregulares, devido à formação de tautómeros raros das bases nitrogenadas dos nucleótidos constituintes do ADN: a) formas tautoméricas das pirimidinas; b) formas tautoméricas das purinas (Suzuki D T, *et al*, 1989).



**Figura I.7** – Mutação por tautomerização numa base do ADN. No diagrama, durante a replicação forma-se um tautómero enol da Guanina ( $G^*$ ), raro, que emparelha com uma Timina (T), em vez duma Citosina (C). Este emparelhamento leva à incorporação, na cadeia em formação, de uma T onde seria de esperar uma C, dando origem a uma mutação. Na subsequente replicação, a  $G^*$  pode voltar à sua forma normal (G) e emparelhar com uma C. Contudo, a T levará à incorporação de uma Adenina (A). Logo, uma das moléculas de ADN formadas terá um par A – T, mutante, no lugar do par G – C, normal (Suzuki D T, *et al*, 1989).

Outras mutações possíveis podem dever-se a uma *delecção* ou *inserção* de um, ou mais pares de bases, o que é frequente nas zonas homopoliméricas (regiões onde o mesmo par de bases se sucede repetidamente) presentes nas regiões hipervariáveis I e II da “D-loop”.

As *Delecções* e as *Inserções* são originadas, essencialmente, por erros da ADN polimerase durante a replicação, que retira ou incorpora mais uma base, respectivamente, criando uma mutação que será posteriormente transmitida às gerações seguintes (fig. 1.8; Purves, *et al*, 2001; Suzuki D T, *et al*, 1989).



**Figura 1.8** – Esquemas exemplificativos da ocorrência de *Inserções* e *Delecções*, por adição (a) e delecção (b), respectivamente, de um ou mais pares de base durante a síntese de uma nova cadeia de ADN (Suzuki D T, *et al*, 1989).

## Polimorfismos do ADN mitocondrial.

O termo polimorfismo foi definido por Ford (1940) como a “aparicação conjunta num locus de duas ou mais formas descontínuas da mesma espécie, de tal modo que a mais rara delas não se pode manter simplesmente através de mutação periódica”.

O ADN mt codificante apresenta, no geral, pouca variabilidade entre pessoas. Pelo contrário as regiões não codificantes, por não estarem sujeitas a uma pressão selectiva intensa, admitem níveis de variação ou polimorfismo muito elevados quando comparados com os das regiões codificantes.

As duas regiões hipervariáveis, de aproximadamente 400pb, são muito polimórficas, apresentando grande variabilidade de pessoa para pessoa. A região HVI localiza-se à esquerda do ponto de replicação (ponto O) da cadeia H, estendendo-se desde o par de bases 16024 até 16391; a região HVII localiza-se à direita do ponto O, desde o par de bases 73 até 340. Este sistema de numeração foi descrito por Anderson S, *et al* (1981), e é normalmente referido como “sequência de Anderson” ou “*Cambridge Reference Sequence*” (**CRS**).

No ADN mt podem ocorrer dois tipos de polimorfismos:

**Polimorfismos de sequência:** Estes são os polimorfismos mais frequentes no ADN mt (polimorfismos de substituição simples). Consistem em substituições de um par de bases, podendo ser *transições* ou *transversões*. As *transições* são o tipo predominante das substituições, e as purinas tendem a ser mais frequentemente substituídas do que as pirimidinas na cadeia H (Salas A, 1999).

**Polimorfismos de comprimento:** São originados por *inserções* ou *delecções* de um ou mais par de bases. No ADN mt existem zonas homopoliméricas (poli-C) que frequentemente sofrem *inserções* ou *delecções*, estas regiões estendem-se entre as posições 16184-16188 / 16190-16193 da região hipervariável I (HVRI), e entre as posições 303-309 / 311-315 da região hipervariável II (HVRII). Exceptuando-se as posições referidas este tipo de polimorfismo é menos comum do que a substituição de pares de bases.

## Heteroplasmias

Como foi referido anteriormente, heteroplasmia define o estado de um indivíduo possuir diferentes genótipos mitocondriais. Este estado pode dever-se à existência de dois ou mais tipos de moléculas de ADN mt dentro da mesma mitocôndria, ou, entre mitocôndrias distintas da mesma célula, entre células diferentes, ou, ainda entre tecidos celulares diferentes.

Inicialmente, julgava-se que este era um fenómeno relativamente raro, mas estudos relativamente recentes, demonstraram que a existência de heteroplasmias na região controlo do ADN mt de células somáticas é bastante frequente (Tully L A, *et al*, 2000; Jazin E, *et al*, 1998), verificando-se inclusive que a taxa de heteroplasmias ou a sua presença depende do tecido analisado (Langström-Fermér M, *et al*, 2001; Bendall K E, *et al*, 1997; Jazin E E, *et al*, 1996).

Foi também observado que os níveis de heteroplasmia são superiores em indivíduos que padeçam de doenças relacionadas com mutações do ADN mt (Turchi C, *et al*, 2003; Marchington D R, *et al*, 1996) e indivíduos com mais idade (Jazin E E, *et al*, 1996), contudo, estudos recentes refutam que haja um aumento da taxa de heteroplasmia com idade (Langström-Fermér M, *et al*, 2001).

Verificou-se ainda, que em famílias com genótipo heteroplásmico, a frequência deste varia grandemente de indivíduo para indivíduo A descendência duma mãe heteroplásmica pode variar, devido a fenómenos de segregação replicativa. Esta discrepância entre genótipos, duma mesma linha materna, é acentuada pelo efeito de gargalo de garrafa a que o ADN mt está sujeito durante a oogénese (Hühne J, *et al*, 1998; Bendall K E, *et al*, 1996; Bendall K E & Sykes B C, 1995).

As heteroplasmias revelam uma grande importância do ponto de vista da genética forense, pois possuem um maior poder discriminatório quando comparadas com mutações homoplásmicas mitocondriais, como é exemplo, o caso de identificação dos restos mortais do último Czar russo Nicolau II (Carracedo A, *et al*, 2000; Gill P, *et al*, 1994).

Do ponto de vista da genética das populações, as heteroplasmias serão consideradas, por norma, quando se verificar uma frequência equivalente dos pares nucleotídicos (50% – 50%). Assim, os resultados normalmente apresentados reportam-se exclusivamente ao nucleótido predominante, uma vez que a ocorrência de uma segregação replicativa e de uma amplificação selectiva do ADN de uma mitocôndria seleccionada ao acaso, durante a oógenese, leva a que só parte do genoma mitocondrial da progenitora seja transmitida à descendência (Wallace D C, 1992; Bendall K E, *et al*, 1996; Hühne J, *et al*, 1999; Jazin E E, *et al*, 1996), havendo uma maior probabilidade de ser transmitido o polimorfismo predominante.

Uma heteroplasmia pode, adicionalmente a apresentar taxas variáveis, ser de dois tipos:

**Heteroplasmia de sequência:** Ocorrem quando se verifica a coexistência de mais do que um tipo de molécula de ADN mt. Sendo que um dos tipos de moléculas pode apresentar a substituição de determinado par de bases e na mesma mitocôndria, mesma célula ou no mesmo tecido existirem moléculas de ADN mt que, para a mesma posição nucleotídica, não apresentem essa substituição ou apresentem uma substituição não coincidente, observando-se a sobreposição de dois nucleótidos diferentes na posição heteroplásmica.

**Heteroplasmia de comprimento:** As heteroplasmias de comprimento observadas são *inserções* ou *delecções* diferenciais, simples, duplas ou triplas em diferentes moléculas de ADN mt, que poderão pertencer à mesma mitocôndria, a mitocôndrias diferentes da mesma célula, ou ainda de células diferentes. É bastante frequente encontrar moléculas com um número diferente de inserções dentro duma mesma mitocôndria ou em mitocôndrias distintas duma mesma célula (Salas A, 1999). Uma heteroplasmia de comprimento pode ser herdada ou gerada “*de novo*” em cada indivíduo, sendo bastante mais frequente do que o caso anterior, essencialmente nas zonas homopoliméricas das duas regiões hipervariáveis. Na origem deste tipo de heteroplasmia parece estar a ocorrência de ‘*slippage*’ durante a replicação da molécula de ADN mt (Bendall K E & Sykes B C, 1995). Quando ocorre uma heteroplasmia deste tipo há uma sobreposição de nucleótidos a partir da posição nucleotídica onde esta ocorreu, não sendo possível, por vezes, ler a sequência nucleotídica do genoma mitocondrial a partir dessa posição.

Um problema no estudo da ocorrência de heteroplasmias, é que estas podem ser difíceis de distinguir do ruído de fundo presente nos electroforetogramas e, principalmente em amostras degradadas, este ruído pode ocultar taxas baixas de heteroplasmia. Logo, um indivíduo pode ser considerado heteroplásmico em função da sensibilidade do método utilizado e do tipo de amostra analisada. De facto, embora o diagnóstico de doenças mitocondriais esteja associado, essencialmente, a heteroplasmias pontuais na região codificante deste genoma, são poucos os relatos de heteroplasmias pontuais nas regiões não codificantes, sugerindo que estas ou são raras, ou de difícil detecção por sequenciação (Bendall K E, *et al*, 1996)





## 4. APLICAÇÕES DO ESTUDO DO ADN MITOCONDRIAL

Embora, inicialmente, muitos biólogos tenham dado pouca atenção ao ADN mitocondrial, hoje em dia este genoma é alvo de estudo por diversos cientistas ligados a áreas de pesquisa distintas. As características peculiares deste genoma, que o distinguem claramente do nuclear, estão na base da sua utilização por parte destes estudiosos.

Primeiramente, verificou-se que o aparecimento de mutações na região codificante do ADN mt poderia estar envolvido com diversos tipos de patologias clínicas, algumas fatais, doenças degenerativas, crónicas e ainda em processos de envelhecimento. Logo o estudo deste genoma demonstrou ser útil no diagnóstico e tratamento destas doenças.

Posteriormente, devido ao facto deste genoma possuir uma taxa de mutação elevada e hereditariedade exclusivamente materna, o estudo da sua região não codificante, e comparação da sequência nucleotídica de diferentes populações do globo permitiu aos cientistas obter pistas muito relevantes quanto às migrações humanas e sua evolução.

A comparação de sequências nucleotídicas deste ADN numa escala mais reduzida, entre indivíduos e/ou amostras, é hoje em dia aplicada no âmbito forense para identificação criminal, por comparação de amostras recolhidas no local do crime e o perfil de presumíveis criminosos, e identificação de restos mortais de indivíduos, por permitir a comparação de familiares de linhagem materna afastados. Neste tipo de estudos são, também, consideradas as seguintes características deste genoma: elevada resistência a fenómenos degradativos, permite analisar ADN proveniente de restos cadavéricos antigos, e o elevado número de cópias deste genoma, que permite analisar vestígios com quantidades de ADN muito reduzidas.

## Clínica

O ADN mt, em contraste com o nuclear, não possui intrões nem longas sequências não codificantes, o que o torna um excelente alvo de mutações que originem doença. Sendo a mitocôndria responsável pela produção de cerca de 90 % da energia necessária à célula, qualquer má-formação que comprometa a formação de ATP por este organelo pode levar a problemas celulares ou, inclusive, à morte celular e, conseqüentemente, ao mau funcionamento de um tecido ou órgão e desenvolvimento de sintomas relacionados a doenças (Wallace D C, 1997).

De facto, tem vindo a ser descrita a associação entre defeitos mitocondriais e uma grande variedade de doenças humanas. São doenças ainda raras que se podem manifestar com diversos sintomas, mais ou menos severos, que incluem: problemas de crescimento e aprendizagem, problemas respiratórios, neurológicos, cardíacos, visuais e/ou auditivos, enfraquecimento muscular, e outros. As doenças afectam particularmente órgãos com maiores necessidades energéticas, como o cérebro, coração e músculos, e estão a ser alvo de investigação intensa (Azevedo C, 1999; Wallace D C, 1997; Brown M D & Wallace D C, 1994; Wallace D C, 1992).

As doenças associadas a deficiências no ADN mt possuem características únicas (Wallace D C, 1997; Brown M D & Wallace D C, 1994), associadas, frequentemente, às características peculiares deste genoma. Primeiro estas doenças são herdadas por via materna, segundo é possível que diferentes tecidos possuam percentagens diferentes de moléculas mutadas, por poderem coexistir numa mesma célula progenitora moléculas mutadas e “normais” (heteroplasmia) que aquando da divisão desta célula em células filhas, o citoplasma é particionado ao acaso, podendo originar células com diferentes proporções de heteroplasmia ou homoplásmicas. Terceiro, as mutações patogénicas do ADN mt são expressas segundo o efeito “*threshold*” – número mínimo de moléculas de ADN mt portadoras de mutação que provoca alterações a nível de funcionamento celular –, uma vez que certos tecidos são mais dependentes de ATP que outros. Em quarto, verifica-se que a capacidade de um tecido gerar ATP diminui

---

com a idade, o que poderá facilitar a expressão da doença numa fase mais avançada da vida. Por fim, os genes mitocondriais possuem uma taxa de mutação de cerca de 10 – 17 vezes superior à taxa apresentada pelos genes nucleares, devido aos factores já referidos, levando a um aumento de mutações patogénicas com a idade.

As mutações mitocondriais que originam doença podem ser classificadas em quatro tipos (revisto em Brown M D & Wallace D C, 1994 e Wallace, D C, 1992):

- Mutações “*missense*”, ou mutações que levam à substituição de um aminoácido numa determinada proteína, sendo que este tipo de mutações tem sido identificada em genes que codificam a maioria dos complexos da cadeia respiratória. Preferencialmente, estas mutações afectam vias neurológicas associadas à visão e estão confinadas a tecidos nervosos e excitatórios, logo, este tipo de mutações mitocondriais, está associado a doenças do foro oftalmológico e neurológico;
- Mutações associadas à síntese proteica, normalmente, devidas a substituições nucleotídicas nos genes mitocondriais envolvidos na biossíntese de compostos celulares. Por norma são mutações em ARN's de transferência (ARNt) que resultam em miopatias mitocondriais severas. Geralmente as mutações patogénicas dos ARN't são heteroplásmicas e a severidade da doença causada depende da taxa de heteroplasmia (Lodish, *et al*, 1996). Verifica-se bastante heterogeneidade clínica entre familiares com doenças relacionadas com este tipo de mutação, o que é explicado, parcialmente, por ser uma mutação heteroplásmica. Deste ponto de vista as mutações do t ARN são um bom exemplo do efeito da segregação replicativa à qual o ADN mt está sujeito, uma vez que um indivíduo pode não exibir sintomas clínicos a não ser que a proporção de ADN mt mutado exceda os 80% a 90%.
- Mutações causadas por inserções e / ou deleções no ADN mt ou inversões no ADN mt. Estes dois tipos de mutações parecem derivar do mesmo acontecimento mutagénico, verificando-se que, por norma, partilham o mesmo “*breakpoint*”, ou seja, são originadas na mesma posição nucleotídica. Clinicamente não é possível distinguir os fenótipos resultantes deste tipo de mutações.

A maioria das deleções patogénicas identificadas são espontâneas, não hereditárias, e ocorrem durante o desenvolvimento, o que se reflecte numa heterogeneidade clínica de doenças associadas a este tipo de mutação, quer ao nível de distribuição nos tecidos, quer ao nível das taxas de mutação verificadas nos tecidos afectados. Verifica-se, também, que as doenças associadas a deleções no ADN mt aumentam com a idade, o que pode ser justificado pela vantagem replicativa que estes ADN mutados revelam relativamente às moléculas de ADN mt “normais”, por serem menores, uma vez que as enzimas responsáveis pela replicação do ADN mt estão codificadas no ADN nuclear. Embora estes tipos de mutações possam ser transmitidos à geração seguinte, raramente acontece, provavelmente porque uma célula ou embrião que possua essencialmente ADN mt com deleções não é viável e morre (Wallace D C, 1997).

Relativamente a doenças associadas a inserções/duplicações no ADN mt, mais raras e invariavelmente heteroplásmicas, muitas estão associadas à duplicação das origens de replicação de ambas as cadeias deste genoma, o que lhes confere, também, uma vantagem replicativa, que leva a um enriquecimento dos tecidos neste tipo de moléculas patogénicas. Estas mutações podem ser espontâneas ou hereditárias.

- Mutações associadas ao número de cópias de moléculas de ADN mt. Um baixo número de cópias de ADN mt está associado a uma redução das proteínas codificadas por este genoma, nomeadamente proteínas envolvidas na cadeia respiratória mitocondrial, mas não nos níveis de proteínas respiratórias codificadas no ADN nuclear. A consequência deste deficiente número de cópias do ADN mt será uma produção de ATP insuficiente.

Alguns cientistas propõem a existência de uma predisposição para o aparecimento e / ou fixação de mutações patogénicas no ADN mt de indivíduos que possuam um determinado polimorfismo na região não codificante deste genoma, por exemplo, na posição 16189, que se encontra na região hipervariável I do “*D-loop*” (Marchington D R, *et al*, 1996).

## Genética Forense

A Biologia Forense e mais recentemente a Genética Forense constitui um ramo médico-legal cada vez mais útil na resolução de problemas judiciais de criminalística biológica, identificação individual e investigações de filiação.

Inicialmente as perícias de biologia e / ou genética forense baseava-se essencialmente no estudo dos sistemas genético-moleculares tradicionais (antigénios ou enzimas eritrocitários e leucocitários, proteínas plasmáticas, etc.), mas a descoberta dos polimorfismos de ADN e o desenvolvimento da técnica de reacção em cadeia da polimerase (PCR) permitiram um grande desenvolvimento deste campo (Gill P, *et al*, 1985). Este deve-se, nomeadamente, a que o ADN possui uma grande estabilidade química, variabilidade entre indivíduos e está presente em todas as células do organismo.

A maioria dos marcadores genéticos, usados nos laboratórios forenses, é de origem nuclear. Contudo, em casos em que as amostras biológicas sejam antigas e/ou tenham sido expostas a condições tão adversas, em que o ADN nuclear está tão degradado que é impossível o seu estudo, a análise das regiões hipervariáveis do ADN mt, molécula mais estável, tem vindo a revelar-se muito útil para a investigação forense (Tully G, *et al*, 2000; Salas A, 1999; Butler J M & Levin B C, 1998; Wilson M R, *et al*, 1995). A sua forma circular confere-lhe uma certa estabilidade, encontrando-se menos susceptível à degradação por exonucleases, permanecendo intacto por muitos mais anos do que o ADN cromossómico. Adicionalmente, como já foi referido, este genoma possui um elevado número de cópias por célula, apesar de ser um ADN de linhagem, possui hereditariedade exclusivamente materna, e uma taxa de mutação elevada que permite assim, analisar restos biológicos antigos (Hernandez A, *et al*, 2003; Rickards O, *et al*, 2001), vestígios de dimensão reduzida, por exemplo, pêlos sem bolbo, uma pequena mancha de sangue ou de outro fluído biológico, etc. (Rodríguez-Monge A, *et al*, 2003; Alonso A, *et al*, 2000; Brignon E, *et al*, 2000; Pfeiffer H, *et al*, 1999b), e relacioná-los com parentes afastados que descendam da mesma linhagem materna (Anslinger K, *et al*, 2001; Gill P, *et al*, 1994).

Um caso, de elevado impacto social, em que se recorreu à análise do ADN mt, foi a

identificação em 1991, na Rússia, de ossadas humanas como sendo pertencentes ao Czar Nicolau II e sua família, por sequenciação deste genoma nos vestígios encontrados e sua comparação com parentes maternos ainda vivos (Gill P, *et al*, 1994). Mais recentemente, cientistas terão recorrido à análise das regiões hipervariáveis I e II deste genoma com o objectivo de permitir a identificação de vítimas e de vestígios biológicos recuperados dos escombros do Tsunami de 2004 na Tailândia, tendo-se revelado uma ferramenta essencial nessa identificação dado o elevado grau de decomposição de algum material biológico analisado, nomeadamente dentes (Deng Y-J, *et al*, 2005).

No entanto, os estudos e análises do ADN mitocondrial devem ser feitos com bastante cuidado e são, actualmente, alvo de reflexão por parte da comunidade científica ligada à genética forense, de forma a estandardizar e validar este estudo como prova pericial (Prieto L, *et al*, 2003; Alonso A, *et al*, 2002; Tully G, *et al*, 2001; Carracedo A, *et al*, 2000; Carracedo A, *et al*, 1998).

Por exemplo, a presença de sequências homopoliméricas de Citosinas (os Poli – C's) no ADN mt que pode ser de 13 ou mais Citosinas seguidas na cadeia L, quando ocorre uma transição na posição 16189, pode dificultar a análise destas zonas, essencialmente quando se verificam heteroplasmias de comprimento. É aconselhável que se proceda sempre à sequenciação de ambas as cadeias do ADN mt de modo a possibilitar a determinação exacta do número de C's, neste caso, e sempre que haja indícios de heteroplasmia (Rasmussen E M, *et al*, 2003; Salas A, *et al*, 2001; Alonso A, *et al*, 2000).

Num laboratório de genética forense é muito importante ter em conta a possibilidade de contaminação da amostra a analisar, especialmente quando esta é reduzida, antiga e/ou se encontra degradada, onde uma contaminação pode não ser imediatamente identificada, sendo confundida com a presença de um haplótipo real. Uma vez que é nestas situações que normalmente se recorre ao ADN mt, deve proceder-se com extremo cuidado quer no processo de extracção, quer na amplificação das regiões a analisar para evitar artefactos, assim como no processo de purificação, sequenciação e detecção.

O tipo de análise efectuada ao ADN mt é de índole bastante diferente da efectuada ao ADN nuclear, uma vez que possuem características bastante distintas. Logo, também os critérios para interpretação dos resultados são diferentes, mas deverão ser igualmente rigorosos. A comunidade forense tem vindo a desenvolver esforços, também, no sentido de estabelecer os critérios que devem ser seguidos para interpretar e analisar os resultados obtidos (Tully G, *et al*, 2001; Carracedo A, *et al*, 2000; Salas A, 1999; Butler J M; Levin B C, 1998).

Um parâmetro a ter em consideração é a taxa de mutação do ADN mt a utilizar como referência. Neste tipo de estudos onde se comparam sequências que estejam relacionadas, com um ancestral comum, na ordem das centenas ou milhares de anos, embora haja alguma divergência, dever-se-á ter em conta uma taxa mutacional inferida a partir de estudos genealógicos (Bendall K E, *et al*, 1996; Howell N, *et al*, 1996; Parsons T J, *et al*, 1997; Jazin E, *et al*, 1998).

A definição da população de referência é, também, crucial na avaliação das provas forenses. Por vezes, mesmo existindo subpopulações pertencentes a uma população maior, considera-se essa população como um todo, homogénea. Contudo, essas subpopulações podem possuir um perfil de ADN mt significativamente diferente entre si e da população principal, pelo que não será correcto usar os dados desta como referência. É neste contexto que se tem vindo a procurar criar bases de dados de sequências das regiões hipervariáveis do ADN mitocondrial de todas as populações e subpopulações. De facto, estas bases de dados constituem a maior fonte de informação para podermos avaliar a prova de ADN mt numa investigação forense com relativa segurança nos resultados obtidos (Rodríguez-Monge A, *et al*, 2003; Wittig H, *et al*, 2003, Salas A, 1999). Actualmente já existem diversas publicações de sequências das regiões hipervariáveis do ADN mt de indivíduos não aparentados de populações e sub-populações de variados pontos do globo (por exemplo: Koyama H; *et al*, 2002; Dimo-Simonin N, *et al*, 2000; Pfeiffer H, *et al*, 2001; Pfeiffer H, *et al*, 1999a; Baasner A, *et al*, 1998; Seo Y, *et al*, 1998; Pfeiffer H, *et al*, 1998; Rousselet F & Mangin P, 1998; Parson W, *et al*, 1998; Stenico M, *et al*, 1996; Piercy R, *et al*, 1993; Vigilant L, *et al*, 1989), o que facilita a determinação da probabilidade de uma amostra encontrada no local do crime pertencer a determinado indivíduo, ao acaso, da população de referência (Weir B S, 1996).

## Genética de populações e evolução

A análise de sequências do genoma mitocondrial humano (ADN mt) tem vindo a ser utilizada por biólogos sistemáticos e evolucionistas para estudar a origem geográfica, dinâmica das primeiras populações, e datar ancestrais humanos (Purves, *et al*, 2001; Vigilant L; *et al*, 1991; Cann R L, *et al*, 1987, entre outros).

Durante muito tempo o estudo da evolução dos diversos organismos fazia-se com base em características morfológicas recorrendo a fósseis e à antiguidade dos mesmos (Purves, *et al*, 2001). A conjugação de evidências evolutivas recolhidas através da Arqueologia e da Paleontologia com evidências obtidas a partir de estudos moleculares (proteínas e ácidos nucleicos) permite uma nova visão sobre a evolução dos organismos (Purves, *et al*, 2001, Cann R L, *et al*, 1987).

A descoberta e estudo de polimorfismos do ADN, que ocorrem tanto nas regiões codificantes como não codificantes do genoma humano, tem permitido estudar com maior precisão as relações evolucionárias das populações e a evolução do Homem. Para tal pode recorrer-se ao estudo do genoma nuclear ou do genoma mitocondrial, contudo as distâncias genéticas calculadas a partir de estudos comparativos do ADN nuclear difere das estimadas a partir do ADN mitocondrial. Enquanto nos estudos baseados no genoma nuclear são consideradas as frequências das diferentes variantes moleculares entre e intra populações, com o ADN mt os estudos baseiam-se essencialmente no número de diferenças nucleotídicas / mutacionais presentes entre os vários genomas mitocondriais comparados entre e intra populações. Uma vez que as frequências genéticas podem ser influenciadas pela recombinação, deriva genética, selecção e migração não se consegue estabelecer uma relação directa entre o tempo e a “distância mutacional” quando falamos de ADN nuclear, mas quando temos em consideração o ADN mt esta relação é real, permitindo datar eventos evolutivos com maior facilidade e precisão (Cann R L, *et al*, 1987).



De facto, o ADN mt, que evolui muito rapidamente e apresenta uma hereditariedade exclusivamente materna, tem sido bastante utilizado em estudos de evolução humana, em estudos populacionais e na reconstrução de migrações globais, pois à medida que as mulheres migravam de continente para continente o seu ADN mt foi acumulando gradualmente mutações genéticas não-patogénicas. E conseqüentemente, as sequências de pares de bases do ADN mt de uma população de um continente para outra de outro continente apresentam várias diferenças, acumuladas ao longo do tempo. Detectando essas diferenças através de enzimas de restrição ou por sequenciação do ADN mt é possível agrupar moléculas de ADN mt que se possam relacionar num continente em “haplogrupos” e comparando os diferentes “haplogrupos” dos vários continentes, determinam-se as relações entre indivíduos de diferentes lugares (Vigilant L; *et al*, 1991; Cann R L, *et al*, 1987). A taxa de variação da sequência do ADN mt relativamente à sequência padrão, *CRS*, é utilizada como índice da antiguidade de determinada população (Andrews R M, *et al*, 1999; Anderson S, *et al*, 1981).

A maior limitação a estudos nesta área é a difícil compreensão dos processos complexos através dos quais as mutações no ADN mt surgem, são segregadas e fixadas, tanto ao nível dos organelos intracelulares, das células, dos indivíduos e das populações (Howell N, *et al*, 1996). Neste tipo de estudos, onde a comparação de haplótipos é feita numa escala temporal de mais de centenas a milhares de anos de divergência, a taxa de evolução do ADN mt que se deve considerar será inferida por estudos filogenéticos, contudo ainda não foi atingido consenso quanto a esta taxa (Cann R L, *et al*, 1987; Vigilant L, *et al*, 1991; Ward R H, *et al*, 1991; Horai S, *et al*, 1995).

## **Árvores filogenéticas**

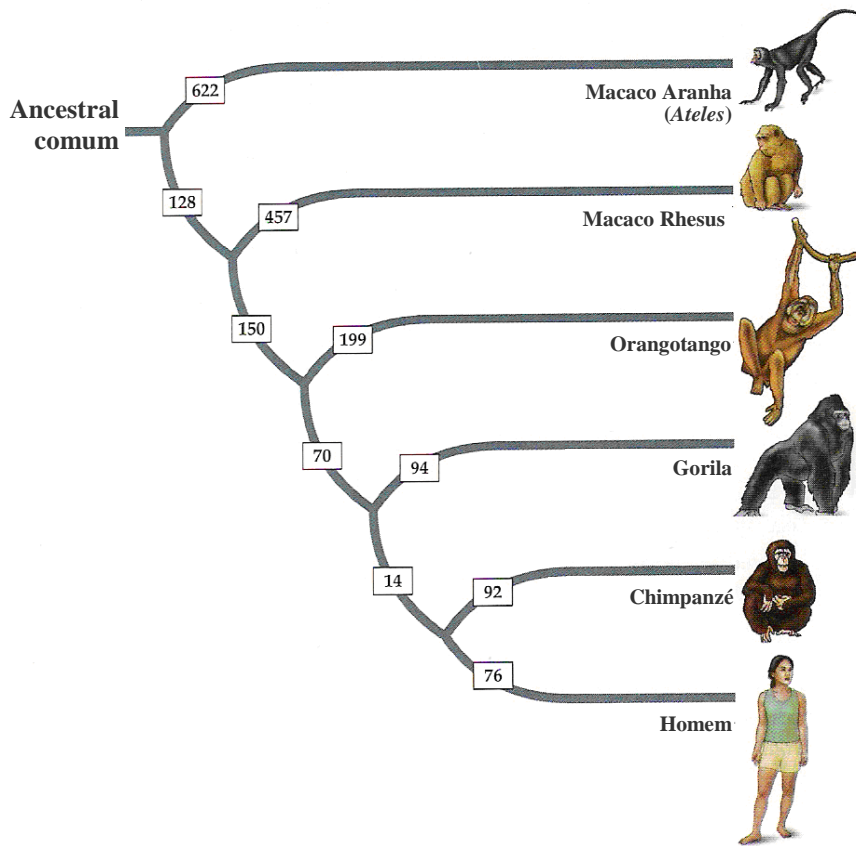
A Filogenia não é mais do que a história da descendência de um grupo de organismos relativamente a um ancestral comum. Essa descendência pode ser representada através de uma

estrutura de árvore filogenética, cuja origem representa o organismo mais ancestral, comum às linhagens estudadas, e onde cada ramo é representativo de uma determinada linhagem. A diversificação de determinado grupo de organismos que origine novos grupos de organismos relativamente distintos uns dos outros é representada pela separação desses ramos em dois ou mais ramos. O ponto onde se encontra essa separação é estabelecido pela temporalidade do evento evolutivo que levou à origem dessas linhagens distintas. Assim sendo, uma árvore pode representar a evolução de todos os seres vivos ou ser específica de um grupo de organismos, como por exemplo, os Primatas Antropóides (Fig. I.9). A construção de árvores filogenéticas baseia-se na análise da evolução e eventos evolutivos intrínsecos à origem e especiação de determinado organismo (Purves, *et al*, 2001).

A reconstrução filogenética de uma linhagem de organismos é realizada com base em vários métodos que reúnem a análise da informação de vários indícios, características fenotípicas e / ou genotípicas (Purves, *et al*, 2001).

Um método bastante utilizado é o do **Princípio da Parsinomia**, que estabelece que das hipóteses capazes de esclarecer um determinado evento evolutivo devemos aceitar a que seja menos complexa, o que aplicado à construção de árvores filogenéticas se reflecte numa minimização do número de alterações evolutivas a ter em consideração. É um princípio que se adapta bem quando a árvore é construída com base em características morfológicas, pois estas possuem uma taxa evolutiva baixa. Por características morfológicas entendem-se o tamanho e forma de determinada parte corporal de um organismo e / ou fóssil (Purves, *et al*, 2001).

Outro método é o do '**Likelihood Maximum**', que se aplica em reconstruções filogenéticas baseadas em dados moleculares, recorrendo a programas de computadores complexos, que correlacionam mutações resultantes de substituições nucleotídicas com a sua taxa de ocorrência. Os dados moleculares mais úteis na reconstrução de filogenias são as estruturas de proteínas, cuja comparação das suas estruturas fornece informações relativamente precisas quanto à distância genética de duas linhagens através do número de aminoácidos que diferem entre elas, os ácidos nucleicos (ADN e ARN) e a sequência de bases do ADN é uma ferramenta muito útil no estudo das relações evolutivas entre organismos, do qual um exemplo é o apresentado na figura I.9 (Purves, *et al*, 2001).



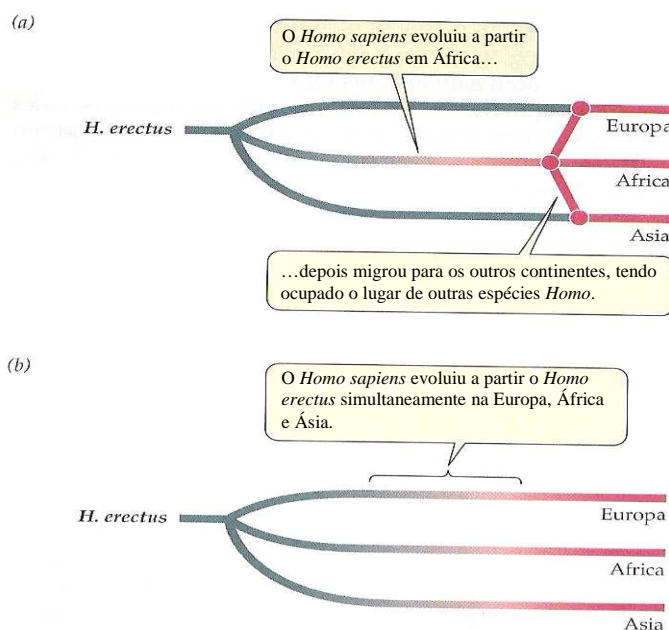
**Figura I.9** – Exemplo de uma árvore filogenética: filogenia dos Primatas Antropóides baseada no estudo da região do ADN codificante da Globulina. Os números indicados em cada linha correspondem ao número de modificações ocorridas nesta região, em pares de base (Purves, *et al*, 2001).

## Filogenia Molecular

Como já foi referido o estudo de sequências de nucleótidos e da acumulação de diferenças no genoma dos organismos é uma potente ferramenta no estudo da evolução dos organismos e reconstrução de árvores filogenéticas. De facto, embora a base da diferença morfológica e adaptativa de todos os organismos sejam mutações genéticas, a evolução molecular/genotípica diferencia-se da evolução fenotípica. Uma vez que não é só a selecção natural que influencia a taxa e direcção da evolução molecular, estas também são reflexo da

deriva genética e do tipo de mutações ocorridas. A maioria das populações exibe uma variação genética muito superior à que seria esperada se esta fosse apenas influenciada pela selecção natural (Purves, *et al*, 2001).

A aplicação de dados moleculares ao estudo da evolução do homem veio acrescentar evidências importantes na forma como esta se terá processado. Os registos fósseis evidenciam que a linhagem hominóide que deu origem ao Homem terá divergido da linhagem dos Chimpanzés há cerca de 5 milhões de anos atrás no continente africano. Há 2 milhões de anos atrás o ancestral humano designado por *Homo erectus* terá surgido em África e ido povoar outros continentes, tendo sido encontrado fósseis deste ancestral em África, Indonésia, China, Médio Oriente e Europa. A transição de *Homo erectus* para *Homo sapiens* terá ocorrido provavelmente há 400 mil anos, havendo alguma controvérsia sobre o local onde esta terá ocorrido. A hipótese 'out of Africa' sugere que tenha ocorrido neste continente e dispersado a partir daí. A hipótese multiregional propõe que esta transição ocorreu em diferentes regiões da Europa, África e Ásia (Fig. I.10).



**Figura I.10** – A origem do Homem moderno: a) Hipótese 1 – Origem única em África; b) Hipótese 2: Origens paralelas na Europa, África e Ásia. Evidências actuais apoiam a primeira hipótese como sendo a que melhor representa a transição de *Homo erectus* (linha azul) para *Homo sapiens* (linha vermelha), que terá acontecido em África e posteriormente povoado os outros continentes (Purves, *et al*, 2001).

O facto do número de registos fósseis ser limitado e disperso não permite eliminar nenhuma destas hipóteses. Contudo, a comparação das sequências do ADN de genes mitocondriais de mais de 100 populações humanas etnicamente distintas apresenta evidências claras e válidas de que o Homem actual divergiu de um ancestral comum que terá habitado a terra há cerca de 200 mil anos. Este cálculo foi efectuado tendo em conta o número de diferenças nucleotídicas verificadas entre os genes comparados e tendo em conta uma taxa de mutação do ADN mitocondrial calculada a partir de linhagens de mamíferos com registos fósseis mais completos. A hipótese de origens múltiplas assume que o Homem actual tenha divergido dum ancestral comum há cerca de 1 milhão de anos atrás, o que entra em confronto com os dados provenientes da análise do ADN mitocondrial que sugere que todas as populações humanas actuais partilharam um ancestral mitocondrial bem mais recente, apoiando assim a primeira Hipótese ('*out of Africa*') que propõem uma única origem em África do *Homo sapiens* (Purves, *et al*, 2001).

Outros estudos moleculares, 26 genes nucleares e de sequências do cromossoma Y, apoiam a Hipótese '*out of Africa*'. Contudo esta ainda não é consensual, uma vez que este tipo de dados pode ser interpretado de várias formas. Estas diferenças demonstram a importância de reunir e conjugar dados moleculares distintos e, também, morfológicos quando construímos filogenias (Purves, *et al*, 2001).



## 5. PERSPECTIVA HISTÓRICA

### Do Aparecimento do Homem ao Povoamento do Planeta

A história da humanidade começa nas florestas tropicais de África há pelo menos 65 milhões de anos. Nessa altura, já tinham surgido os primeiros primatas, a ordem de mamíferos a que o homem pertence. Registos fósseis sugerem que a linhagem hominóide divergiu da linhagem dos chimpanzés há cerca de 5 milhões de anos em África. Há 2 milhões de anos, o ancestral humano conhecido como *Homo erectus* terá aparecido em África e depois conquistado outros continentes. Foram encontrados registos fósseis desta espécie em África, Indonésia, China, Médio Oriente e Europa (Fig. I.11).

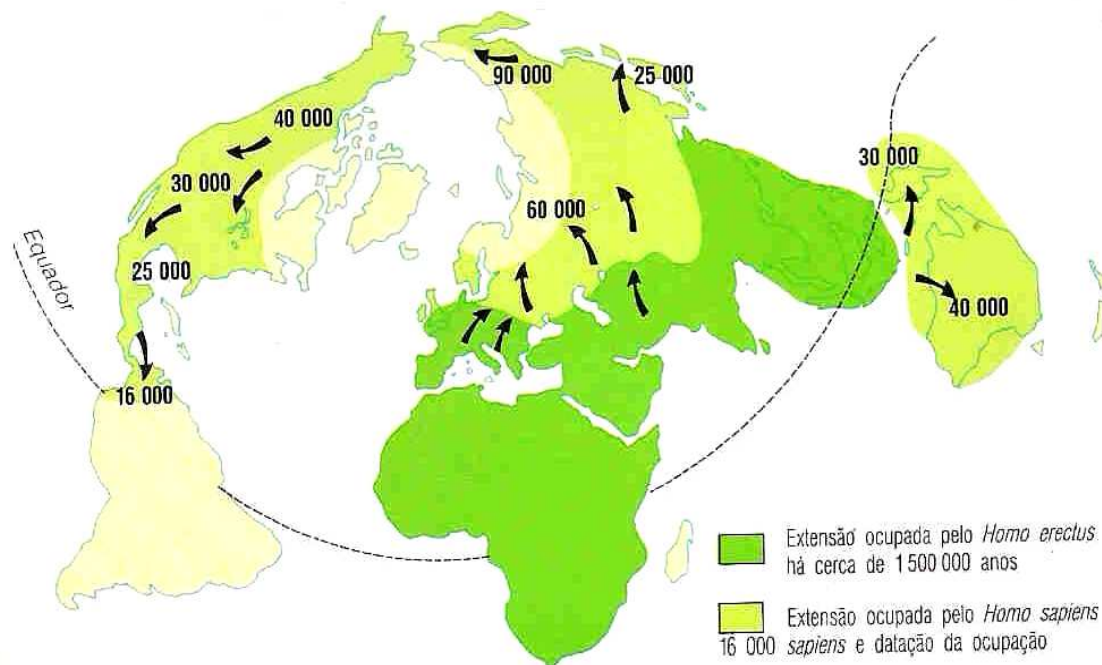


Figura I.11 – O homem à conquista do planeta (A Aventura da Vida, 1989)

Um dos vestígios mais antigos dos antepassados da espécie humana encontrado em Laetoli, actual Tanzânia, é um rasto de pegadas de criaturas humanóides que caminhavam erectas há cerca de 3,7 milhões de anos. A maior parte do globo foi povoada por seres humanos primitivos que se deslocavam de um lugar para o outro, quer como caçadores em perseguição de manadas, quer em busca de novas provisões alimentares. Os registos fósseis mostram uma complexa história de evolução, com várias espécies a dispersarem-se pelo planeta, provavelmente a partir de antepassados comuns oriundos de África. A nossa própria subespécie, o *Homo sapiens sapiens*, apareceu em África há mais de 100 000 anos e parece ter-se espalhado para norte, chegando a quase todas as partes do mundo há 10 000 anos. Calcula-se que, nessa altura, a população mundial se situasse entre 5 e 10 milhões de habitantes (Grande Atlas Universal, 1997, O Novo Atlas do Mundo, 1992).

A análise genética confirmou registos fósseis, que indicavam que há cerca de 5 milhões de anos os seres humanos partilharam antepassados comuns com macacos de grande porte, como chimpanzés e gorilas. Os homínídeos e as espécies humanas primitivas evoluíram e saíram de África antes do aparecimento do *Homo sapiens sapiens* – homem moderno – também em África há já 130 000 anos (Grande Atlas Universal, 1997, O Novo Atlas do Mundo, 1992, A Aventura da Vida, 1989).

A escrita separa a história da pré-história, e é através dela que chega até aos dias de hoje a informação das primeiras civilizações e das suas culturas. Crê-se que o grande degelo, no final do último período glaciário, há cerca de 10 000 anos, pode ser o grande responsável pela fixação dos homens, constituindo assim as primeiras aldeias, inicialmente agrícolas. Estas aldeias desenvolveram-se em cidades organizadas e com uma vasta população onde já se encontrariam profissões em vários ramos que não só agricultura, por exemplo: comércio, indústria, medicina e religião (O Novo Atlas do Mundo, 1992).



## África

O povoamento de África é muito remoto e os achados fósseis desde o macaco ao homem – *Australopithecus* – levantam a suspeita de que se pode tratar de um dos berços da Humanidade. Contudo, esta parte do Velho Mundo é, por diversos aspectos, um continente jovem, cujo subsolo guarda grande parte das riquezas necessárias e desejadas pelas sociedades mais desenvolvidas, ao mesmo tempo que conta com uma série de países que só há poucos anos iniciaram sozinhos a sua marcha. Os habitantes actuais mais antigos são os pigmeus e os bosquímanos, que são raças primitivas com características muito distintas, embora a maior parte do continente seja habitada por indivíduos melânicos, ou seja, de pele negra (Geografia Universal, 1991).

O continente africano é assim tradicionalmente denominado como “O Continente Negro”, em alusão à cor da pele dos seus habitantes. A simplicidade da visão eurocêntrica que considera que os “outros”, isto é, os indivíduos que não fazem parte do seu grupo, podem ser, de uma forma simples, agrupados por categorias genéricas, é um duplo equívoco, já que nem todos os africanos são negros, e nem estes são susceptíveis de serem agrupados sob uma única classificação (Geografia Universal, 1991). A classificação destes povos não pode ser realizada somente com base nos tipos físicos, designados também por ‘raças’, presentes neste continente, uma vez que a origem dos tipos físicos remonta a uma época antiga, muito anterior às épocas retratadas em registos históricos, e a distinção entre Negros e Brancos não é patente senão na parte ocidental do continente, sendo que no Nordeste africano a situação é muito mais complexa. Para uma correcta classificação deve-se também recorrer a critérios linguísticos, que podem fornecer mais indicações, tendo sempre em consideração que as línguas evoluem continuamente, diversificam-se em dialectos, algumas desaparecem enquanto outras se tornam dominantes (Sellier, J, 2004).

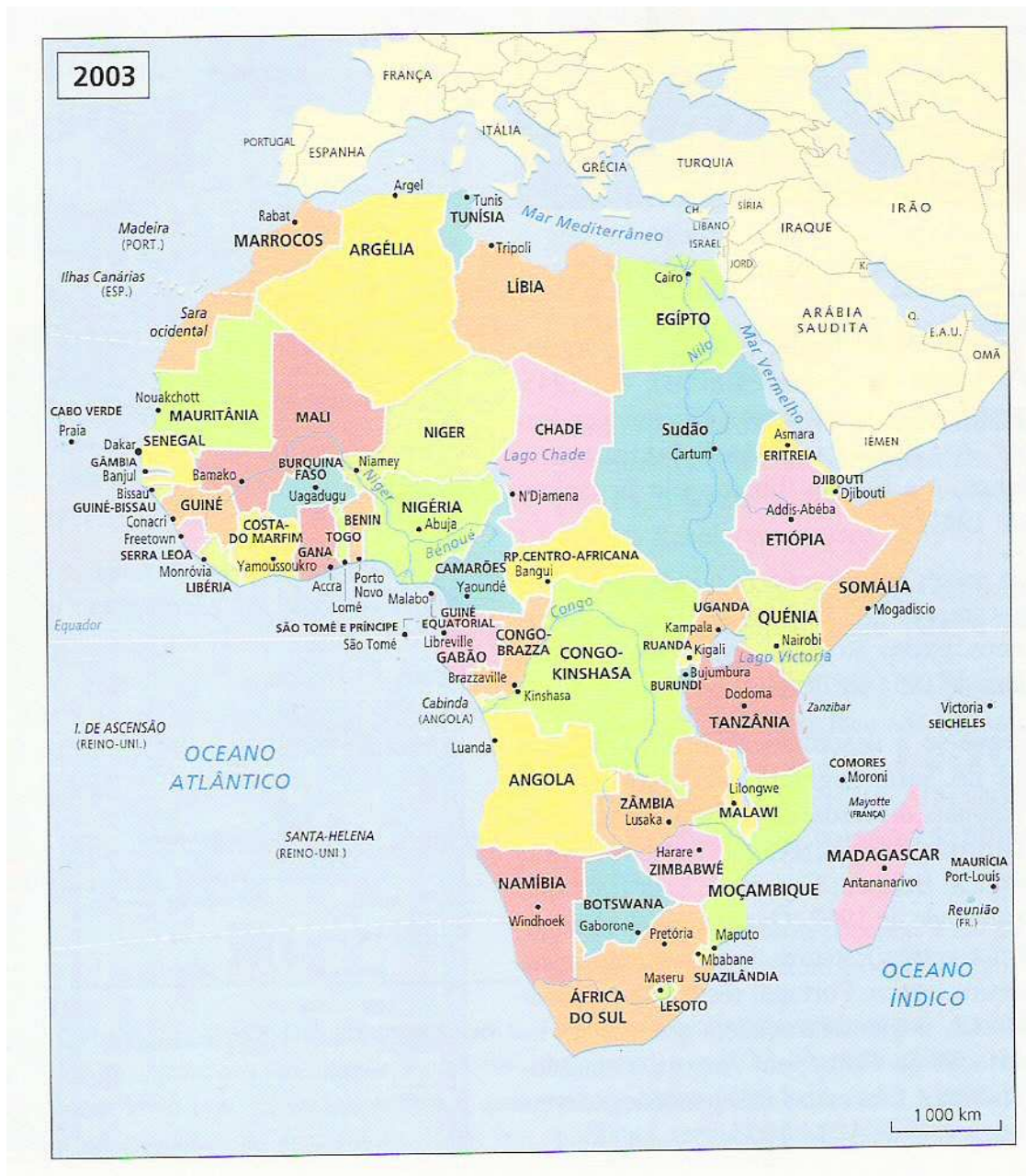
A variedade de povos e línguas africanas reflectem a história deste continente. O processo de criação de Estados e Impérios na África iniciou-se há muito tempo (Egipto: 4000 a.C., Cuxe: 2000 a.C.). Pouco depois do surgimento dos antigos egípcios apareceu outra civilização africana chamada Cuxe. A civilização cuxita localizou-se no mesmo curso do rio Nilo, porém mais ao sul numa área denominada Núbia, região de minas de ouro. Durante a sua existência, o Estado cuxita manteve variados tipos de relações internacionais com o Estado vizinho, o Egipto: de início comerciais, depois conflitos territoriais e guerras de fronteiras. Entretanto, na parte ocidental do continente, ao lado do Oceano Atlântico, em torno do grande rio Níger, estados poderosos sucederam-se ao longo dos séculos X e XIV, como por exemplo, os reinos de Gana, Mali e Songai. Perto do litoral do golfo do Benin, os povos organizaram-se em cidades-estados independentes como os chamados Estados Yorubás e outros em confederações, como por exemplo, a dos Achantis. Mais ao sul, junto à floresta equatorial, desenvolveram-se os reinos do Congo e Ngola. Do outro lado do continente, na sua parte oriental, existiu um Império de nome Monomotapa controlador da rota do ouro desta área, assim como o foi o reino do Gana na África Ocidental. Na costa africana oriental, banhada pelo Oceano Índico, desenvolveu-se uma civilização formada por cidades-estados autónomas e em conflitos pelo domínio dos mares e o comércio internacional com árabes, indianos e chineses. Estes povos, conhecidos como a civilização Swahili, criaram uma cultura tão profundamente enraizada que até hoje marca os países dessa região da África (*in*: “Germinal – Jornal da Oposição Operária –. *África: berço da humanidade e da civilização*” – ‘on-line’ no seguinte endereço electrónico: [http://sites.uol.com.br/opop/ger\\_n7\\_4.htm](http://sites.uol.com.br/opop/ger_n7_4.htm)).

As populações de línguas afro-asiáticas ocupam o Norte e o Nordeste do continente. Distinguem-se quatro grandes grupos: o egípcio (a língua egípcia antiga), o berbere (em toda a África do Norte, do Oeste do Egipto ao Atlântico), o couchítico (no maciço etíope e no Corno de África), e o chadiano (a oeste do lago chade). Na orla meridional do Sara, do Alto e Médio Vale do Nilo até à curva do Níger, situam-se as populações de línguas nilo-sarianas. A sua repartição parece resultar das migrações antigas de este para oeste. Parece que as línguas nigerocongolesas tiveram como berço a região do Alto Senegal e do Alto Níger. Tendo as populações

falantes destas línguas chegaram aos actuais Camarões no decurso do II milénio a.C. A expansão prosseguiu depois para leste e sudoeste (Sellier J, 2004).

Actualmente, todo o norte de África, sensivelmente até ao paralelo 15, é habitado por populações caucasianas autóctones, os berberes, às que se vieram juntar outras populações imigrantes, também de origem caucasiana, os árabes. Por outro lado, as negróides são constituídas por um grande número de povos, com tantas diferenças entre eles, como as diferenças existente entre os gregos e os noruegueses. Existe ainda no extremo sul do continente uma minoria muito poderosa de origem caucasiana de procedência europeia. São numerosos e distintos os povos negros de África, que são considerados como vastas comunidades étnicas, partilhando a mesma origem e o mesmo idioma, mas estes povos são formados por numerosos subgrupos, formando um mosaico antropológico de extrema complexidade. Os loruba, por exemplo, um povo de 15 milhões de indivíduos que habitam a África Ocidental, subdividem-se, num primeiro nível, em mais de doze grandes tribos, rondando algumas, como a Ifé, um milhão de indivíduos. Este caso é paradigmático de muitos outros grupos étnicos (Geografia Universal, 1991).

À notável variedade étnica africana veio juntar-se, devido à colonização, um outro factor que vem deformatar o panorama humano do continente, o traçado dos limites dos estados, já por si numerosos, que partilham este continente (Fig. I.12). As potências europeias, ao dividir entre si este território, não tiveram em consideração a distribuição espacial dos povos autóctones, a ânsia de espaço e os interesses estratégicos foram preponderantes. Foi assim, com régua e compasso, numa procura de saídas marítimas e de acesso a zonas economicamente úteis ou militarmente seguras, que as áreas de influência foram delineadas. A descolonização, mais tarde, fez com que as incoerências originadas pela ambição política fossem levadas até aos novos estados. Muitos povos foram divididos por fronteiras artificiais (os já mencionados loruba habitam a Nigéria, o Benim e o Togo); a rebeldia que esta imposição originou conduziu (e conduz) a numerosos focos de constante instabilidade, que se traduzem em tensões, guerras, genocídios, opressão e violência (Sellier J, 2004, Geografia Universal, 1991).



**Figura I.12** – Mapa do Continente Africano com representação das fronteiras dos 54 Estados independentes, que o constituíam no ano de 2003 (Sellier, J, 2004).

## Os descobrimentos portugueses

A grande epopeia dos descobrimentos teve início no século XV, quando navegadores europeus começaram a aventurar-se no Atlântico (O Novo Atlas do Mundo, 1992). A Expansão Marítima mobilizava muita gente. Nos tempos iniciais, o embarque era preenchido por tripulações de navegantes. No entanto, à medida que aconteciam descobertas e se impunha como necessário realizar ocupação de terras, toda a organização se complicou.

O Infante D. Henrique empenhou-se desde o início em recrutar pessoal para empreender a colonização das Ilhas Atlânticas. Saíram famílias inteiras da Extremadura, do Alto Alentejo e do Algarve, para os arquipélagos da Madeira e dos Açores. Com elas foi gado e foram produções agrícolas. Também as feitorias e as fortalezas que se erguiam na costa de África precisavam de empregados e de militares. Com todos eles, para dilatar a Fé cristã, seguiam missionários. E não eram só portugueses que emigravam: eram também flamengos, italianos, franceses e alemães (Dicionário Enciclopédico História Portugal, 1990, on-line no seguinte endereço: <http://descobrimentos.tripod.com/>).

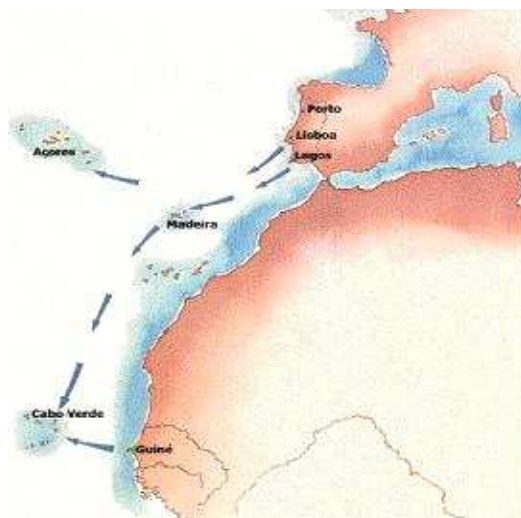
Em 1446 dá-se o primeiro contacto dos portugueses com a costa da actual Guiné-Bissau numa área exclusivamente habitada por populações animistas. Nessa altura o "Mandimansa" (Imperador mandinga) do Malí era quem exercia influência em grande parte da região do interior. Depois da queda do império as províncias, particularmente a de Gabú, localizada na região da senegêmbia, centrava-se no nordeste da Guiné-Bissau e estendia-se pelo actual Senegal, formaram reinos independentes, que por sua vez, devido a guerras constantes se enfraqueceram e desapareceram (on-line em: [www.tchando.com/gui4.html](http://www.tchando.com/gui4.html)).

Os Mandingas, oriundos do Sudão, terão constituído um dos mais antigos grupos étnicos da região da Guiné-Bissau, estabelecendo-se e dominando a sua região oriental. Posteriormente, vindos também do leste, os Fulas ficaram servos dos Beafadas (já habitantes da região) e Mandingas, tendo-se revoltado no séc. XIX, cruzando-se com mulheres Mandingas,

Beafadas e Balantas (outro povo que habitava esta região). O povo Guineense é actualmente constituído por um grande número de grupos étnicos populosos nomeadamente os Fulas, os Balantas, os Manjacos, os Mandingas ou os Papéis. Entre outros grupos étnicos minoritários estão os Brames ou Mancanhas, os Beafadas, os Bijagós (que seria também um dos grupos mais antigos da Guiné-Bissau), os Felupes, os Cunantes ou Mansoancas, os Baiotes, os Nalus, os Banhunes e os Cassangas. A população Guineense era constituída por 1 080 000 habitantes em 1995.

Mais tarde dá-se o descobrimento do arquipélago de Cabo Verde, entre os anos de 1460 e 1462, na sequência de viagens de exploração da costa ocidental africana, efectuadas por navegadores portugueses. No regresso de uma dessas viagens foi encontrada a primeira ilha do arquipélago a que chamaram Santiago e as ilhas de Maio, Fogo, Sá e Boavista, sendo as restantes e os dois ilhéus Branco e Raso achados, entre 1461 e 1462. Apesar da proximidade da costa, as ilhas não eram habitadas aquando da chegada dos portugueses. No entanto, devido à sua posição geográfica, no meio do Atlântico, desde logo se tornaram ponto de paragem das armadas para abastecimento de água e de alimentos frescos e entreposto de escravos (on-line no seguinte endereço: [http://descobrimentos.tripod.com/](http://descobrimientos.tripod.com/)).

O Arquipélago de Cabo Verde estava deserto quando foi descoberto no ano de 1460. O seu povoamento foi feito no decorrer de vários séculos com pessoas oriundas da Madeira, dos Açores e de Portugal continental, sobretudo do Algarve mas também do Norte do País. No séc. XVI participaram também no povoamento do arquipélago alguns colonos Castelhanos. No início do povoamento foram levados para as ilhas de Santiago e Fogo negros, escravos da Guiné, de etnia Mandinga, Fula e Felupe oriundos da região entre o Senegal e a Serra Leoa. Posteriormente participaram também no povoamento grupos populacionais de etnia Balanta, Bijagós, Papel e outros (Fig. I.13). Originando a formação de três castas nas ilhas: os brancos, descendentes de europeus puros, os negros, descendentes de escravos e escravas, e os chamados "mulatos", nascidos de uniões mistas de brancos provenientes da Europa e negros provenientes da Guiné, e esta última categoria aumentou em número no século XVI, quando começaram a mandar condenados para o arquipélago, para ali cumprirem as suas penas.



**Figura I.13** – Movimento de Homens e mercadorias durante os descobrimentos portugueses do arquipélago de Cabo Verde e República da Guiné-Bissau (adaptado do mapa disponível on-line no seguinte endereço: <http://descobrimientos.tripod.com/>).

Subsequentemente todas as outras ilhas foram sendo povoadas mais ou menos nos mesmos moldes, ainda que de forma um tanto ou quanto irregular, reproduzindo-se nelas estruturas sociais mais ou menos idênticas. Os antecedentes étnicos que compõem a população cabo-verdiana são essencialmente constituídos por portugueses do Sul de Portugal (mas não só) e africanos de diferentes origens de que destacamos Jalofos, Bambaras, Lebus, Tucurores, Fulas, Mandingas e Bijagós, da África Ocidental (on-line: [www.multiculturas.com/cabo\\_verde](http://www.multiculturas.com/cabo_verde)). Muitos dos africanos que foram viver nas ilhas eram homens e mulheres livres. Estes africanos livres tinham ido para Cabo Verde com comerciantes, missionários e capitães de navios. Eram educados segundo os padrões da época, conheciam bem a língua portuguesa, era baptizados e professavam a religião cristã. Por volta dos séculos XVIII e XIX, o número de homens e mulheres nascidos livres tinha aumentado consideravelmente, enquanto diminuía o número de escravos, devido por um lado à depressão económica, e por outro lado devido ao facto de o tráfico de escravos estar a ser condenado, até ser finalmente banido em 1878. Em 1950 a população de Cabo Verde era constituída por 3019 brancos, 42 484 negros e 101 498 mestiços ou mulatos, com proporções variáveis entre as diversas ilhas. Estima-se que a população total fosse de cerca de 390 250 pessoas em 1995.

## **África Contemporânea**

Aquando da fundação da ONU – Organização das Nações Unidas – em 1945, começa a verificar-se a independência sucessiva dos estados africanos, em 1941 os Britânicos libertam a Libéria, a União Sul-Africana, o Egito e a Etiópia, quase todos países árabes acedem à independência nos anos cinquenta (Líbia, Sudão, Tunísia e Marrocos). Segue-se a descolonização ao sul do Sara dos estados sob a soberania da Grã-Bretanha, França, Bélgica e Espanha. Ao contrário destes, Portugal recusa-se a descolonizar, o que desencadeia guerras de libertação na Guiné-Bissau, Angola e em Moçambique, o que se concretiza somente em 1974 – 1975. São casos particulares de independência tardia as Comores, as Seicheles, o Djiboutie o Zimbabué (Sellier J, 2004).

Em 2003 contabilizavam-se 54 estados africanos independentes (Fig I.12), um grande número destes países experimentou depois da independência graves tensões internas, e alguns, mesmo guerras civis (Sellier J, 2004).



## 6. GEOGRAFIA FÍSICA E HUMANA

### GUINÉ-BISSAU

A República da Guiné-Bissau, antiga Guiné Portuguesa, foi proclamada unilateralmente independente em Setembro de 1973, sendo reconhecida a sua independência por Portugal doze meses depois (Fig. I.14). Situa-se na costa ocidental africana, entre o Senegal, a norte, e a Guiné-Conacri, a oeste e sul, este jovem país distanciou-se politicamente a partir de 1980 da República Insular de Cabo Verde, com a qual tinha estado fortemente unida durante o longo caminho para a sua independência. Em 1956, um Cabo-verdiano, Amílcar Cabral, cria na Guiné Portuguesa o Partido Africano para a Independência da Guiné e Cabo Verde (PAIGC), o movimento implanta-se entre os animistas (Balantes e outros), mas suscita a hostilidade dos Fula, que favorecem os Portugueses. A guerrilha tem início no sul em 1963, sendo Amílcar Cabral assassinado em 1973 em Conacri. No ano seguinte, na sequência da mudança de regime em Lisboa, a Guiné-Bissau acede à independência sob a presidência de Luís Cabral, irmão de Amílcar Cabral. Após a independência o PAIGC, partido único, tenta instaurar um regime socialista. Luís Cabral procura uma união com Cabo Verde, sendo derrubado em 1980 pelo seu Primeiro-ministro, Bernardo João Vieira, originário da Guiné. Em 1994 têm lugar as primeiras eleições gerais pluralistas, onde o PAIGC ganha por pouca vantagem (Sellier, J, 2004, Geografia Universal, 1991, Dicionário Enciclopédico da História Portugal, 1990, e on-line nos seguintes endereços: <http://mbendi.co.za/cygbmps2.gif>, <http://mbendi.co.za/land/af/gb/p0005.htm>, [http://www.sas.upenn.edu/African\\_Studies/Country\\_Specific/G\\_Bissau.html](http://www.sas.upenn.edu/African_Studies/Country_Specific/G_Bissau.html)).

Os 36 128 Km<sup>2</sup> da Guiné-Bissau incluem o arquipélago de Bijagós, constituído pelas ilhas Bolama, Caravela, Formosa, Orango, Uno e Roxa, entre outras (Fig. I.14). A sua população é de aproximadamente 1 500 000 habitantes, apresentando uma densidade média de acordo com a dos países vizinhos, que reflecte a situação da maior parte das zonas, que possuem somente cerca de dez habitantes por quilómetro quadrado, exceptuam-se a cidade de Bissau e

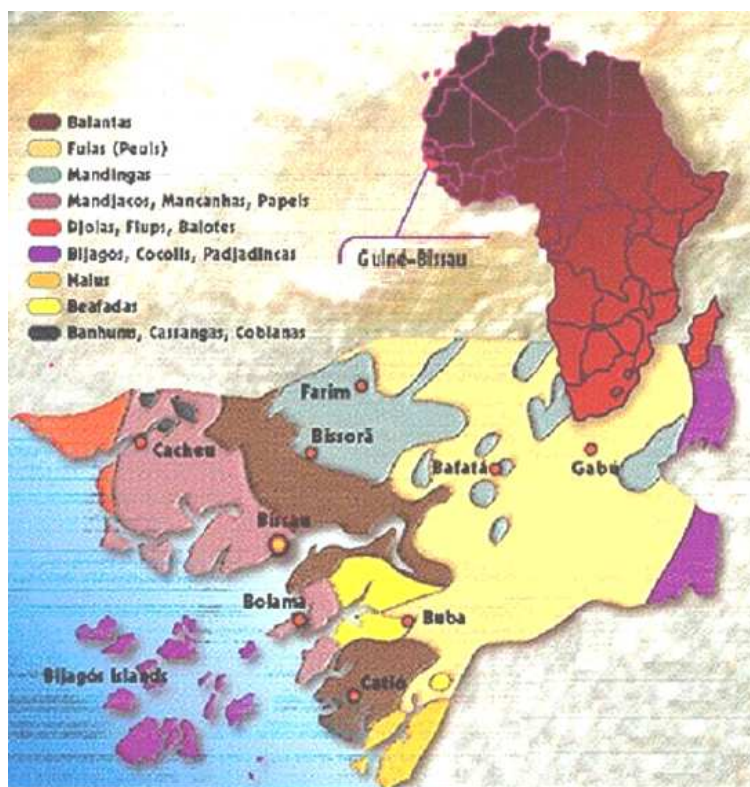
as regiões de Quinara, Gabú e Bolama – Bijagós, muito densamente povoadas. Bissau, a capital, é a cidade mais povoada, com mais de 100 000 habitantes, o que favorece uma maior concentração humana no litoral, em detrimento das regiões interiores, onde no momento da independência se instalou a capital, em Madina do Boé (Sellier J, 2004, Grande Atlas Universal, 1997, Geografia Universal, 1991).



**Figura I.14** – Mapa da república da Guiné-Bissau, adaptado do apresentado no endereço electrónico: [http://www.sas.upenn.edu/African\\_Studies/Country\\_Specific/G\\_Bissau.html](http://www.sas.upenn.edu/African_Studies/Country_Specific/G_Bissau.html).

A composição étnica da Guiné – Bissau, da mesma forma que a dos restantes países da África Ocidental, é variada, contabilizam-se cerca de 40 grupos étnicos diferentes, os grupos maioritários localizam-se próximo da costa e são os Balantas (cerca de 25% da população), os Manjacos (cerca de 12%) e os Papel (10%), no interior encontram-se os Fulas (20%) e os

Mandingas (11%), como se pode verificar na figura I.15 (Sellier, J, 2004, Grande Atlas Universal, 1997, Geografia Universal, 1991, on-line em: <http://www.tchando.com/gui4.html>).



**Figura I.15** – Mapa étnico da Guiné-Bissau, adaptado de <http://www.tchando.com/gui4.html>.

Portugal deixou marcas pouco profundas na Guiné-Bissau, a nível cultural, religioso ou mesmo económico, uma vez que uma das principais tarefas do Partido Africano para a Independência da Guiné e Cabo Verde (PAIGC) foi a implantação, a nível geral, de um sistema monetário. Em maio de 1997, tendo recebido uma substancial ajuda financeira francesa, a Guiné – Bissau adoptou o franco, CFA, como moeda. Contudo a Língua Portuguesa foi adoptada e é ainda hoje falada juntamente com o Crioulo, uma língua baseada no português, mas com introdução de vocábulos e estruturas africanos (Sellier, J, 2004, Grande Atlas Universal, 1997, Geografia Universal, 1991, Dicionário Enciclopédico da História Portugal, 1990).

## CABO VERDE

A República de Cabo Verde situa-se a aproximadamente 445 Km a oeste da costa Senegalesa. Com uma superfície de aproximadamente 4033,5 Km<sup>2</sup>, é um ecossistema insular, composto por dez ilhas, nove das quais habitadas, e oito ilhéus (fig. I.16). Divide-se em dois arquipélagos: o do Barlavento, com 2230 Km<sup>2</sup>, composto pelas ilhas de Santo Antão, São Vicente, São Nicolau, Sal, Boavista e Santa Luzia (desabitada) e os ilhéus dos Pássaros, Branco e Raso; e o do Sotavento, com 1803 Km<sup>2</sup>, composto pelas ilhas de Brava, Fogo, Santiago e Maio, e os ilhéus de Santa Maria, Luís Carneiro, Capado Grande e Cima. (Sellier, J, 2004, Grande Atlas Universal, 1997, Geografia Universal, 1991, Dicionário Enciclopédico da História Portugal, 1990, <http://www.mbendi.co.za/cycvmmps2.gif>, <http://mbendi.co.za/land/af/cv/p0005.htm>, [http://www.sas.upenn.edu/African\\_Studies/Country\\_Specific/C\\_Verde.html](http://www.sas.upenn.edu/African_Studies/Country_Specific/C_Verde.html)).



**Figura I.16** – Mapa da república de Cabo Verde, adaptado do apresentado no endereço electrónico: [http://www.sas.upenn.edu/African\\_Studies/Country\\_Specific/C\\_Verde.html](http://www.sas.upenn.edu/African_Studies/Country_Specific/C_Verde.html).

Cabo Verde permaneceu sob o domínio português desde o séc. XV até 1975, ano em que alcançou a independência. Ficando sob presidência de Aristides Pereira, um dos dirigentes do Partido Africano para a Independência da Guiné e Cabo Verde (PAIGC) que, ao malograr-se a pretendida união política com a Guiné – Bissau, devido ao golpe militar ocorrido em 1980 neste país, Aristides Pereira instaura, de imediato, o Partido Africano para a Independência de Cabo Verde (PAICV). Após a independência estabeleceram como capital do arquipélago a cidade Praia na ilha de Santiago. A grande herança portuguesa deixada em Cabo Verde é a Língua, a par do Português é também falado o Crioulo, à semelhança da Guiné-Bissau (Sellier J, 2004, Grande Atlas Universal, 1997, Geografia Universal, 1991, Dic. Enc. História Portugal, 1990).

A história demográfica de Cabo Verde apresenta constantes altos e baixos, com rápidos crescimentos populacionais e grandes retrocessos, devidos a secas, piratarias, fome e epidemias. Verificando-se uma elevada taxa de emigração, estima-se em cerca de 400 000 Cabo – verdianos residam fora do país, sendo que a maioria se encontra nos Estados Unidos da América. Já a partir de 1950, o crescimento tornou-se contínuo, contabilizando, actualmente, cerca de 460 000 habitantes, 20% dos quais residentes em centros urbanos. As ilhas mais povoadas são: Santiago (146 000 hab.), Santo Antão (44 000 hab.), São Vicente (42 000 hab.) e Fogo (31 000 hab.). As restantes ilhas, Boavista, Maio, Sal, Brava e São Nicolau, oscilam entre os 3 500 e os 14 000 habitantes (Sellier, J, 2004, Grande Atlas Universal, 1997, Geografia Universal, 1991).

Os cabo-verdianos provêm de uma mistura de negro – africanos ocidentais com europeus, principalmente portugueses. Num âmbito geral, pode-se considerar como mestiços 70% dos habitantes, e os africanos sem cruzamento representam 28%, a restante população é composta por descendentes europeus (Geografia Universal, 1991).

