

Equilíbrio de Hardy-Weinberg: aplicações e implicações

Meta da aula

Apresentar as aplicações e conseqüências do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) em uma população.

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Descrever a Lei de Hardy-Weinberg, suas aplicações e implicações.
- Executar o cálculo das freqüências gênicas e genotípicas, e também do teste do qui-quadrado.

Pré-requisito

Para acompanhar esta aula, é essencial que você domine o cálculo das freqüências gênicas e genotípicas que aprendemos na Aula 5 da disciplina Evolução.

INTRODUÇÃO

Nesta aula, vamos falar sobre a aplicação do conceito do equilíbrio das freqüências, as implicações desse princípio e como testar se determinada população está em equilíbrio.

O Princípio de Hardy-Weinberg proveu os fundamentos para diversas teorias e investigações experimentais em Genética de Populações. Contudo, esse teorema não é infalível e sua aplicabilidade não é universal.



Lembre-se dos conceitos e das vantagens da utilização de modelos matemáticos que vimos na aula passada!!

Apesar da virtude da simplicidade do Modelo de EHW, por que alguém consideraria um modelo fundamentado nessas condições restritivas (tamanho infinito da população, cruzamento ao acaso e sem o efeito de ação das forças evolutivas) e aparentemente incorretas?

Por que o EHW, um modelo tão simples, pode ser considerado fundamental?

Entre diversas razões, duas são as principais:

1) o Modelo de Hardy-Weinberg é um referencial, no qual não existem forças evolutivas atuando, a não ser aquelas impostas pelo processo de reprodução.

Esse modelo fornece uma linha básica de comparação com modelos mais reais, em que as forças evolutivas atuam alterando as freqüências dos alelos.

2) o Modelo de Hardy-Weinberg separa o ciclo de vida de um organismo em dois intervalos: 2.1) a junção dos gametas formando um zigoto, gametas → zigotos, e 2.2) o desenvolvimento do zigoto em adulto, expressando determinado fenótipo, zigotos → adultos (**Figura 6.1**).

Na construção de modelos mais complexos e reais, podemos freqüentemente introduzir complicações na segunda etapa do ciclo de vida (zigotos → adultos), considerando os efeitos de migração na população ou de sobrevivência diferenciada entre os genótipos.

Com todas as fontes de mudança nas freqüências de alelos, causadas pela componente de transição zigotos → adultos, a componente gametas → zigotos, partindo do princípio da união ao acaso dos gametas, acompanha e resulta na proporção de Hardy-Weinberg entre os zigotos.

Em outras palavras, o modelo de Hardy-Weinberg é fundamental para que abordagens de acompanhamento das freqüências de alelos e genótipos, através do tempo, possam ser generalizadas para situações mais reais.

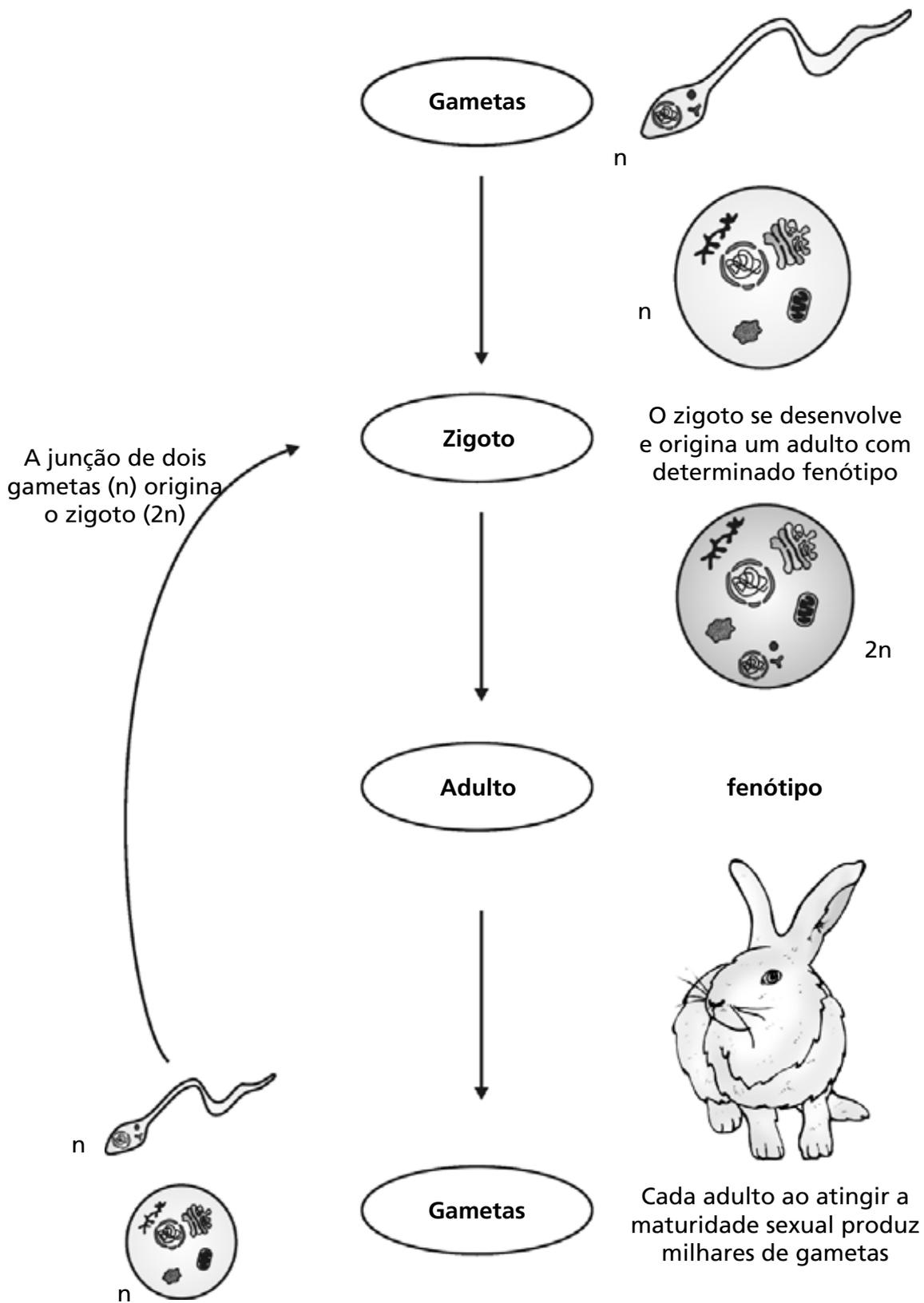


Figura 6.1: Representação esquemática do ciclo de vida de um organismo, em que os gametas formarão os zigotos, que se desenvolvem nos adultos. Esses, por sua vez, apresentam determinado fenótipo e produzem os gametas da geração seguinte, fechando, assim, o ciclo.

IMPLICAÇÕES DO PRINCÍPIO DE HARDY-WEINBERG

Uma das implicações mais importantes do princípio de Hardy-Weinberg surge quando calculamos a frequência de alelos p' e q' de A e a na geração seguinte.

Cruzamento	Frequência de cruzamentos	Frequência de genótipos da prole		
		AA	Aa	aa
AA x AA	D^2	1	0	0
AA x Aa	$2DH$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	0
AA x aa	$2DR$	0	1	0
Aa x Aa	H^2	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$
Aa x aa	$2HR$	0	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$
aa x aa	R^2	0	0	1
Totais (geração seguinte)		D'	H'	R'

Onde:

$$D' = D^2 + 2DH/2 + H^2/4 = (D + H/2)^2 = p^2$$

$$H' = 2DH/2 + 2DR + H^2/2 + 2HR/2 = 2(D + H/2)(R + H/2) = 2pq$$

$$R' = H^2/4 + 2HR/2 + R^2 = (R + H/2)^2 = q^2$$

$$p' = (2D' + H')/2 = (2p^2 + 2pq)/2 = p(p + q) = p$$

$$q' = (2R' + H')/2 = (2q^2 + 2pq)/2 = q(q + p) = q$$

Em outras palavras, a frequência de alelos na geração seguinte é exatamente a mesma da geração anterior: a frequência de alelos permanece a mesma, geração após geração, quando ocorre acasalamento ao acaso.

Da mesma forma, as frequências genotípicas serão p^2 , $2pq$, q^2 para os genótipos AA, Aa e aa, respectivamente, em qualquer geração.

A constância da frequência de alelos e conseqüentemente da composição genotípica da população significa que, na ausência de forças evolutivas específicas para modificar as frequências dos alelos, o mecanismo da herança mendeliana, por si só, mantém as frequências dos alelos constantes e, assim, preserva a variabilidade genética.



O conceito mais importante do Equilíbrio de Hardy-Weinberg é a constância das frequências gênicas e genotípicas, ao longo das gerações.

APLICAÇÕES DO PRINCÍPIO DE HARDY-WEINBERG

Existem três situações em que a aplicação da Lei de Hardy-Weinberg é muito útil.

- 1) Para calcular a frequência gênica de um alelo recessivo.
- 2) Para calcular a frequência de 'portadores'.
- 3) Para testar o Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A primeira situação seria para calcular a frequência gênica de um alelo recessivo. Essa frequência pode ser determinada a partir da frequência genotípica, desde que se conheça a natureza da herança e a sequência dos três tipos de genótipos. No caso de herança dominante com dominância completa, o heterozigoto não pode ser distinguido do homozigoto dominante; portanto, não podemos calcular as frequências gênicas. No entanto, se os genótipos estiverem nas proporções da Lei de Hardy-Weinberg, não há necessidade de conhecer as frequências dos três tipos de genótipos. Se a , por exemplo, for um alelo recessivo com frequência igual a q , então, a frequência de homozigotos aa é igual a q^2 , e a frequência gênica é igual à raiz quadrada da frequência do homozigoto recessivo.

Exemplo 6.1

O albinismo é a expressão fenotípica de um genótipo recessivo homozigoto. Uma fonte avalia que a frequência de albinos na população norte-americana é de 1 em 20.000. Que percentagem da população é de heterozigotos para este gene?

RESOLUÇÃO

A frequência de homozigotos recessivos é igual a $q^2 = 1/20.000 = 0,00005$; assim, a raiz quadrada deste valor é igual a $q = 0,007$. Sabemos que $p + q = 1,0$, de modo que, se $q = 0,007$, $p = 1 - 0,007 = 0,993$.

Tendo os valores das frequências gênicas p e q , é fácil calcular a frequência de heterozigotos para o alelo do albinismo. Pela Teoria de Hardy-Weinberg, sabemos que a frequência de heterozigotos é igual a $2pq$, então, $2pq = 2 \times 0,993 \times 0,007 = 0,013902$ ou aproximadamente 1,4% (1 em 71 pessoas).

ALCAPTONÚRIA

É um distúrbio hereditário, resultante de um erro inato do metabolismo (uma enzima – cujo gene sofreu mutação – que não executa mais sua função), e que se caracteriza pelo escurecimento da urina causado por acúmulo de ácido homogentísico (similar à melanina).

Exemplo 6.2

A **ALCAPTONÚRIA**, que resulta da expressão do homozigoto de um gene autossômico recessivo, ocorre em cerca de 1 em 1 milhão de pessoas. Qual a proporção de 'portadores' heterozigotos na população?

RESOLUÇÃO

Da mesma forma que no exemplo anterior, a frequência de homozigotos recessivos é igual a $q^2 = 1/1.000.000 = 0,000001$. Então, $q = \sqrt{0,000001} = 0,001$ e $p = 1 - 0,001 = 0,999$. A frequência de heterozigotos é igual a $2pq = 2 \times 0,999 \times 0,001 = 0,001998$ (2%) ou cerca de 1 em 500 pessoas.

A segunda situação seria calcular a frequência de 'portadores'.

É muito comum o interesse em conhecer a frequência dos heterozigotos ou 'portadores' de anormalidades recessivas. Esse cálculo pode ser efetuado se a frequência do gene é conhecida e se assumirmos o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), em que a frequência de heterozigotos entre todos os indivíduos, incluindo homozigotos, será dada pela equação: $2q(1-q)$. Entretanto, algumas vezes é mais relevante conhecer a frequência entre indivíduos normais, embora não seja muito diferente se os homozigotos recessivos forem raros. A frequência de heterozigotos entre indivíduos normais (H') é a razão das frequências genotípicas $Aa/(AA + Aa)$, em que a é o alelo recessivo. Assim, quando q é a frequência de a ,

$$H' = \frac{2q(1-q)}{(1-q)^2 + 2q(1-q)} = \frac{2q}{1+q}$$

Exemplo 6.3

Vamos aplicar a fórmula apresentada nos casos de albinismo e alcaptonúria:

1) Para o albinismo, onde $q = 0,007$, temos que $H' = 2q/1 + q = 2 \times 0,007 / 1 + 0,007 = 0,013902$ ou aproximadamente 1,4% (1 em 71 pessoas).

2) Para a alcaptonúria, onde $q = 0,001$, temos que $H' = 2q/1 + q = 2 \times 0,001 / 1 + 0,001 = 0,001998$ (2%) ou cerca de 1 em 500 pessoas.

A terceira situação seria testar o Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Se existem dados para um loco onde todos os genótipos são reconhecíveis, a frequência dos genótipos observada na população real pode ser testada para a concordância ou não com uma população em EHW. De acordo com a Lei de Hardy-Weinberg, a frequência genotípica da prole é determinada pela frequência gênica em seus pais. Se a população estiver em equilíbrio, a frequência gênica é a mesma nos pais e na prole; assim, a frequência gênica observada na prole pode ser usada como se fosse a frequência gênica parental para calcular as frequências genotípicas esperadas pela Lei de Hardy-Weinberg.

TESTE DO QUI-QUADRADO

O mero fato de as frequências genotípicas observadas poderem adequar-se ao EHW não pode ser considerado evidência de que todas as suposições do modelo sejam válidas.

O princípio não é muito sensível a certos desvios das suposições, particularmente àqueles envolvendo um grande tamanho de população com ausência de migração, mutação ou seleção. Por outro lado, a relativa insensibilidade a desvios de suas suposições fornece ao princípio alguma segurança, porque significa que o EHW pode ser válido para uma primeira aproximação, mesmo quando uma ou mais suposições são violadas.

O teste mais utilizado para checar a adequação (validade) de dados observados no EHW é o teste do qui-quadrado. Esse teste é normalmente simbolizado por X^2 e, sob a hipótese do EHW, o X^2 possui uma distribuição aproximada de qui-quadrados.

Aplicações do teste do X^2 podem ser ilustradas pelo exemplo dos parisienses analisados para o polimorfismo da deleção ($\Delta 32$) no gene *CCDR5*. Foram listados 224 homocigotos $+/+$, 64 heterocigotos $+\Delta 32$ e 6 homocigotos $\Delta 32 / \Delta 32$. As frequências dos alelos p para $+$ e q para $\Delta 32$ foram estimadas, anteriormente, como sendo $\langle p \rangle = 0,871$ e $\langle q \rangle = 0,129$. Com o EHW para essas frequências de alelos, as frequências genotípicas esperadas são $p^2 = (0,871)^2 = 0,758$; $2pq = 2(0,871)(0,129) = 0,225$ e $q^2 = (0,129)^2 = 0,017$. Multiplicando cada valor pelo tamanho da amostra, 294 pessoas ($224 + 64 + 6$), os resultados esperados são 22,9, 66,2 e 4,9. Essa conversão é necessária porque o teste do qui-quadrado deve ser fundamentado em números observados e não em razões ou proporções. A comparação é entre números observados (obs) e esperados (esp):

obs	224	64	6	Total = 294
esp	222,9	66,2	4,9	Total = 294

O valor do X^2 é calculado como:

$$\chi^2 = \frac{\sum (\text{obs} - \text{esp})^2}{\text{esp}},$$

onde o símbolo Σ significa a soma de todas as classes de dados, neste caso, dos três genótipos. No nosso exemplo:

$$\chi^2 = \frac{(224 - 222,9)^2}{222,9} + \frac{(64 - 66,2)^2}{66,2} + \frac{(6 - 4,9)^2}{4,9} = 0,32$$

Associado a qualquer valor de X^2 está outro número chamado 'graus de liberdade' para este X^2 . Em geral, o número de graus de liberdade (gl) associado a um X^2 é igual ao número de classes dos dados (nesse exemplo, 3) menos o número de parâmetros estimados (porque calculamos o p como $1 - q$) menos 1 (porque a decisão final entre duas variáveis não permite liberdades). Por exemplo, em uma loja de sapatos você pode calçar vários pares, na ordem e combinação que desejar. No entanto, ao calçar o último par não há mais liberdade de escolha, já que, se você calçou o pé esquerdo primeiro, será obrigado a calçar o pé direito depois. Não há escolha para o último pé de sapato, ou seja, não há liberdade. Assim, o número de graus de liberdade para o nosso valor de X^2 é $3 - 1 - 1 = 1$.

A real avaliação da adequação é dada pela figura de interpretação de teste de qui-quadrado (Figura 6.2).

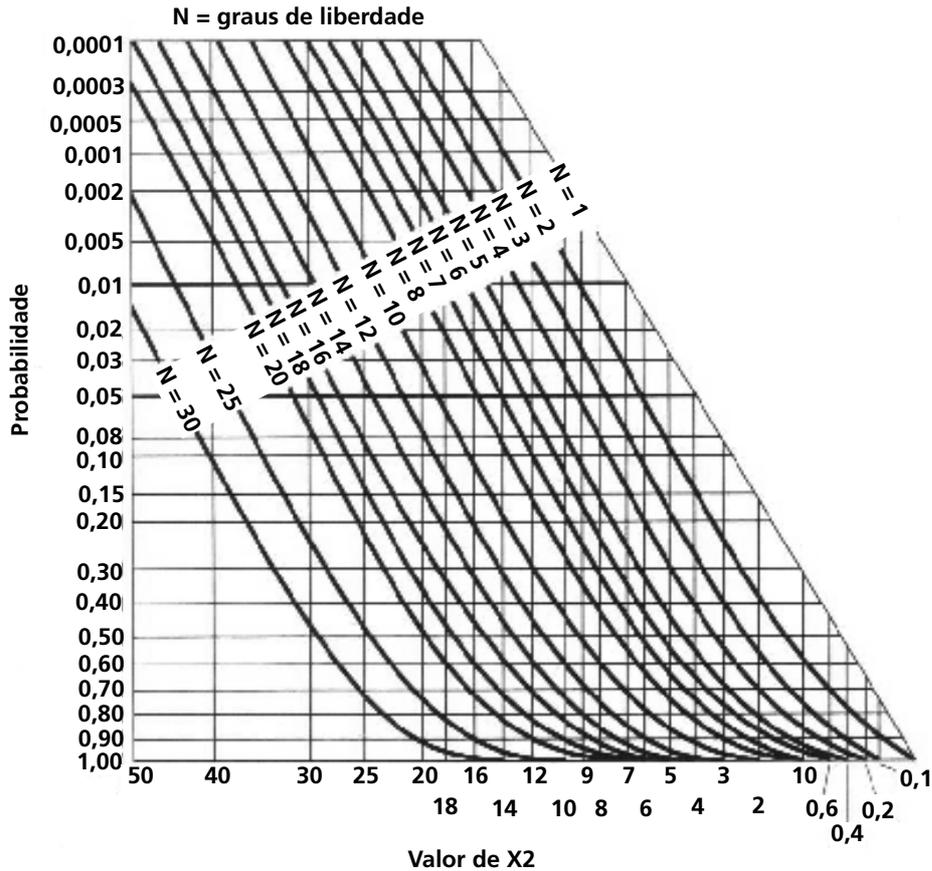


Figura 6.2: Relação entre os valores de probabilidade (P) com qui-quadrado (X^2), segundo o número de graus de liberdade (gl).

Para utilizar a figura do qui-quadrado, ache, primeiro, o valor do X^2 ao longo do eixo horizontal; então, siga verticalmente, a partir deste valor, até achar a interseção com a linha dos graus de liberdade; siga horizontalmente à esquerda até o eixo vertical e leia o valor correspondente de probabilidade (P).

No nosso exemplo:

$$X^2 = 0,32 \text{ e } gl = 1 = P = 0,63$$

Essa probabilidade tem a seguinte interpretação: é a probabilidade de o acaso sozinho produzir um desvio entre os valores observados e esperados, pelo menos tão grande quanto o desvio real obtido.

Dessa forma, se a probabilidade for grande, significa que o acaso pode ser o responsável pelo desvio, aumentando nossa confiança na validade do modelo utilizado para obter as expectativas – nesse caso, o EHW.

Ao contrário, se a probabilidade associada com o qui-quadrado for pequena, significa que o acaso sozinho dificilmente levou a um desvio tão grande quanto o obtido, diminuindo nossa confiança na validade do modelo.

Onde, exatamente, fica o limite entre a probabilidade 'grande' e a probabilidade 'pequena'?

Se a probabilidade for menor do que 0,05 ($P < 0,05$), então o resultado é dito estatisticamente significativo, e a adequação é considerada suficientemente pobre para o modelo ser julgado inválido para os dados. Alternativamente, se a probabilidade for maior do que 0,05 ($P > 0,05$), a adequação é considerada suficientemente próxima e o modelo é aceito.

No nosso exemplo, $P = 0,63$, consideravelmente maior do que 0,05; portanto, não temos razões para rejeitar a hipótese de que essas freqüências genóticas estejam em EHW para esse gene.

ATIVIDADES



1. Fenilcetonúria (PKU) é uma doença metabólica humana causada por um único gene recessivo. Os homozigotos podem ser detectados alguns dias após o nascimento, pelo teste do pezinho. Este teste, realizado durante um período de três anos, em bebês nascidos na cidade de Birmingham, Inglaterra, detectou 5 casos de PKU em 55.715 nascimentos. Calcule:

- a) as freqüências genóticas;
- b) as freqüências gênicas.

RESPOSTA COMENTADA

Vimos, nesta aula, que uma das aplicações do EHW seria calcular a freqüência gênica de um alelo recessivo. Na PKU, os heterozigotos não podem ser distinguidos dos homozigotos para o alelo dominante; mas, se os genótipos estiverem nas proporções da Lei de Hardy-Weinberg, não há necessidade de conhecer as freqüências dos três tipos de genótipos. Se f , por exemplo, for o alelo recessivo que, em homozigose, origina a fenilcetonúria, e se esse alelo tem freqüência igual a q , então a freqüência de homozigotos ff é igual a q^2 . Assim, a freqüência gênica será igual à raiz quadrada da freqüência do homozigoto recessivo. Vamos tentar com os números do exercício:

- a) a freqüência genotípica ff será: $q^2 = 5/55,715 = 0,000089$; e
- b) a freqüência gênica de f (q) será a raiz quadrada de 0,000089; $q = 0,00947$,

logo a frequência de $F(p) = 1 - 0,00947 = 0,99053$.

Tendo as frequências gênicas de $f(q)$ e $F(p)$, podemos calcular as frequências genotípicas dos homozigotos FF e dos heterozigotos Ff . Assim, $FF = p^2 = 0,99053 \times 0,99053 = 0,9811$ e $Ff = 2pq = 2 \times 0,99053 \times 0,00947 = 0,0188$.

2. A capacidade de sentir o gosto do composto PTC (do inglês: *phenylthio-carbamate*) é controlada por um alelo dominante T , enquanto que indivíduos homozigotos para o alelo recessivo t são incapazes de sentir o gosto desse composto. Em uma turma de 125 estudantes de Genética, 88 são capazes de sentir o gosto do PTC e 37 são incapazes. Calcule as frequências dos alelos T e t nessa população e as frequências dos genótipos.

RESPOSTA COMENTADA

Da mesma forma que no exercício 6.1, não é possível distinguir os homozigotos TT dos heterozigotos Tt , já que ambos são capazes de sentir o gosto do PTC. No entanto, podemos calcular a frequência do genótipo tt que será: $q^2 = 37/125 = 0,29$. A frequência gênica de t (q) será a raiz quadrada de 0,29; $q = 0,54$; logo, a frequência de T (p) = $1 - 0,54 = 0,46$. Tendo as frequências gênicas de t (q) e T (p), podemos calcular as frequências genotípicas dos homozigotos TT e dos heterozigotos Tt . Assim, $TT = p^2 = 0,46 \times 0,46 = 0,21$ e $Tt = 2pq = 2 \times 0,46 \times 0,54 = 0,50$.

3. Proceda ao teste de qui-quadrado de adequação entre as frequências genotípicas observadas e as esperadas no EHW para o resultado resumido na tabela abaixo. Existe alguma razão para rejeitar a hipótese de proporção de HW para esse gene?

Caso da mariposa *Panaxia dominula*:

Genótipo	Observado	Esperado
A_1A_1	17,062	17,061
A_1A_2	1,295	1,287
A_2A_2	28	37

RESPOSTA COMENTADA

O valor do χ^2 é calculado como: $\chi^2 = \sum (\text{obs} - \text{esp})^2 / \text{esp}$,

ASSIM:

$$\chi^2 = \frac{(17,062 - 17,061)^2}{17,061} + \frac{(1,295 - 1,287)^2}{1,28737} + \frac{(28 - 37)^2}{37} =$$

$\chi^2 = 0,0000586 + 0,049728 + 2,1892 = 2,239$. O número de graus de liberdade para o nosso valor de χ^2 é: 3 classes de genótipos - 1 - 1 = 1, que corresponde a uma probabilidade de 0,35. Como $P = 0,35$ é maior do que 0,05, não temos razões para rejeitar a hipótese de que essas frequências genotípicas estejam em EHW para esse gene; em outras palavras: a população encontra-se em condições de equilíbrio.

4. No grupo sanguíneo Ss, relacionado com o sistema MN, três fenótipos correspondentes aos genótipos SS, Ss e ss podem ser identificados com reagentes apropriados. Entre 1.000 pessoas testadas, o número observado de cada genótipo para o grupo Ss foi de: 99 SS, 418 Ss e 483 ss. Estime a frequência de S (p) e s (q) e proceda ao teste de qui-quadrado de adequação entre as frequências genotípicas observadas e as esperadas no EHW. Existe alguma razão para rejeitar a hipótese de proporção de HW para este gene?

RESPOSTA COMENTADA

Frequências genotípicas:

Número total de pessoas testadas = 1.000

$$SS = 99 / 1.000 = 0,099$$

$$Ss = 418 / 1.000 = 0,418$$

$$ss = 483 / 1.000 = 0,483$$

Note que a soma de todas as frequências genotípicas sempre corresponde à unidade ou 100% ($0,099 + 0,418 + 0,483 = 1$).

Frequências gênicas:

Número total de cópias dos genes $1.000 \times 2 = 2.000$ alelos

$$S = (99 \times 2) + (418 \times 1) = 616; fS = p = 616 / 2.000 = 0,308$$

$$s = (483 \times 2) + (418 \times 1) = 1.384; fs = q = 1.384 / 2.000 = 0,692$$

Note que a soma das frequências gênicas sempre corresponde à unidade ou 100% ($0,308 + 0,692 = 1$).

Também podemos calcular a frequência gênica de s (q) como a raiz quadrada de $0,483$; $q = 0,69$; logo, a frequência de S (p) = $1 - 0,69 = 0,31$.

Número esperado de pessoas:

$$SS = p^2 = 0,308 \times 0,308 = 0,095 \times 1000 = 95$$

$$Ss = 2pq = 2 \times 0,308 \times 0,692 = 0,426 \times 1000 = 426$$

$$ss = q^2 = 0,692 \times 0,692 = 0,479 \times 1000 = 479$$

Resumindo:

Genótipo	Observado	Esperado
SS	99	95
Ss	418	426
Ss	483	479

O valor do χ^2 é calculado como: $\chi^2 = \sum (\text{obs} - \text{esp})^2 / \text{esp}$

$$\chi^2 = \frac{(99 - 95)^2}{95} + \frac{(418 - 426)^2}{426} + \frac{(483 - 479)^2}{479} =$$

$$\chi^2 = 0,168 + 1,150 + 0,033 = 0,351$$

O número de graus de liberdade para o nosso valor de χ^2 é: 3 classes de genótipos - 1 - 1 = 1, que corresponde a uma probabilidade de 0.85 (85%). Como $P = 0.85$ é muito maior do que 0.05, concluímos que esta população encontra-se em EHW para este gene.

RESUMO

Existem três situações em que a aplicação da Lei de Hardy-Weinberg é muito útil: para calcular a frequência gênica de um alelo recessivo; para calcular a frequência dos heterozigotos ou “portadores” de anormalidades recessivas e para testar se as frequências em determinada população estão ou não em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Esse teorema não possui aplicabilidade universal; apenas fornece uma linha básica de comparação com modelos mais reais. Uma das implicações importantes do Princípio de Hardy-Weinberg é a de que as frequências dos alelos permanecem constantes, geração após geração, quando ocorre cruzamento ao acaso.

O teste mais utilizado para checar a validade de dados observados no EHW é o teste do qui-quadrado, simbolizado por χ^2 . O teste do qui-quadrado trabalha com números, e não com razões ou proporções, e é calculado pela fórmula:

$$\chi^2 = \sum (\text{obs} - \text{esp})^2 / \text{esp}$$

AUTO-AVALIAÇÃO

Você entendeu como se aplica o teste do qui-quadrado? Releia a seção desta aula, em que descrevemos como utilizamos números para calcular a probabilidade de determinados genes de uma população estarem ou não em EHW. Faça os exercícios, e sempre retorne aos exemplos, quando houver as dúvidas. Passe à aula seguinte somente quando se sentir seguro no cálculo do teste do qui-quadrado.

INFORMAÇÃO SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, falaremos sobre o que acontece com as frequências gênicas e genotípicas quando são rompidas as condições básicas do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).