

RECISATEC – REVISTA CIENTÍFICA SAÚDE E TECNOLOGIA
ISSN 2763-8405

GENÉTICA E POLIMORFISMO: UMA ABORDAGEM SOBRE MINISSATÉLITES E MICROSSATÉLITES E SUAS CONTRIBUIÇÕES

GENETICS AND POLYMORPHISM: AN APPROACH ON MINISATELITES AND MICROSATELITES AND THEIR CONTRIBUTION

GENÉTICA Y POLIMORFISMO: UN ENFOQUE SOBRE MINISATELITES Y MICROSATELITES Y SU CONTRIBUCIÓN

Ana Lívia da Silva Fonsêca[1], Maria Clara Costa da Rocha[2], Rutineia de Sousa[3], Antoniel de Oliveira Soares[4], Amanna Raquel Cunha de Almeida[5], Emanuelle Gardênia Penha de Freitas[6]

e25136
https://doi.org/10.53612/recisatec.v2i5.136

PUBLICADO: 05/2022

RESUMO

A análise do DNA é um estudo primordial na biologia molecular, não apenas para o entendimento da base central da vida, mas também como auxílio na investigação de possíveis anomalias prejudiciais à saúde humana. Sua importância no diagnóstico molecular se tornou expressiva e alcança, no panorama atual, diversas áreas. Inclui-se dentro dessa análise a ideia de polimorfismo e sua ajuda na área acadêmica, e científica, para a pesquisa e prática de meios moleculares, os quais utilizam o conceito da comparação entre DNA's com a ajuda de técnicas como a Reação da Cadeia da Polimerase (PCR), a Eletroforese e o Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (RFLP). O objetivo do presente texto é enfatizar a importância do polimorfismo genético na biologia molecular, assim como discutir seus principais tipos e sua contribuição no resultado de exames. O estudo é uma revisão narrativa, no qual foram analisados e avaliados diversos estudos publicados em periódicos, bases de dados e bibliografias acadêmicas, durante as duas últimas décadas. Com o intuito de selecionar os estudos de maior evidência científica, favorecendo a construção de uma definição concisa e objetiva sobre o gene e suas possibilidades polimórficas.

PALAVRAS-CHAVE: Polimorfismo Genético. Genética. Biologia Molecular. STR. VNTR

ABSTRACT

DNA analysis is a primordial study in molecular biology, not only for the understanding of the central basis of life, but also as an aid in the investigation of possible anomalies harmful to human health. Its importance in molecular diagnosis has become expressive and reaches, in the current panorama, several areas. Included in this analysis is the idea of polymorphism and its help in the academic and scientific area, for research and practice of molecular means, which use the concept of comparison between DNA's with the help of techniques such as Polymerase Chain Reaction (PCR), Electrophoresis and the Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). The aim of this paper is to emphasize the importance of genetic polymorphism in molecular biology, as well as to discuss its main types and its contribution to test results. The study is a narrative review, in which several studies published in journals, databases and academic bibliographies during the last two decades were analyzed and evaluated. The purpose was to select the studies with the greatest scientific evidence, favoring the construction of a concise and objective definition of the gene and its polymorphic possibilities.

KEYWORDS: *Polymorphism. Gene. Genetics. Molecular Biology. STR. VNTR*

[1] Universidade Potiguar
[2] Universidade Potiguar
[3] Universidade Potiguar
[4] Universidade Potiguar
[5] Universidade Potiguar
[6] Universidade Potiguar



RECISATEC – REVISTA CIENTÍFICA SAÚDE E TECNOLOGIA
ISSN 2763-8405

RESUMEN
El análisis de ADN es un estudio primario en biología molecular, no solo para comprender la base central de la vida, sino también como ayuda en la investigación de posibles anomalías perjudiciales para la salud humana. Su importancia en el diagnóstico molecular se ha vuelto expresiva y alcanza, en el panorama actual, varias áreas. La idea del polimorfismo y su ayuda en el campo académico y científico para la investigación y práctica de medios moleculares se incluyen dentro de este análisis, que utilizan el concepto de comparación de adn con la ayuda de técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la electroforesis y el polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP). El objetivo de esta revisión sistemática es enfatizar la importancia del polimorfismo genético en biología molecular, así como discutir sus principales tipos y su contribución a los resultados de las pruebas. El estudio es una revisión sistemática, en la que se analizaron y evaluaron varios estudios publicados en revistas, bases de datos y bibliografías académicas durante las últimas dos décadas. Con el fin de seleccionar los estudios de mayor evidencia científica, favoreciendo la construcción de una definición concisa y objetiva sobre el gen y sus posibilidades polimórficas.

PALABRAS CLAVE*: Polimorfismo genético. Genética. Biología molecular. STR. VNTR.*

INTRODUÇÃO

Desde os estudos de Charles Darwin, a discussão sobre a vida, sobrevivência, diferenças morfológicas e evolução são discutidas no meio acadêmico. É inegável que décadas depois a descoberta do ADN se tornou crucial para biologia molecular, pois somente assim foi possível avançar os estudos e entender as mudanças, estruturas e funções em um nível além do micro (PAPAVERO, 2014).

A necessidade de se desenvolver novas técnicas, com objetivo de entender as patologias e alterações moleculares de forma específica, a cada momento se tornou mais expressiva, visto que mudanças patológicas aconteciam – e acontecem – rapidamente e de forma constante. Assim, a base dessas técnicas se refere a um mesmo pilar, o ADN – Ácido Desoxirribonucleico (MEDEIROS NETO, 2019).

A utilização da informação genômica, nesse processo, expandiu o conhecimento para o entendimento de herança gênica, mutações e variações genéticas que são caracterizadas pela individualidade de cada ser, a exemplo o polimorfismo - definido por variações na rede, ou unidade, de nucleotídeos. Esse último permite analisar o ADN de forma minuciosa e aprofundada, servindo como principal ferramenta para a diferenciação humana, solução de crimes e observação de mudanças moleculares que possam vir a trazer algum malefício ao indivíduo (AGUIAR, 2017, p. 6).

1. CONCEITOS GERAIS DA GENÉTICA

O estudo da biologia molecular, embora tenha proporcionado grande desenvolvimento para a compreensão da vida e da evolução, ainda é recente para o período histórico, visto que seus focos iniciais se deram com a Teoria da Evolução de Alfred Russel Wallace e Charles Darwin, durante a segunda metade do século XIX. A ideia desse postulado tem base na compreensão de parentescos entre os seres vivos e a capacidade de sobrevivência tida pelos indivíduos adaptados (PAPAVERO, 2014).

RECISATEC – REVISTA CIENTÍFICA SAÚDE E TECNOLOGIA
ISSN 2763-8405

Em sequência, o pesquisador Gregor Mendel, no ano de 1865, com seu trabalho de observação que tinha como foco a explicação da hereditariedade por meio de vegetais – ervilhas puras – que ao se cruzarem rapidamente poderiam provar a existência de uma ordem na distribuição genômica através das gerações, teoria essa que ficou conhecida como Lei de Mendel (ASTRAUSKAS, 2009).

a) ÁCIDOS NUCLEICOS

Incluído dentro da perspectiva bioquímica, os ácidos nucleicos são grandes moléculas que se responsabilizam em manter o controle de todo o funcionamento do organismo, desde os micros aos macrossistemas. Participam principalmente na formação do material genético, ADN – ácido desoxirribonucleico – e do ARN – ácido ribonucleico (SNUSTAD; SIMMONS, 2018).

O ADN é uma dupla fita helicoidal, de acordo com as pesquisas de Rosalind Franklin (1920 – 1958) e posteriormente os pesquisadores Watson e Crick, composta por um açúcar – pentose -, fosfato – SO4 – e uma base nitrogenada. Essa última pode ser dividida em dois tipos: púricas (Adenina e Guanina) e pirimídicas (Timina e Citosina) que se atraem entre si, em pares específicos, por meio de pontes de hidrogênio, o que traz estabilidade a molécula (SNUSTAD; SIMMONS, 2018).

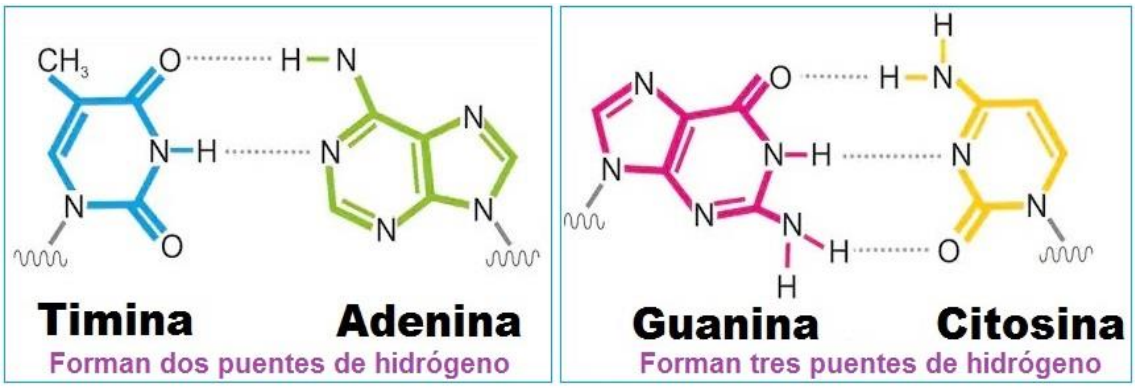

Figura 1: Exemplifica quimicamente como acontecem as ligações ponte de hidrogênio entre as ligações purinas e pirimidinas.
Fonte: https://formacioneducabiogeo.blogspot.com/2020/04/acidos-nucleicos.html

Nesse ácido é encontrada toda informação necessária para a característica física e funcional do ser vivo, possuindo partes codificantes – que expressam uma informação a ser utilizada na produção de proteínas – e não codificantes – ainda busca-se entender o papel funcional dessa parte do genoma humano, no entanto, acredita-se que sejam características inerentes ao ser ou possibilidades genotípicas não selecionadas pelas enzimas de restrição (SNUSTAD; SIMMONS, 2018).

Já o ARN é caracterizado por uma fita única, que se origina (nos eucariotos) de uma transcrição de uma fita molde de ADN, tendo a sua base nitrogenada pirimídica Uracila no lugar de Timina. Sendo basicamente subdividido em rRNA, tRNA e mRNA, com funções especificas (LEITE, 2013).



RECISATEC – REVISTA CIENTÍFICA SAÚDE E TECNOLOGIA
ISSN 2763-8405

Tipo de Ácido Ribonucleico	*Função*
rRNA	Fazem parte da estrutura dos ribossomos.
mRNA	Possuem a informação necessária para a síntese de aminoácidos nos ribossomos.
tRNA	Carregam a informação identificada, do núcleo aos ribossomos, onde são lidos e produzem aminoácidos.
**snRNA, microRNA, lncRNA*	Fragmentos de ARN que podem ser encontrados no núcleo.

b) GENE, GENÓTIPO E FENÓTIPO

Com o desenvolvimento da genética como uma área científica de grande complexidade, vários termos foram criados, aprimorados, excluídos ou modificados para melhor interpretação do conceito abordado. Dentre estes, está o conceito de gene, genótipo e fenótipo, idealizados pelo pesquisador Wilhelm Ludwig Johannsen (DELLA JUSTINA, 2010).

c) CROMOSSOMOS E ALELOS

Formados por ADNs condensados em formato de bastão e unidos por um centrômero, os cromossomos são as estruturas que possuem toda a informação de um ser, de forma hereditária. Os seres humanos possuem 46 cromossomos, em que 50% são do progenitor masculino e o restante do feminino. Dois desses cromossomos são sexuais, ou seja, definem a que gênero biológico o indivíduo irá expressar (MEDEIROS NETO, 2019).

Alelo é a nomenclatura dada as diferentes possibilidades que um gene tem de se expressar. Logo, em um gene que possui a informação sobre a cor da pele de um determinado indivíduo, existem alelos com diferentes possibilidades, da qual apenas um será o responsável por expressar – de forma "aleatória", definida pelo *crossing over* – uma informação genotípica e em sequência fenotípica (MEDEIROS NETO, 2019).

2. POLIMORFISMO GENÉTICO

Etimologicamente, o termo polimorfismo, vem do latim *"polymorphism",* que se refere à: muitas *("poly")* formas *(morph).* Esse significado contribui para a compreensão de que são inúmeras formas de uma parte genômica, ou alelo. Uma característica imperiosa de seu termo é a variação genética em sequência, que se apresenta de diferentes formas em determinados indivíduos (HAMEED, 2014).

O polimorfismo apresenta a capacidade de diferenciar os indivíduos, por meio de marcadores, atualmente conhecidos como minissatélites e microssatélites. Essas informações de marcadores podem ser passadas hereditariamente, pelo processo de *linkage.* No entanto, esses marcadores não são passados completamente, apenas alguns são escolhidos, durante o *crossing over*, e das duas partes progenitoras – paterno e materno – o que possibilita também a relação genica entre esses indivíduos (ROCHA, 2007).

RECISATEC – REVISTA CIENTÍFICA SAÚDE E TECNOLOGIA
ISSN 2763-8405

Como variações genéticas, é importante diferir o polimorfismo da mutação, visto que por definição errônea, ambos são comumente associados a um só. A mutação, como o nome sugere, é uma mudança no material genético, de modo a mudar a informação a ser transcrita e traduzida, estando principalmente relacionada à síntese de proteínas. Essa pode ocasionar, com apenas uma troca de base, uma modificação fatal ao indivíduo, tanto genotípica, como fenotipicamente. Normalmente são fenômenos, logo há uma porcentagem de margem inferior a 1%, podendo ser classificada como rara.

Já os polimorfismos apresentam caráter indispensável, visto que todos os indivíduos necessitam de pelo menos uma diferenciação genética e essas são as variações que podem ocorrer em toda sequência genômica humana. Ainda hoje, pode-se classificar, analiticamente, como variações superiores a 1%, servindo como uma impressão digital genômica. No entanto, esse termo futuramente passará a ser modificado para variante alélicas (BARBOSA, 2018).

Mais uma forma de diferenciação é que normalmente as mutações estão associadas a patogenia – doenças ou síndromes. Em contrapartida, o polimorfismo tem baixo grau de malefício. Esse último fator pode ser explicado por meio da própria capacidade do polimorfismo de ser variável, visto que grande parte dessas variações estão localizadas em áreas não codificantes – introns – ou seja, partes do DNA que não são traduzidas, mas isso não interfere que o polimorfismo venha a causar doenças (DECANINE, 2016).

Os polimorfismos podem apresentar fenótipos graves, quando em um determinado gene, um alelo apresentar sequências de nucleotídeos que se repitam mais que o padrão. Visto que pelo aumento das sequências, aumenta-se a possibilidade de eles se encontrarem em parte exônicas. A exemplo, a doença de Huntington, em que as repetições dos nucleotídeos (minissatélites) acontecem entre 40 e 100 vezes – quando em pessoas que não apresentam a doença, essas repetições permanecem em um intervalo de 5 a 35 (*European Huntington's Disease Network*, 2022).

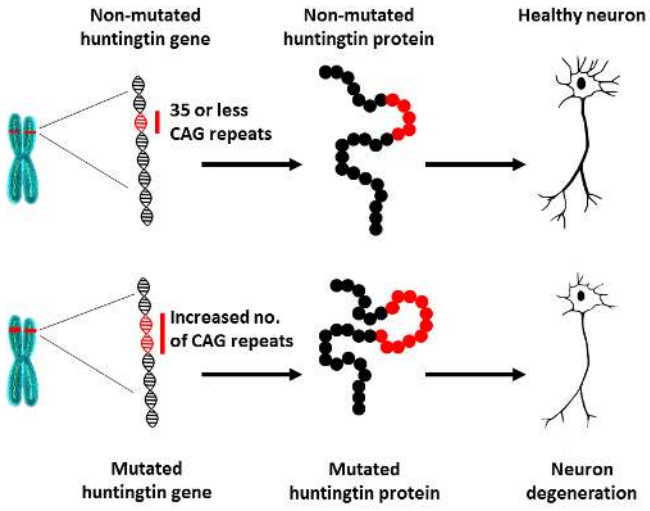

Figura 2: Exemplificação de como o polimorfismo pode ser patológico, devido a quantidade de repetições de seus pares de bases maiores que o intervalo padrão.
Fonte: European Huntington's Disease Network

3. MINISSATÉLITES E MICROSSATÉLITES

Devido à grande diferenciação dos indivíduos ao longo do ADN é utilizada uma técnica que ajuda na identificação. O Polimorfismo no Comprimento do Fragmento de Restrição, ou RFLP, traduzido do inglês *Restriction Fragment Length Polymorphism*, utiliza de cortes no DNA, de forma específica, por meio de enzimas de restrição. Como resultado, pode-se ver com o auxílio da Eletroforese, bandas de diferentes tamanhos. Pelo chamado "perfil de digestão", gerado nesse processo em que fragmentos são diferidos por tamanho, é possível garantir que cada indivíduo possui o seu próprio padrão em bandas de ADN maiores, menores, mais densos ou menos robustos (AGUIAR, 2017).

A técnica de RFLP foi utilizada pela primeira vez em 1986, em um vilarejo de Enderby, devido o caso curioso de duas jovens - Lynda Mann (em 1983) e Dawn Ashcroft (1986) ambas de 15 anos - que foram encontradas mortas e com sinais de abuso sexual. Por pesquisa policial, foi coletada amostras de sêmen do assassino, o qual foi acusado como Richard Buckland, que confessou os dois crimes (BARBOSA, 2018).

Na mesma região, um pesquisador da Universidade Leicester publicou, em 1985, a descoberta de uma técnica que era capaz de identificar os indivíduos com uma taxa de erro menor que 1%, por meio de minissatélites. Esse cientista se chamava Alec Jeffreys e nomeou essa técnica como DNA *fingersprint*, traduzido como a impressão digital do ADN (ARAUJO; QUEIROZ, 2017).

Com o interesse da polícia, o RFLP foi utilizado pela primeira vez para verificação de um sêmen encontrado nas duas vítimas, verificando se seria do homem condenado. O resultado do teste garantiu a inocência de Richard e fez com que os policiais incentivassem uma campanha de doação de sangue, podendo ser analisado o sangue de todos os homens do vilarejo. No entanto, nenhum foi compatível com material do assassino. Apenas depois do conhecimento que Ian Kelly doou sangue no lugar de um amigo, que a polícia exigiu a coleta de Colin Pitchfork e foi comprovado que o homem era o estuprador (BARBOSA, 2018).

a) VNT'S: REPETIÇÕES CONSECUTIVAS DE NÚMERO VARIÁVEL

Do inglês *Variable Number of Tandem Repeats*, esses minissatélites foram os utilizados por Jeffreys em seus estudos. Com a ajuda do RFLP na restrição de sítios, é possível detectar, por meio de endonucleases, cadeias de nucleotídeos que se repetem. Esses sítios, ao serem identificados e isolados pelo recorte enzimático, permitem a visualização de bandas na eletroforese. Esses fragmentos de DNA criam um perfil genético e esse é diferente para cada pessoa (AGUIAR, 2017).

A principal característica do VNTR, é que a sua repetição está em cadeias de números variáveis que se concentram no intervalo de 10 a 100 nucleotídeos, logo são bandas grandes, o que pode dificultar na aplicação da técnica RFLP, caso o material biológico pesquisado esteja em quantidade limitada.

b) STR'S: REPETIÇÕES CURTAS EM TANDEM

Em 1985, Kary Mullis formulou uma técnica de replicação de ADN, conhecida hoje como Reação em Cadeia da Polimerase, ou PCR. Essa técnica substituiu a RFLP, devido as suas vantagens de multiplicação de material genético, quando esse estiver em pouca quantidade para pesquisa. Dessa forma, também foram desenvolvidos os *"shorts tandem repeat",* STR's ou microssatélites, os quais se assemelham, em função, aos minissatélites (AGUIAR, 2017).

Esses microssatélites possuem um intervalo de 2 a 9 pares de bases nucleotídeos que se repetem em sequências que diferem a cada indivíduo, o que permite que seja um bom marcador de identificação, podendo ser encontrado até mesmo em cromossomos sexuais. O STR é o mais utilizado, devido as suas cadeias serem menores e poderem ser encontrados em pouca quantidade de material biológico, ajudando inúmeros exames forenses, com ajuda o PCR multiplex (ARAUJO, 2017).

O *short tanden repeat*, como um marcador, pode se assemelhar em alguns indivíduos, ou seja, é possível que haja pessoas com a mesma quantidade de repetições de um determinado microssatélite. Contudo, nunca serão os mesmo em todos os STR's analisados – essa situação tem exceção quando o indivíduo possui um irmão gêmeo homozigoto. Dessa forma, são utilizados atualmente 13 microssatélites para a identificação de uma pessoa, de acordo com o CODIS, programa utilizado pelo FBI, *Federal Bureau of Investigation* (AMORIM, 2015). Logo, as 13 pequenas repetições em tandem utilizadas como referência, possuem uma nomenclatura própria para a Sociedade Internacional de Genética Forense, ISFG (ARAUJO, 2017).

NOMENCLATURA STRs	
Exemplo	Definição
D7**S**820	D: Referência à sigla DNA, de onde é retirada essa análise 7: O cromossomo que foi analisado. S: Referente ao microssatélite (STRs). 820: Identificação específica.

A nomenclatura acima, possui exceções quando os marcadores são encontrados em áreas dos alelos em que não há atividade codificante, ou seja, introns. Além de possuir inclusão de siglas "Y" ou "X", quando são analisados cromossomos sexuais, a exemplo tem o DYS385. Esse último, por não possui muitas recombinações – devido seu estado haploide – pode servir como melhor identificador de linhagem, sendo uma das estratégias para o teste de paternidade (ARAUJO, 2017).

c) CODIS: SISTEMA DE ÍNDICE DE DNA COMBINADO

Os laboratórios atuais utilizam uma base de 13 STRs, que foi definida pelo FBI pela ajuda dos perfis genéticos – de criminosos, detidos, desaparecidos e análises forenses – gerando uma rede de dados, denominada CODIS. Esses 13 microssatélites em padrão internacional são: CSF1PO, FGA,

TH01, TPOX, VWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51 e D21S11 (ARAUJO, 2017).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sob as análises alinhadas neste trabalho, pode-se observar que com o desenvolvimento da compreensão genética, o polimorfismo se define como uma variação genética – variante alélica – podendo proporcionar o entendimento da singularidade humana, por meio de análises de marcadores específicos, que no decorrer nos últimos anos vem sendo identificados, com a ajuda do Projeto Genoma Humano – pesquisa mundial que busca mapear toda a informação do ADN humano.

Consequentemente, a utilização de marcadores, tais como os VNTRs e STRs, se mostrou imperiosa para a biologia molecular, visto que esses proporcionam ajuda na identificação e diferenciação, por meio da análise de repetições de pares de bases específicas, conforme padronizado internacionalmente pelo CODIS. Como resultado disso, pode ser observado o desenvolvimento da pesquisa forense, na identificação de corpos ou na confirmação de suspeitos, além da assertividade nos exames de paternidade/maternidade, trazendo processos mais rápidos e confiáveis, no “padrão ouro’.

Dessa forma, é importante salientar a necessidade que a área científica possui de persistir nas pesquisas de biologia molecular para que se desenvolvam ainda mais técnicas que auxiliem a sociedade. Assim, futuramente poderá ser atribuída uma nova técnica para identificação, que possivelmente será capaz de diferenciar gêmeos monozigotos.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, Marina Abrantes. **Técnicas de biologia molecular na genética forense**. [*S. l.: s. n.*], 2017.

AMORIM, A. **Genética forense**. Lisboa: Academia das Ciências de Lisboa, 2015. ISBN 978-972-623-253-7.

ARAUJO, S.; QUEIROZ, P. **Estudo das aplicações forenses do DNA na obtenção da identificação humana**. 2017. TCC (Bacharel em Biomedicina) - Centro Universitário de Brasília, Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Brasilia, 2017.

ASTRAUSKAS, Jefferson Pereira et al. As Leis da Herança por Gregor Johann Mendel, uma revolução genética. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**, ano VII, n. 13, jul. 2009.

BARBOSA, R. P.; ROMANO, L. H. História e importância da genética na área forense. **Revista Saúde em Foco**, 10 ed., 2018.

DECANINE, D. O papel de marcadores moleculares na genética forense. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 5, n. 2, p. 18-27, 2016. ISSN 2237-9223.

DELLA JUSTINA, Lourdes Aparecida; CALUZI, João José; MEGGHLIORATTI, Fernanda Aparecida; CALDEIRA, Ana Maria. A herança genotípica proposta por Wilhelm Ludwig Johannsen. **Filosofia e História da Biologia**, v. 5, n. 1, p. 55-71, 2010. Disponível em: https://www.abfhib.org/FHB/FHB-05-1/FHB-05-1-04-Lourdes-Justina-et-al.pdf. Acesso em: mar. 2022.

EUROPEAN HUNTINGTON'S DISEASE NETWORK. **Advancing Research, Conducting Trials, Improving Care**.[S. l.]: EHSN, 2022. Disponível em: http://www.ehdn.org/.

HAMEED, I. H.; JEBOR, M. A.; OMMER, A. J.; YOKE, C.; ZADIAN, H. K.; AL-SAADI, A. H.; ABDULAZEEZ, M. A. Genetic variation and DNA markers in forensic analysis. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 31, 2014.

LEITE, V. S.; BATISTA, M. I.; SORIANO, E. P.; CARVALHO, M. V.; SOBRAL, A. P. Uso das técnicas de biologia molecular na genética forense. **Derecho y Cambio Social**, 2013. ISSN: 2224-4131.

MEDEIROS NETO, B. **Conceitos básicos da genética**. Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. ISBN 978-85-7247-421-4.

PAPAVERO, Nelson; SANTOS, Christian Fausto. Evolucionismo darwinista? Contribuições de Alfred Russel Wallace à Teoria da Evolução. **Revista Brasileira de História**, São Paulo, v. 34, n. 67, p. 159-180, 2014. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbh/a/G6z3gmqHCJPXzxrnTNj8mQP/?lang=pt&format=pdf. Acesso em: abr. 2022.

ROCHA, A. F.; MAIA, A. L. Polimorfismos genéticos: implicações na patogênese do carcinoma medular de tireóide. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 51, n. 5, 2007. Disponível: https://www.scielo.br/j/abem/a/HbHgZkYPkc7SP6HDQcv9tcr/?format=pdf&msclkid=06e9a15ec41f11ec8e4d2f06fc6f32ca. Acesso: 19 abr. 2022.

SNUSTAD, D. P.; SIMMONS, M. J. **Fundamentos de genética**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Gráfica Santuário, 2018.

TORTORA, Gerard J. **Princípios de anatomia e fisiologia**. 14. ed. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. 1201 p.