

**VARIABILIDADE GENÉTICA DO LOCO CHE2 DA ENZIMA
BUTIRILCOLINESTERASE HUMANA EM IDOSOS
GENETIC VARIABILITY OF CHE2 SITE OF THE ENZYME HUMAN
BUTYRYLCHOLINESTERASE IN THE ELDERLY**

Thamirys Milla Kozien ⁽¹⁾

Liya Regina Mikami ⁽²⁾

RESUMO

A butirilcolinesterase (BChE) é uma esterase sérica codificada pelo gene *BCHE*. Existem cinco formas moleculares da BChE no organismo: C1, C2, C3, C4 e C5. O complexo C5, produto da interação do gene *BCHE* com o loco *CHE2*, apresenta dois alelos, CHE2 C5+ e CHE2 C5-, caracterizados pela presença ou ausência da banda C5, respectivamente. Embora a função e o substrato preferencial permaneçam desconhecidos, a enzima é associada ao metabolismo de lipídeos e suas variáveis, como obesidade, colesterol, triglicérides, entre outros. Neste trabalho, através de eletroforese em gel de ágar, realizou-se a fenotipagem do loco CHE2 de 55 amostras de idosos, pela maior possibilidade de apresentar distúrbios metabólicos. 3 amostras foram identificadas com o fenótipo C5+, representando 5,45% e 52 amostras representaram fenótipo C5-, com 94,54% do total. A frequência ficou abaixo da população de euro brasileiros descrita na literatura, que é 10%, pelo fato de desconhecer a etnia dos indivíduos analisados, sugerindo frequências menores em outras populações. De acordo com resultados de análises clínicas cedidas, o problema de saúde mais freqüente foi hipercolesterolemia, onde 60% apresentam, mas conforme sugerido em estudos anteriores, indivíduos C5+,

⁽¹⁾ Graduada em Biologia pelas Faculdades Integradas do Brasil

⁽²⁾ Doutora em Genética. Professora da Escola de Saúde das Faculdades Integradas do Brasil
e-mail: liyamikami@gmail.com

possuem um bom perfil metabólico, confirmando que o fenótipo atua na proteção à síndromes metabólicas.

Descritores: genética; análise; metabolismo.

ABSTRACT

The butyrylcholinesterase (BChE) is a serum esterase encoded by the gene BChE. There are five molecular forms of BChE in the body: C1, C2, C3, C4 and C5. The complex C5, the gene product of the interaction with the site CHE2 BChE, has two alleles, CHE2 C5 + and C5-CHE2, characterized by the presence or absence of the band C5, respectively. Although the function and the preferred substrate remain unknown, the enzyme is associated with lipid metabolism and its variables, such as obesity, cholesterol, triglycerides, among others. In this work, by agar gel electrophoresis was carried out in situ phenotyping CHE2 of 55 samples of elderly people, the more likely to have metabolic disorders. 3 samples were identified with the C5 + phenotype, representing 5,45% and accounted for 52 samples C5-phenotype, with 94,54% of the total. The frequency was below the euro Brazilian population described in the literature, which is 10%, because of ignorance of the ethnicity of the individuals studied, suggesting lower frequencies in other populations. According to results of medical tests assigned, the health problem most frequent hypercholesterolemia, where 60% have, but as suggested in previous studies, individuals C5 +, have a favorable metabolic profile, confirming that the phenotype works to protect the metabolic syndrome.

INTRODUÇÃO

A enzima butirilcolinesterase (BChE), também chamada de colinesterase do soro, pseudocolinesterase, colinesterase inespecífica e colinesterase do tipo S, é uma esterase sérica produzida pelo fígado⁽¹⁾ e secretada no plasma⁽²⁾. Essa enzima apresenta meia vida plasmática de 12 a 14 dias e está distribuída de forma ampla no organismo humano, sendo encontrada na pele, pâncreas, substância branca do cérebro, coração, músculos lisos e adipócitos⁽³⁾.

A existência de enzimas que hidrolisam o neurotransmissor acetilcolina foi estabelecida desde 1930⁽⁴⁾. Embora saiba-se que a BChE desempenha um papel importante na hidrólise de ésteres de colina, como a butirilcolina e a acetilcolina, sua função fisiológica e substrato natural permanecem desconhecidos. A enzima já foi associada à proliferação celular e à tumorigênese, ao crescimento neural, à adesão celular, ao metabolismo de lipídeos e a variáveis relacionadas à obesidade, como altura, peso, RCQ (razão-cintura-quadril), IMC (índice de massa corporal), colesterol, triglicérides e lipoproteínas⁽⁵⁾. Várias evidências a relacionam à condução nervosa lenta, à regulação de níveis de colina e acetilcolina no plasma, à proteção da acetilcolinesterase, ao controle da permeabilidade e transporte de sódio e outros íons pela membrana⁽⁶⁾.

A BChE pode apresentar-se sob cinco formas moleculares no plasma: C1, um monômero; C2, um monômero ligado à albumina sérica através de uma cisteína; C3, um dímero; C4, um tetrâmero; C5, um tetrâmero ligado a uma proteína desconhecida⁽⁷⁾, provavelmente peptídeos da proteína lamelipodina⁽⁸⁾.

A enzima pode apresentar variação genética devido à variabilidade do loco *CHE2*, responsável pela formação do complexo C5. O loco *CHE2* apresenta os alelos *CHE2 C5+* e *CHE2 C5-* caracterizados, respectivamente, pela presença ou ausência desse complexo detectado em eletroforese, sendo que o alelo *CHE2 C5+* determina aumento de cerca de 25% na atividade da BChE⁽⁹⁾.

A variabilidade genética da BChE começou a ser evidenciada na década de 50, quando foi verificado que os indivíduos são diferentes quanto a sua capacidade de hidrolisar a succinilcolina⁽¹⁰⁾, um relaxante muscular que esta enzima hidrolisa. Após observação de apnéia respiratória e paralisia muscular prolongada em pacientes, descobriu-se a primeira variante descrita⁽¹¹⁾.

Este trabalho pretende correlacionar o fenótipo do loco *CHE2*, que pode ser *CHE2 C5+* ou *CHE2 C5-* caracterizados pela presença ou ausência do complexo C5 com casos de hipercolesterolemia e outras doenças encontradas em idosos, que provavelmente apresentam fenótipo *CHE2 C5-*, pois esse estudo ainda não foi relatado pela literatura pertinente ao assunto.

METODOLOGIA

O projeto sobre a variabilidade do loco *CHE2* da enzima butirilcolinesterase humana foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Unibrasil, sob parecer 054/2009.

Para fenotipagem do loco *CHE2*, diagnóstico da presença de anemia ferropriva e avaliação dos níveis de cálcio, foram coletados 2 amostras com 4

ml de sangue venoso cada, uma com anti coagulante EDTA e outra sem, de 55 idosos, residentes em asilos na cidade de Curitiba (Associação de Amparo ao Idoso São Sebastião, Casa de Repouso Dona Paula, Lar São Francisco de Assis e Lar Iracy I. Andrade). As amostras foram coletadas de forma aleatória, não sendo utilizados critérios como sexo, idade, etnia e índice de massa corporal.

As amostras que estavam armazenadas no laboratório da Unibrasil após a coleta, passaram pela separação do soro e do sangue e foram estocadas em tubos de 2 mL.

A solução de Bacto Agar foi preparada com 5 ml de tampão citrato, com pH 6,2, 45 ml de água e 0,7 gramas de Ágar, ajustando o pH para 6,37. A solução foi aquecida até a completa dissolução do Agar, até ficar translúcida, mas sem atingir a fervura. Depois de aquecida, a solução foi despejada em uma placa de vidro já montada para ser resfriada, o gel foi colocado em geladeira e mantido em repouso por um dia. Após o período de repouso, para evitar a endosmose, as amostras de plasma foram aplicadas no gel. Com auxílio de uma placa de cobre 2,0 µl da amostra foram colocados no gel, nos locais já estabelecidos, marcados em uma folha de papel. A placa com as amostras foi submetida a eletroforese com tampão citrato pH 6,75, por quatro horas e meia. A corrida eletroforética foi realizada a 4°C com voltagem de cerca de 150 V e 35 mA.

Após a corrida eletroforética o cromógeno-substrato foi despejado sobre a placa. A solução foi preparada utilizando 0,04 gramas de Fast Red TR Salt em 40 ml de tampão fosfato de sódio com pH 7,1 e 1 ml de solução α-naftil acetato 0,75 mM. A placa com o cromógeno-substrato foi incubada por 30 minutos a

37°C e após revelação das bandas, a placa foi lavada para retirar o excesso de corante. O gel foi colocado em uma folha de papel sulfite e uma folha de papel filtro, prensando entre as duas placas de vidro, e foi levado a estufa a 37°C até completa secagem. A folha de papel foi trocada diversas vezes, para remoção da umidade ^(12; 13; 14; 15).

Após a verificação do fenótipo, sendo CHE2 C5+ ou CHE2 C5-, foi feita a correlação com quadros de hipercolesterolemia, dislipidemia, diabetes e outras doenças para verificar a influência do fenótipo sobre a atividade da butirilcolinesterase, utilizando os dados obtidos a partir das análises clínicas feitas para os projetos de detecção da anemia ferropriva e avaliação dos níveis de cálcio nos idosos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

PROBLEMAS DE SAÚDE ENCONTRADOS

Os dados analisados neste trabalho foram gentilmente cedidos pelos alunos Aleister Aquino e Amanda Carvalho que realizaram a detecção da anemia ferropriva e a avaliação dos níveis de cálcio, utilizando estas mesmas amostras.

A partir das análises realizadas e dos dados obtidos, foram verificados os principais problemas de saúde existentes em idosos que podem ser derivados de hábitos de vida inadequados como má alimentação, sedentarismo, tabagismo, alcoolismo, ou propensão herdada geneticamente, entre outros.

Foram analisados os seguintes parâmetros para verificar as doenças mais comuns nos idosos: glicose, colesterol, triglicérides, hemoglobina (Hb), ferro sérico, cálcio e foram medidos os valores da pressão arterial (PA) (Quadro 1).

CÓD	SEXO	Glicemia (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Hb (g/dL)	Ferro sérico ug/dL	Cálcio mg/dL	P.A. (mmHg)
SB1	M	88,6	210,1	108,3	14,3	161,6	9,9	120 X 80
SB2	M	87,9	151,8	88,3	14,1	68,7	9,4	120 X 90
SB3	M	97,6	173,4	94,5	14,0	88,9	9,3	100 X 80
SB4	M	78,6	167,6	73,1	13,9	98,0	8,6	130 X 70
SB5	M	96,2	280,6	345,5	13,8	87,9	9,4	110 X 70
SB6	M	94,5	197,1	77,0	14,9	127,3	9,5	130 X 80
SB8	M	90,7	276,3	283,4	15,3	123,2	9,1	110 X 80
SB10	M	83,8	141,7	51,0	12,7	-	10,0	120 X 80
SB12	M	137,2	154,0	58,6	14,7	68,7	9,6	170 X 110
VN01	M	84,6	234,0	108,1	16,6	114,9	9,3	160 x 100
VN02	M	111,9	234,0	217,6	13,9	102,3	9,0	120 x 80
VN03	M	99,7	245,6	158,1	-	-	-	120 x 80
VN04	M	90,8	254,1	92,6	14,2	112,6	9,8	100 x 60
VN05	M	93,2	211,6	148,7	12,0	95,4	9,6	120 x 80
VN07	M	88,7	250,1	148,7	13,2	134,5	8,5	130 x 80
VN11	M	72,7	142,1	91,2	12,7	77,0	7,8	120 x 70
VN13	M	93,2	188,4	133,1	13,2	88,5	7,8	120 x 80
VN14	M	100,3	205,4	168,2	12,7	152,9	7,7	130 x 100
VN15	M	74,4	209,3	131,1	16,2	119,5	7,5	170 x 110
VN16	M	101,7	184,6	104,1	16,1	266,7	6,9	120 x 70
VN17	M	90,8	203,9	46,6	16,3	128,7	9,8	130 x 90
VN20	M	93,5	240,2	136,5	16,6	124,1	7,7	100 x 60

Cadernos da Escola de Saúde

DP01	M	146,8	184,8	128,0	13,8	206,06	19,01	160 X 90
DP02	M	79,9	192,4	84,0	11,4	206,06	17,37	140 X 90
DP03	M	79,6	214,6	593,0	12,8	251,51	17,94	110 X 70
DP04	M	95,9	170,2	97,0	13,2	136,36	17,62	120 X 80
DP05	M	82,4	189,8	95,0	12,8	-	19,34	120 X 80
DP06	M	85,6	210,8	127,0	-	-	-	140 X 90
DP07	M	86,0	231,1	120,0	-	-	-	140 X 90
DP08	M	93,4	190,5	156,0	13,9	215,15	18,6	130 X 80
SB7	F	86,9	233,1	169,0	12,8	83,8	9,7	100 X 80
SB9	F	92,1	346,0	140,7	13,7	110,1	8,9	170 X 80
SB11	F	93,1	198,6	115,9	13,4	141,4	9,1	140 X 80
SB13	F	84,8	248,2	108,3	11,8	63,6	9,3	120 X 80
SB14	F	107,9	182,0	51,7	11,8	91,9	8,9	120 X 80
SB15	F	100,0	143,9	89,0	11,4	55,6	9,6	130 X 80
VN06	F	95,6	270,3	132,4	13,8	179,3	7,5	120 x 90
VN08	F	120,1	182,2	160,8	-	-	-	120 x 80
VN09	F	153,9	251,7	196,0	12,9	-	-	140 x 90
VN10	F	75,8	219,3	133,1	13,9	106,9	8,4	120 x 70
VN12	F	126,6	243,2	161,5	11,7	89,7	7,7	130 x 90
VN18	F	100,0	243,2	112,2	-	-	7,2	130 x 90
VN19	F	93,5	234,0	161,5	12,8	113,8	-	100 x 70
DP09	F	92,7	212,7	131,0	13,8	145,45	17,62	100 X 60
DP10	F	98,8	233,0	101,0	13,5	81,82	18,44	140 X 90
DP11	F	84,6	161,9	129,0	16,1	121,21	21,3	120 X 80
DP12	F	80,6	220,3	90,0	-	515,15	17,7	110 X 60
DP13	F	94,9	284,4	237,0	-	12,12	19,34	150 X 90
DP14	F	110,2	237,5	90,0	12,9	169,69	19,91	120 X 80
DP15	F	102,3	196,8	99,0	12,8	157,57	17,37	130 X 90

DP16	F	89,9	208,9	301,0	-	-	-	110 X 70
DP17	F	110,2	211,4	123,0	-	-	-	110 X 80
DP18	F	132,9	295,2	131,0	12,0	287,87	27,78	100 X 60
DP19	F	91,0	161,3	137,0	13,9	248,48	18,27	140 X 90
DP20	F	92,4	123,8	74,0	12,7	203,03	15,98	140 X 90

QUADRO 1. Valores encontrados nas amostras de idosos analisadas. Os valores em vermelho indicam os valores que estão fora dos parâmetros considerados normais. – representa as análises que não foram realizadas.

Fonte: Amanda Carvalho (Comunicação pessoal, adaptado pelo autor).

Para classificar os valores como dentro dos padrões normais ou elevados, foram utilizados os seguintes valores de referência para as análise (quadro 2):

	Normal	Elevado
Glicemia	< 99 mg/dL	> 100 mg/dL
Colesterol	< 200 mg/dL	> 201 mg/dL
Triglicérides	< 239 mg/dL	> 240 mg/dL
Cálcio	> 8,4 mg/dL	< 10,6 mg/dL
Hemoglobina - Homens	> 13,5 g/dL	< 17,5 g/dL
Hemoglobina - Mulheres	> 12 g/dL	< 16 g/dL
Ferro sérico	> 65 mg/dL	< 170 mg/dL
Pressão arterial	< 130x90 mmHg	> 140x100 mmHg

QUADRO 2 - Valores de referência para as análises.

Fonte: Sociedade Brasileira de Diabetes, 2005⁽¹⁶⁾.

O distúrbio de saúde mais freqüente é a hipercolesterolemia, caracterizada pelo aumento dos níveis de colesterol no sangue, onde cerca de 60% dos idosos apresentam esses níveis acima do normal. Em 30% das amostras verificadas os níveis de triglicérides encontram-se aumentados, sendo que 20% dos idosos apresentam os dois valores acima dos padrões normais. Aproximadamente 30% dos idosos apresentam nível de glicemia alterado, caracterizando diabetes e outros 30% tem a taxa de hemoglobina anormal, podendo caracterizar uma possível anemia. Cerca de 20% apresentam níveis de ferro sérico alterados, podendo caracterizar doenças relacionadas com a hemoglobina, transportadora do ferro no organismo humano. 45% dos resultados dos níveis de cálcio se mostraram acima ou abaixo do esperado, indicando deficiências na alimentação e na ingestão de cálcio, fundamental para os ossos, dentes e outras partes do corpo. 20% apresentam hipertensão (> 140/90 mmHg) (Figura 1).

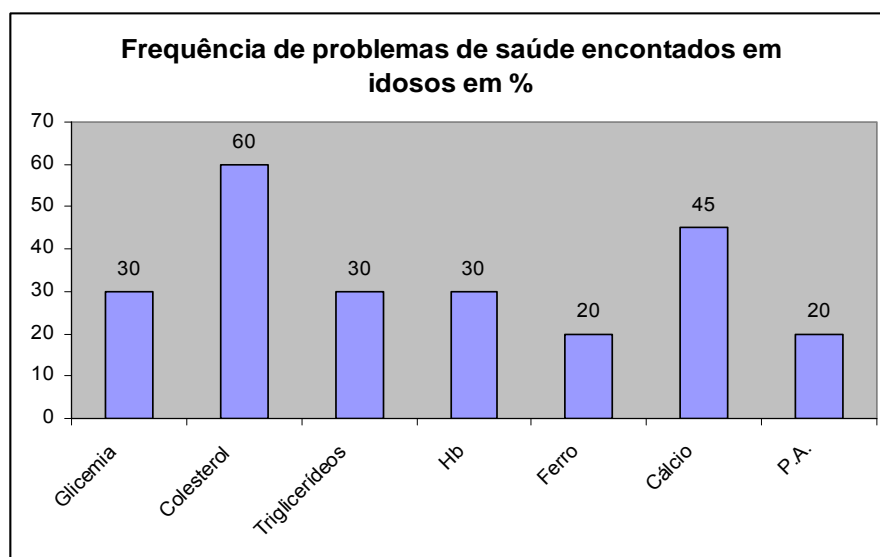


FIGURA 1 - Frequência dos problemas de saúde encontrados em idosos em %.

Entre os 55 participantes da pesquisa, 30 eram homens. Dentre esses, apenas 16% apresentam hiperglicemia, 53% apresentam hipercolesterolemia, 23% apresentam triglicérides alterados, 29% têm hemoglobina fora dos níveis esperados, 20% ferro sérico alterado, 44% padrões de cálcio anormais, 23% com hipertensão.

Já entre as 25 mulheres pesquisadas 40% têm hiperglicemia, 68% apresentam hipercolesterolemia, 28% com triglicérides anormais, 26% com hemoglobina fora dos níveis, 25% com ferro sérico alterado, 65% com padrões de cálcio anormais e 28% com hipertensão.

Nota-se que as mulheres apresentam mais problemas de saúde que os homens, onde apenas os níveis de hemoglobina estão menos alterados que os homens enquanto todos os outros parâmetros encontram-se acima dos valores de referência.

Apenas 7% dos idosos não apresentam nenhum desses distúrbios alterados, outros 14% apresentam apenas um dos níveis alterados, 43% apresentam dois padrões alterados, 21% apresentam três problemas de saúde e 14% apresentam mais de três níveis alterados.

FENOTIPAGEM DO LOCO CHE2

Verificou-se que entre os 55 indivíduos pesquisados, 3 apresentavam fenótipo CHE2 C5+, representando 5,45%, e conseqüentemente os outros 52 participantes, representando 94,54%, apresentavam o fenótipo CHE2 C5- (quadro 3).

Fenótipo	Nº indivíduos	%
CHE2 C5+	3	5,45
CHE2 C5-	52	94,54

QUADRO 3. Freqüência dos fenótipos do loco CHE2

Verifica-se a presença da banda C5, em indivíduos com fenótipo C5+, conforme o rastro deixado (Figura 2).

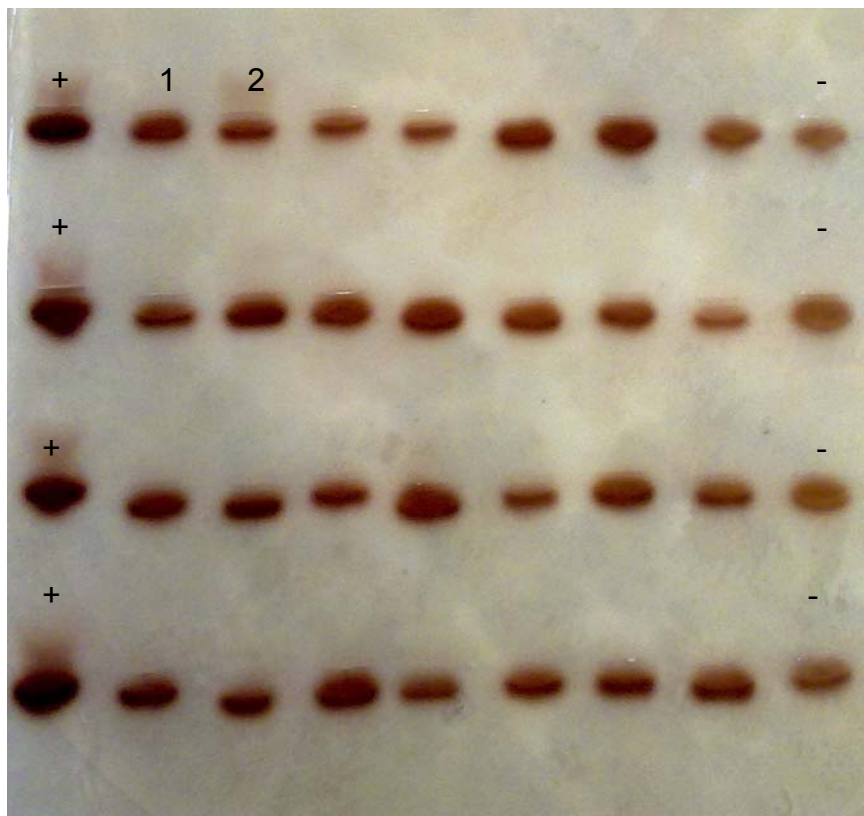


FIGURA 2 - Eletroforese em gel de ágar. As amostras representadas por + são os controles positivos C5+, que possuem o rastro deixado pela presença da banda C5; 1) Amostra CHE2 C5-; 2) Única amostra CHE2 C5+; amostras representadas por – são os controles negativos C5-.

Observou-se em eletroforese as 4 bandas conhecidas e a presença da banda extra, a banda C5, que caracterizou 4,6% da amostra^(17; 18) e em um estudo com diabetes gestacional a freqüência de 4,67%⁽¹⁹⁾.

Em um estudo foi relatada a freqüência do fenótipo CHE2 C5+ de 10,3%, em uma população de euro brasileiros⁽²⁰⁾, freqüência também descrita em pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2⁽²¹⁾.

Em um recente trabalho foi encontrado a freqüência de 11,63% para tal fenótipo, visto que tratava-se de uma população de euro brasileiros⁽⁹⁾. A freqüência encontrada no presente trabalho, de 5,45% para o fenótipo C5+, menor do que a população de euro brasileiros, como é desconhecida a etnia dos indivíduos pesquisados, sugere uma freqüência menor em outras populações.

Na literatura existente sobre o assunto, o fenótipo CHE2 C5+ é mais relacionado aos lipídeos e suas variáveis, como peso, IMC, gordura corporal, não sendo muito estudado a sua relação com a idade. E neste estudo, os dados completos de cada paciente, como peso, altura, idade, etnia, foram de difícil obtenção.

Embora seja pequeno o número de amostras que representam o fenótipo C5+, é possível observar que possuem um bom perfil metabólico,

conforme sugerido em estudos anteriores que o fenótipo está relacionado com o bom metabolismo de lipídeos (quadro 4).

	CHE2 C5+	CHE2 C5-
Glicemia	95,2 mg/dL	96,6 mg/dL
Colesterol	221,2 mg/dL	211,9 mg/dL
Triglicérides	131,2 mg/dL	139,3 mg/dL
Cálcio	14,9 mg/dL	12,1 mg/dL
Hemoglobina	14,7 g/dL	13,6 g/dL
Ferro sérico	140,4 µg/dL	131,7 µg/dL

QUADRO 4. Média dos valores encontrados nas análises realizadas comparados com o fenótipo do loco CHE2.

O fenótipo CHE2 C5+ leva a uma menor estocagem de gordura e maior proteção à síndrome metabólica⁽²¹⁾ e os indivíduos C5+ possuem média de peso inferior aos indivíduos C5-⁽²⁰⁾.

Portadores do fenótipo C5+ além de menor IMC, apresentam uma perda de peso mais rápida se comparados a indivíduos C5-^(22; 23). Existe uma menor frequência do fenótipo CHE2 C5+ em obesos, se comparados com indivíduos com IMC normal⁽⁵⁾.

Observando os valores individuais encontrados entre os indivíduos com fenótipo C5+, verifica-se que aos fatores relacionados ao metabolismo de lipídios, apenas um valor de um idoso quanto ao colesterol encontra-se pouco

acima do esperado, e os outros valores que se encontram alterados não são interferidos pelo bom ou mau metabolismo dos lipídeos (quadro 5).

QUADRO 5. Valores encontrados das análises clínicas dos indivíduos com fenótipo C5+.

INDIVÍDUO	Glicemia (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeo (mg/dL)	Hb (g/dL)	Ferro ug/dL	Cálcio mg/dL	P.A. (mmHg)
DP 08	93,4	190,5	156,0	13,9	215,15	18,6	130 X 80
VN 20	93,5	240,2	136,5	16,6	124,1	7,7	100 x 60
SB 15	100,0	143,9	89,0	11,4	55,6	9,6	130 X 80

REFERÊNCIAS

1 LA DU, B. N.; BARTELS, C. F.; NOGUEIRA, C. P.; HAJRA, A.; LIGUTSTONE, H.; VAN DER SPEK, A.; LOCKRIDGE, O. Phenotypic and Molecular Biological Analysis of Human Butyrylcholinesterase Variants. **Clin. Biochem.**, Canadá, v. 23, p. 423-431, 1990.

2 SAXENA, A.; REDMAN, A. M. G.; JIANG, X.; LOCKRIDGE, O.; DOCTOR, B. P. Differences in Active Site Gorge Dimensions of Cholinesterases Revealed by Binding of Inhibitors to Human Butyrylcholinesterase. **Biochemistry**, v. 36, p. 14642-14651, 1997.

3 CWIERTNIA, M. M. **Variabilidade das frações de baixo peso molecular da butirilcolinesterase no diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2.** Curitiba, 2005. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná.

4 MASSOULIE, J.; PERRIER, N.I.; NOUREDDINE, H.; LIANG, D.; BON, S. Old and new questions about cholinesterases. **Chemico-Biological Interactions**, v. 175, p. 30–44, 2008.

5 FURTADO, L. **Variabilidade genética da butirilcolinesterase e obesidade.** Curitiba, 2005. 174f. Tese (Doutorado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

6 WHITTAKER, M. Plasma cholinesterase variants and the anaesthetist. **Anaesthesia**, London, v. 35, p. 174-197, 1980.

7 DANTAS, V. G .L. **Estudo de associação de variações dos genes *BCHE* (butirilcolinesterase) e *GHRL* (greлина) com obesidade.** Curitiba, 2006. 92 f. Dissertação (Mestrado em Genética) - Setor de Ciências Biológicas. Universidade Federal do Paraná.

8 BATISTELA, M. S. **Estudo de associação de marcadores do gene *RAPH1* com o fenótipo *CHE2 C5+*.** Curitiba, 2009. 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências Biológicas – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

9 MIKAMI, L. R. **Variabilidade dos exons 2 e 4 do gene *BCHE* e sua relação com a atividade da butirilcolinesterase.** Curitiba, 2005. 198 f. Tese (Doutorado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

10 ARPAGAUS, M.; KOTT, M.; VATSIS, K. P.; BARTELS, C. F.; LA DU, B. N.; LOCKRIDGE, O. Structure of the gene for human butyrylcholinesterase. Evidence for a single copy. **Biochem.**, London, v. 29, p. 124-131, 1990.

11 ANDRADE, F. A. **Variantes dos sítios -116 e 1615 do gene *BCHE* da butirilcolinesterase humana e índice de massa corporal.** Curitiba, 2007. 90f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

12 ROBINSON, A.R.; ROBSON, M.; HARRISON, A.P.; ZUELZER, W.W. A new technique for differentiation of hemoglobin. **J. Lab. Clin. Med.**, St Louis, v. 50, p. 745-752, 1957.

13 VAN ROS, G.; VERVOORT, T. Frequencies of the "atypical" and C5 variants of serum cholinesterase in Zairians and Belgians. Detection of the C5 variant by agar gel electrophoresis with an acid buffer. **Ann. Soc. Belge Méd. Trop.**, Buxelles, v. 53, p. 633-644, 1973.

14 FADEL-PICHETH, C. **Variabilidade do loco *BCHE* da butirilcolinesterase e peso do adulto em amostra de Curitiba**. Curitiba, 1991. 107f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

15 SOUZA, R.L.R. **Estudos sobre nova banda da butirilcolinesterase humana (C4/5) verificada em eletroforese**. Curitiba, 1995. 74f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

16 SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2010 Atualização Brasileira sobre Diabetes Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br/>>. Acesso em: 10 out.2010.

17 HARRIS, H.; HOPKINSON, D.A.; ROBSON, E.B. Two-dimensional electrophoresis of pseudocholinesterase components in normal human serum. **Nature**, v.29, p.1296-1298, 1962.

18 HARRIS, H.; HOPKINSON, D.A.; ROBSON, E.B.; WHITTAKER, M. Genetical studies on a new variant of serum cholinesterase detected by electrophoresis. **Ann.Hum.Genet.**, v.26, p.359-382, 1963.

19 GUIMARÃES, L. O. **Associação entre o diabetes mellitus gestacional, variantes do gene da butirilcolinesterase (BCHE) e tag SNPs próximos**. Curitiba, 2011. 104f. Dissertação (Pós-graduação em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

20 CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E. A.; PRIMO-PARMO, S. L.; PICHETH, G.; LOURENÇO, M. A. C.; VIEIRA, M. M. The C5 isozyme of serum cholinesterase and adult weight. **Hum. Hered.**, v. 41, p. 330-339, 1991.

21 CWIERTNIA, M. M.; ALCÂNTARA, V. M.; RÉA, R. R.; FARIA, A. C. R. A.; PICHETH, G.; SCARTEZINI, M.; GRAEF, L. E.; WELTER, M. Butyrylcholinesterase and *diabetes mellitus* in the CHE2 C5- and CHE2 C5+ phenotypes. **Arq. Brás. Endocrinol. Metab.**, São Paulo, v. 54, n. 1, 2010.

22 ALCÂNTARA, V. M.; RODRIGUES, L. C.; OLIVEIRA, L. C.; CHAUTARD-FREIRE MAIA, E. A. Association of the CHE2 Locus with Body Mass Index and Butyrylcholinesterase Activity. **Human Biology**, v. 73, n. 4, p. 587-595, 2001.

23 ALCÂNTARA, V. M.; OLIVEIRA, L. C.; RÉA, R. R.; SUPLICY, H. L. e CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E. A. Butyrylcholinesterase and obesity in individuals with the CHE2 C5+ and CHE2 C5– phenotypes. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v.27, p. 1557-1564, 2003.