

A GENÉTICA NA IDENTIFICAÇÃO DE RESTOS MORTAIS EM CASO CRIMINAL POR ANÁLISE DE DNA NUCLEAR

Penido, Ciro¹, Faro, José Maria Ferreira², Ribeiro, Wellington³.

1-Polícia Técnica do Amapá/Laboratório Forense. Br 156, Km 0, Macapá. cpenido@uol.com.br

2-Polícia Técnica do Amapá/Laboratório Forense. Br 156, Km 0, Macapá. jfaros@uol.com.br

3-Prof^o.: Doutor, Universidade do Vale da Paraíba. gton@univap.br

Resumo - O objetivo da análise de DNA é diferenciar um indivíduo de outro, através de um grande número de características, dando-lhe uma identidade absoluta como pessoa. Foi utilizado o PCR que é um método de amplificação em cadeia de seqüências de DNA *in vitro* para identificação de uma ossada (vítima de esquartejamento) e verificação de vínculo genético com amostras de referência coletadas de familiares. Foi realizada a extração de DNA, amplificação por PCR múltiplex e eletroforese capilar em analisador genético das amostras seguido de cálculo estatístico. A partir dos índices teremos a possibilidade de o suposto pai ser o pai biológico. O resultado demonstrou a importância da metodologia na resolução de um caso forense e evidencia a necessidade de estudo de genética de população regionais de modo a minimizar erros estatísticos decorrentes de sub-estruturação populacional.

Palavras chave: Genética, DNA, PCR, Forense

Área de conhecimento: Ciências Biológicas

Introdução

Dentre as aplicações do estudo do DNA Criminal temos a identificação de suspeitos em casos de crimes sexuais (estupro, atentado violento ao pudor, ato libidinoso diverso da conjunção carnal); a identificação de cadáveres carbonizados ou em decomposição; Identificação de cadáveres mutilados; casos de assassinatos etc.

A tipagem molecular de material genético foi utilizada oficialmente pela primeira vez, em 1985, por Jeffreys, na Inglaterra para a resolução de um problema de imigração (JEFFREYS *et alii*, 1985). Os STRs (Short tandem repeats- repetições curtas em séries), tem sido utilizados na identificação humana, particularmente em casos criminais nos quais os loci de microsátélites podem ser amplificados com PCR (reação em cadeia de polimerase). A PCR é um método de amplificação em cadeia de seqüências de DNA *in vitro*, permitindo, a partir de uma quantidade mínima de material biológico, produzir milhares de cópias de uma seqüência alvo, possibilitando diversas aplicações na área forense. Segundo Beiguelman (1994) a lei de Hardy-Weinberg aponta que em uma população panmítica, com acasalamento aleatório, com níveis mínimos de seleção, mutação ou migração, as freqüências alélicas e genotípicas permanecem constantes de geração a geração. O presente trabalho

objetiva estudo de caso ocorrido no Município de Macapá, no Amapá onde foi realizado exame de DNA nos restos mortais (ossos e dentes) de um cadáver encontrado vítima de esquartejamento. Em 2006, no Laboratório Forense da Polícia Técnico-Científica do Estado do Amapá (POLITEC-AP), atendendo solicitação de autoridade policial, foram coletadas amostras de sangue periférico por meio de punção venosa da OOS (suposta mãe) e de JBS (menor, suposto filho), com o intuito de se realizar exame de vínculo genético por meio do confronto dessas amostras com aquelas obtidas a partir de restos mortais (ossos e dentes) encontrados no município de Macapá.

Os Peritos Criminais Ciro Augusto Fernandes de Oliveira Penido e José Maria Ferreira Faro, de posse das amostras de referência e da amostra questionada dirigiram-se até o Laboratório de Genética Forense do Instituto Nacional de Criminalística (INC) da Polícia Federal conduzindo: amostra referência de OOS (suposta mãe), amostra referência de JBS (suposto filho) e amostra codificada, dente 75 AQD, a questionada.

O laboratório deve assegurar a custódia das alíquotas das amostras, garantir que os testes sejam realizados de maneira própria, com reagentes apropriados, por indivíduos qualificados e que os resultados sejam interpretados por indivíduos experientes (CASKEY *et alii*, 1989).

Metodologia

Foram utilizados três gramas (3 g) de dente, fração a qual foi submetida a pulverização criogênica e posterior extração de DNA pelo método orgânico e purificação/concentração em membranas *Centricon*.

Os marcadores genéticos determinados pelos *loci* D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, vWA, TPOX, D18S51, FGA, D5S818, Penta D, Penta E e Amelogenina foram co-amplificados pelo método da PCR (*PowerPlex16 Promega*)

Os produtos de amplificação foram, então, submetidos à eletroforese capilar em analisador genético *ABI 3100* e os perfis genéticos obtidos foram analisados, com o auxílio dos programas *ABI Prism 3100-Avant Data Collection v2.0*, *3100* e *GeneMapper ID v3.2* após leitura das fluorescências.

As amostras referência tiveram seu DNA extraído pelo método *Salting Out* não enzimático, com precipitação com isopropanol. Foram efetuados procedimentos de amplificação, eletroforese e análise dos resultados obtidos de forma análoga àqueles executados para a amostra questionada. A amostra 75JBS foi adicionalmente genotipada com o *kit AmpFISTR Identifier - Applied* para confirmação de seu genótipo no marcador vWA. Após obtenção dos perfis genéticos da amostra questionada (75AQD) e referências (75 OOS e 75 JBS) estes foram confrontados para se analisar a viabilidade de ocorrência de vínculo genético.

Os métodos estatísticos utilizados baseiam-se no fato de que os marcadores genéticos analisados (*locus*) apresentam cada qual dois alelos (alelos 1 e 2 - tabelas 1 e 2). Na análise de identificação humana pelo DNA, considera-se que qualquer indivíduo tem o seu perfil genético definido a partir do DNA do seus pais, recebendo metade de seu DNA de sua mãe, e a outra metade de seu pai.

Com o objetivo de se quantificar tais possibilidades, são calculados dois parâmetros estatísticos aplicados à genética forense conforme observa Buckleton (2005, não paginado): o índice de paternidade reversa combinado na ausência do pai (IPRC ap) e o índice de paternidade combinado na ausência da mãe (IPC am). O IP (índice de paternidade) é dado tomando-se valores das frequências alélicas publicadas para a população brasileira (Tabelas 1 e 2), para o caso em questão.

Um fator de ajuste conservador para eventuais subdivisões na população (coeficiente de coancestralidade, $\theta=0,01$).

Resultados

Foram obtidos perfis genéticos completos de todas as amostras. Os perfis de DNA obtidos encontram-se descritos nas Tabelas 1 e 2, juntamente com os índices de paternidade obtidos em cada confronto.

Através da análise comparativa entre os perfis, cujos confrontos são apresentados nas Tabelas 01 e 02 (alelos 1 e 2), foi possível estabelecer as probabilidades.

Tabela 1 – Confronto dos alelos - suposta mãe (75OOS) e amostra questionada (75AQD).

	AMOSTRAS				IPR
	75AQD		75OOS		
	a 1	a 2	a 1	a 2	
D3S1358	14	15	15	16	0,853
TH01	6	9,3	6	7	1,192
D21S11	28	32,2	29	32,2	2,339
D18S51	17	17	16	17	3,277
PENTA E	7	26	13	26	11,397
D5S818	11	11	11	11	2,876
D13S317	11	13	10	11	0,836
D7S820	9	10	9	12	1,921
D16S539	9	13	11	13	1,551
CSF1PO	10	12	9	10	0,943
PENTA D	12	13	11	13	1,450
vWA	15	16	15	19	1,450
D8S1179	12	14	13	14	1,935
TPOX	8	8	8	8	2,168
FGA	21	23	21	25	1,446
AMELO	X	Y	X	X	-
IPRC ap					7,651,7

A amostra questionada 75AQD apresenta um perfil genético masculino no *locus* da amelogenina e nos demais *loci* é compatível com o de um descendente direto da pessoa que originou a amostra 75OOS.

A amostra questionada 75AQD é, ainda, compatível com o de um genitor da pessoa que originou a amostra 75JBS.

Uma vez estabelecidas tais compatibilidades entre as amostras, e tomando-se os valores das frequências alélicas, calculou-se o índice de paternidade reversa combinado na ausência do pai e o índice de paternidade combinado na ausência da mãe, de cujos valores foi possível estabelecer as probabilidades.

Tabela 2 – Confronto dos alelos - suposto filho (75JBS) e amostra questionada(75AQD).

	AMOSTRAS				IP
	75AQD		75JBS		
	a 1	a 2	a 1	a 2	
D3S1358	14	15	14	15	3,375
TH01	6	9,3	6	9,3	2,153
D21S11	28	32,2	28	31,2	1,705
D18S51	17	17	13	17	3,277
PENTA E	7	26	12	26	11,39
D5S818	11	11	11	12	1,479
D13S317	11	13	11	13	2,912
D7S820	9	10	9	11	1,921
D16S539	9	13	9	9	2,875
CSF1PO	10	12	12	13	0,766
PENTA D	12	13	11	13	1,450
vWA	15	16	16	16	1,935
D8S1179	12	14	10	12	1,965
TPOX	8	8	8	11	1,107
FGA	21	23	21	22	1,446
AMELO	X	Y	X	Y	-
<i>IPC am</i>					74.461

Discussão

A probabilidade de se encontrar o perfil genético observado na amostra 75AQD, considerando que a mesma seja de um genitor do indivíduo doador da amostra 75JBS, é de 74.461 (setenta e quatro mil, quatrocentas e sessenta e uma) vezes maior que se considerarmos que aquela amostra seja oriunda de uma outra pessoa qualquer da população.

A probabilidade de se encontrar o perfil genético observado na amostra 75AQD, considerando que a mesma seja de um genitor do indivíduo doador da amostra 75JBS e descendente direto da doadora da amostra 75OOS, é aproximadamente 570.000.000 (quinhentos e setenta milhões) de vezes maior que se considerarmos que aquela amostra seja oriunda de uma outra pessoa qualquer da população.

Conclusão

A amostra de dente analisada é compatível como sendo provinda de um filho de OOS e pai de JBS. Tal conclusão é fortemente apoiada pelas análises estatísticas realizadas. Foi observado a ocorrência do Alelo 26 do Penta E, citado na literatura internacional (BUTLER, 2008) e (INTERPOL, 2008) como alelo multivariante (alelo ausente em kits comerciais). Sugere-se a caracterização genética da população de Macapá e de outras populações da região amazônica, de modo a minimizar possíveis erros decorrentes de sub-estruturação populacional.

Agradecimento

Secretaria Nacional de Segurança Pública (SENASP) e Laboratório de DNA do Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal.

Referências

- BEIGUELMAN, B. Dinâmica dos genes nas populações. Ribeirão Preto, **Revista Brasileira de Genética**, 1994.
- BUCKLETON, John S. TRIGGS, Christopher M. WASH, Simon J. **Forensic DNA Evidence Interpretation**. CRC Press, 2005
- BUTLER, J.M. **Forensic DNA Typing**, 2. ed. Elsevier Academic Press, 2005.
- BUTLER, John M. NIST [Standard Reference Database](http://www.digits.com/) SRD 130 disponível em: <http://www.digits.com/>-see [disclaimer](#). Acesso em: 25 Abr. 2008.
- CASKEY, C. T.; EDWARDS, A.; HAMMOMD, H. A. **DNA Proceedings of the international symposium on the forensic aspects of DNA analysis**. Quantico, VA, FBI Forensic Science Research and Training Center, 1989.
- GRATTAPAGLIA, D.; SHIMIDT, A.B.; SILVA, C.C.; STRINGHER, C.; FERNANDES, A.P. and FERREIRA, M.E. Brazilian population data base for the STR loci of the AmpF/STR Profiler Plus TM and CofilerTM multiplex Kits. **Forensic Science International** 118; 91-94; 2001.
- INTERPOL. DNA Profiling. Disponível em <http://www.interpol.int/Public/Forensic/DNA/Default.asp>. Acesso em: 25 Abr. 2008.
- JEFFREYS AJ, Royle NJ, Wilson V, Wong Z. Spontaneous mutation rates to new length alleles at tandem – repetitive hypervariable loci in human DNA. **Nature**, v. 332, p.278-281, 1988.
- MARTIN, P.D.; SCHMITTER, H.; SCHNEIDER, P.M. A brief history of the formation of DNA databases in forensic science within Europe. **Forensic Science International**. v. 119, p. 225- 231, 2001.