

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE BIOCÊNCIAS**

SOLANGE PEREIRA SCHWENGBER

**UTILIZAÇÃO DE MARCADORES DE CROMOSSOMO Y COMO
FERRAMENTA VISANDO A ELUCIDAÇÃO DE CASOS DE CRIMES SEXUAIS
NA GENÉTICA FORENSE**

Porto Alegre

2008

SOLANGE PEREIRA SCHWENGBER

**UTILIZAÇÃO DE MARCADORES DE CROMOSSOMO Y COMO
FERRAMENTA VISANDO A ELUCIDAÇÃO DE CASOS DE
CRIMES SEXUAIS NA GENÉTICA FORENSE**

Dissertação submetida ao
Programa de Pós-Graduação em
Biologia Celular e Molecular da
Pontifícia Universidade Católica do
Rio Grande do Sul como requisito
para obtenção do grau de Mestre

Orientador: Dr. Sandro Luis Bonatto

Porto Alegre

2008

RESUMO

Marcadores moleculares de cromossomo Y são essenciais à perícia em genética forense. Os marcadores moleculares STR (*Short Tandem Repeats*) específicos para o cromossomo Y são amplamente utilizados no Laboratório de Perícias do RS. Entretanto, não havia dados estatísticos próprios do Estado do Rio Grande do Sul, implicando na utilização de bancos de dados alternativos (brasileiro e europeu). Assim, a formação de um banco de dados de haplótipos, próprio da população do RS, com os perfis do cromossomo Y, permitiria a emissão de Laudos Periciais com informações estatísticas mais fidedignas. Neste trabalho foram tipados 255 indivíduos não aparentados, pertencentes a sete mesoregiões do estado do Rio Grande do Sul. Foram colhidas amostras de sangue ou saliva a partir das quais foi feita a extração de DNA, seguida da amplificação dos 17 *loci* do cromossomo Y através do kit Y-STRs (AmpF Φ STR[®] Yfiler[™] - Applied Biosystems). Os produtos de amplificação foram analisados no ABI PRISM[®] 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Na análise dos dados foram identificados 247 haplótipos, dos quais 239 únicos e 8 foram encontrados em dois indivíduos, cada.*Daniel A diversidade haplotípica de Y-STRs da população do Rio Grande do Sul foi de 99,98% e o poder de discriminação de 96,86%. As distâncias genéticas mostraram que a população do RS, como um todo, não é significativamente diferente das amostras do Brasil, Rio de Janeiro e Argentina; é marginalmente diferente de São Paulo, Itália e do Norte de Portugal; mais distante da Espanha, região Amazônica e Alemanha; e muito distante da amostra de nativos sul-americanos. Quando os dados do RS foram comparados por mesoregião, alguns pares apresentaram diferença significativa entre si, de acordo com a história da imigração, sendo a Mesoregião Centro Oriental Rio-Grandense a mais diferente. Porém, nenhuma região apresentou diferença significativa em relação à população brasileira.

Palavras-chave: Y-STR; Haplótipos; dados populacionais do Brasil.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

I.1.INTRODUÇÃO.....	09
I.1.1.Considerações Gerais.....	09
I.1.2.O Cromossomo Y.....	10
I.1.3.Marcadores Y-STRs.....	11
I.1.4.Y-STR na Genética Forense.....	12
I.1.5.Rio Grande do Sul: abordagem histórica.....	15
I.2.OBJETIVOS.....	17

CAPÍTULO II

“POPULATION DATA OF 17 Y-STR LOCI FROM RIO GRANDE DO SUL STATE (SOUTH BRAZIL)”	19
---	-----------

CAPÍTULO III

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	44
----------------------------------	-----------

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
--	-----------

ANEXO.....	50
-------------------	-----------

I.1.INTRODUÇÃO

O Cromossomo Y

O cromossomo Y possui um tamanho médio de aproximadamente 60 milhões de pares de bases (Mb), representando 2% do genoma humano. Possui um excesso de seqüências repetitivas, é extremamente pobre em genes funcionais, porém, apresenta funções biológicas importantes como a determinação do sexo e a fertilidade masculina. Possui duas pequenas regiões nos telômeros de ambos os braços, denominadas pseudo-autossômicas (PARs - *Pseudo-autosomal regions*), uma maior (PAR 1) e outra menor (PAR 2), homólogas às seqüências do cromossomo X e responsáveis pelo correto pareamento e recombinação entre os cromossomos X e Y durante a meiose de indivíduos do sexo masculino [1,2].

A região maior, compreendendo 95% do cromossomo Y e delimitada pelas regiões pseudo-autossômicas é denominada "*Male Specific Y Region*". Essa região é formada por seqüência de DNA exclusiva masculina, onde não há pareamento entre os cromossomos X e Y durante a meiose masculina. O seqüenciamento da porção não recombinante do cromossomo Y (NRY) mostrou que essa região é formada pela Heterocromatina (40Mb) e pela Eucromatina (20Mb) [3].

O DNA do cromossomo Y apresenta uma herança paterna, na forma haplóide, ou seja, não apresenta uma cópia homóloga, como acontece com o resto dos cromossomos. A falta de recombinação na maior parte do cromossomo Y faz com que ele se comporte como um fragmento único de DNA, que se transmite intacto por via paterna à descendência masculina. A única fonte de variação nessa região é representada pelas mutações que, com o tempo, se acumulam gradativamente. A maioria das mutações ocorre nas regiões de introns e nas regiões extragênicas. Desta maneira, diz-se que o cromossomo Y contém uma gravação de todos os eventos mutacionais acontecidos ao longo da história e possibilita a reconstrução das linhagens paternas [4,5].

Desde a descoberta dos primeiros polimorfismos no cromossomo Y, o número de marcadores vem aumentando significativamente. A região não recombinante do cromossomo Y possui diferentes tipos de polimorfismos que apresentam taxas de mutação diferentes, permitindo assim selecionar o tipo de marcador mais adequado para os diferentes tipos de estudo e abordagens. A análise de regiões Y-específicas pode nos revelar a genealogia paterna e as relações evolutivas entre diferentes grupos de indivíduos [6-8].

Marcadores Y-STRs

Os marcadores do tipo STRs (*Short Tandem Repeat*), também chamados microssatélites, são seqüências de pequeno tamanho de fragmento, geralmente de 2 a 4 nucleotídeos, repetidas em pequenas unidades (motivos), que geram polimorfismos multialélicos identificados e representados pelo número de repetições que se apresentem. Um marcador STR pode apresentar variação no número de repetições de indivíduo para indivíduo [9,10].

Os Y-STRs são marcadores genéticos de herança uniparental, ou seja, são passados dos pais aos filhos homens e estão situados no cromossomo Y humano. Ao conjunto da informação relativa a vários marcadores STRs num mesmo cromossomo dá-se o nome de haplótipo [10,11]. O conjunto de dados de *loci* analisados pode caracterizar o indivíduo, sendo os mesmos alelos encontrados nos irmãos, tios, primos, avô e demais antepassados masculinos. O conjunto desses haplótipos também pode caracterizar populações [6,12].

Uma grande variedade de marcadores polimórficos que podem ser genotipados por PCR está disponível para estudar a diversidade do cromossomo Y. A disponibilidade de protocolos robustos de tipagem de Y-STR possibilita uma crescente e útil ferramenta para identificação masculina para estudos forenses [13,17].

Polimorfismos do cromossomo Y-STRs são considerados de evolução rápida e são geralmente utilizados em estudos de análise de fenômenos populacionais recentes [11,17]. As análises estatísticas aplicadas no estudo do

cromossomo Y envolvem freqüências haplotípicas, não podendo ser estimadas como produtos de freqüências alélicas [14,15]. Daí advém a importância em genotipar cada indivíduo para o maior número de *loci* possível, o que faz com que as linhagens sejam melhor discriminadas [16].

A maioria dos STRs encontrados no cromossomo Y exibe menor grau de polimorfismo quando comparados aos STRs autossômicos. Entretanto, diferentemente dos STRs autossômicos, eles freqüentemente mostram diferenças marcantes nas distribuições das freqüências alélicas entre grupos étnicos [18].

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os Y-STRs da população do Rio Grande do Sul relacionados neste trabalho apresentaram diversidade haplotípica de 99,98%, índice bem maior quando comparado com 99,37% considerando o haplótipo mínimo (minHt) e com 99,83% considerando o haplótipo estendido (ExtHt). Este resultado confere ao conjunto dos 17 Y-STR *loci*, um poder de discriminação de 96,86%.

A comparação dos dados da população do RS com os da população brasileira demonstrou que não são significativamente diferentes ($P > 0,05$), considerando análise dos 17 Y-STR *loci*. Quando os dados do RS foram separados em sete regiões geopolíticas (mesoregiões), algumas regiões foram significativamente diferentes entre si, em especial a Mesoregião Centro Oriental Rio-Grandense, porém nenhuma região apresentou diferenças significativas com a população brasileira. As distâncias genéticas mostraram que a população do RS não é significativamente diferente das amostras do Brasil, Rio de Janeiro e Argentina; é marginalmente diferente de São Paulo, Itália, e do Norte de Portugal; mais distante da Espanha, região Amazônica, e Alemanha; e muito distante da amostra de nativos sul-americanos.

Conforme esperado, níveis elevados de contribuição européia foram encontrados na população do Rio Grande do Sul, destacando-se a italiana por apresentar distância genética menor entre as populações. Estes resultados estão diretamente relacionados com o processo de colonização e imigração do estado. Observou-se também a forte contribuição portuguesa seguida da espanhola. Porém, uma distância genética maior da população alemã foi encontrada, concordando com os níveis mais baixos da contribuição desta imigração para a formação do estado.

O banco de dados de haplótipos da população do Estado do Rio Grande do Sul realizado neste trabalho servirá de referência, permitindo a busca de haplótipos encontrados na casuística forense do nosso Estado. Conforme

preconizado por diversos autores, bases de dados regionais permitem análises estatísticas mais fidedignas.

A ausência de diferenças significativas entre os dados haplotípicos do RS com a população de outras regiões brasileiras permite a aplicação de bases de dados de maior amplitude populacional, considerando os mesmos marcadores.

Apesar de nenhuma das sete mesoregiões apresentar diferenças significativas com a população brasileira, algumas regiões foram significativamente diferentes entre si, sendo importante a continuação destes estudos, ampliando o número de amostras analisadas, permitindo, dessa forma, comparações futuras com outras populações.