

IDENTIFICAÇÃO FORENSE DE FENÓTIPOS DE SUSPEITOS A PARTIR DE MOLÉCULAS DE DNA

Brunna Luize Alves de Araújo

Bacharel em Biomedicina pelo Centro Universitário da Brasília (UniCEUB).

Especialista em Ciências Forenses IFAR/LS

E-mail: brunna.laa@gmail.com

Resumo

Criminosos ou autores de crimes tendem a deixar vestígios, como amostras biológicas, contendo informações genéticas que podem auxiliar na identificação do suspeito e consequente resolução do caso. Estas amostras, no entanto, só haviam até o momento, sido utilizados para confirmar a presença de determinada pessoa na cena ou, mesmo, para comparação com amostras coletadas durante a investigação policial. Um novo conceito vem sendo implementado na intenção de aprimorar a captura de possíveis agressores a partir da análise da molécula de DNA. A predição de características externas visíveis, dita Fenotipagem de DNA, possibilita uma maior precisão na identificação humana, sendo uma excelente ferramenta para uso em âmbito forense.

Descritores: Polimorfismo forense, SNP, Fenotipagem de DNA, Características faciais DNA.

FORENSIC IDENTIFICATION OF SUSPECTS PHENOTYPE THROUGH DNA MOLECULES

Abstract

Criminals or perpetrators of crimes tend to leave traces, such as biological samples, containing genetic information that may aid in the identification of the suspect and consequent resolution of the case. These samples, however, had only been used to confirm the presence of a particular person on the scene or even for comparison with samples collected during the police investigation. A new concept has been implemented in order to improve the capture of possible attackers from the analysis of the DNA molecule. The prediction of visible external characteristics, called DNA Phenotyping, allows a greater precision in human identification, being an excellent tool for use in the forensic environment.

Key words: Forensic polymorphisms, SNP, DNA phenotyping, DNA facial characteristics.

INTRODUÇÃO

A análise de perfis de DNA forense vem, há alguns anos, sendo utilizada como uma técnica forense imprescindível e bem padronizada na vinculação de suspeitos a cenas de crimes. Para estabelecer essa conexão, porém, o perfil do DNA do suspeito em análise deve ter sido descoberto em algum momento durante a investigação policial para que seja possível uma comparação com aquele encontrado na cena de crime. A necessidade de um conhecimento prévio da sequência suspeita se torna uma restrição em relação ao uso do DNA em âmbito forense e, por isso, uma série de pesquisas foram conduzidas com a intenção de ampliar o uso desse material (ZIEGER; UTZ, 2015).

O vestígio genético tem sido utilizado na identificação do tipo de tecido encontrado na cena a partir dos ácidos nucleicos, ou mesmo para revelar o momento em que a amostra fora deixada no local. A posteriori, cientistas propuseram a ideia de o DNA não ser apenas mais uma ferramenta de comprovação da presença de alguém em determinada cena de crime. As aplicabilidades do DNA forense são diversas na atualidade, sendo, a informação genética, capaz de descrever fenotipicamente o perfil de um possível agressor ou, ao menos, possibilitar a aferição de sua ancestralidade biogeográfica (HE et al., 2015).

Este trabalho tem como objetivo demonstrar a possibilidade do uso da molécula de DNA (material genético) encontrada em locais de crime como precursora na identificação do fenótipo de suspeitos.

METODOLOGIA

Este estudo constitui-se de uma revisão da literatura especializada na qual realizou-se uma consulta a obras e artigos científicos selecionados através de busca em banco de dados do Pubmed e Science Direct, nos idiomas inglês e português,

abrangendo publicações entre os anos de 2005 e 2016. As palavras chave utilizadas na busca foram “forensic polymorphisms”, “SNP forensic”, “DNA phenotyping” e “DNA facial characteristics”. Os critérios de inclusão para os estudos encontrados foram à abordagem clara e concisa do uso de DNA na reconstrução de características faciais em casos forenses. Foram excluídos as obras e artigos com ideias conflitantes.

DISCUSSÃO

A investigação de uma cena de crime pode apresentar evidências que permitem a identificação de possíveis autores do crime. Moléculas de DNA podem ser extraídas de amostras biológicas, como sangue, sêmen, pelos ou até mesmo de células bucais existentes na saliva deixadas em uma guimba de cigarro (GRIFFITHS et al., 2015). A partir da coleta desses vestígios e posterior extração e sequenciamento de DNA, é possível se obter uma vasta quantidade de informação contida nessa sequência genômica e garantir a correlação das evidências de um local de crime com a identidade de um possível suspeito. Contudo, essa ligação só será possível se baseada em um banco de dados genético extenso e atualizado, abrangendo informações de boa parte, se não de toda, a população (WEIR; ZHENG, 2015).

O DNA apresenta variações genéticas denominadas polimorfismos, que são pequenas alterações encontradas nas sequências de DNA de diferentes indivíduos. A ocorrência dessas divergências pode se dar em regiões codificantes, garantindo a existência de dois ou mais fenótipos comuns de uma determinada característica, ou em regiões intrônicas não codificantes. Quando desta forma, o polimorfismo é aparentemente silencioso, ou seja, não expressa característica fenotípica, contudo, pode ser utilizado para individualizar e caracterizar um ser humano em questões forenses (GRIFFITHS et al., 2015).

As regiões utilizadas na discriminação entre indivíduos em análise forense correspondem, geralmente, a sequências de repetição de bases no DNA. Os polimorfismos nessas regiões podem variar em número, permitindo a quantificação de repetições entre os indivíduos. Essa alternância é ponto chave para identificação humana no âmbito forense (VIEIRA et al., 2016). Regiões conhecidas como marcadores

minissatélites, também chamados de repetições em *tandem* de número variável (VNTR – *Variable Number Tandem Repeat*), são sequências de DNA de 15 a 100 nucleotídeos de tamanho que se repetem seguidamente. Já os microssatélites, ou repetições em *tandem* curtas (STR – *Short Tandem Repeat*), baseia-se na presença de sequências mais simples, geralmente de 2 a 6 nucleotídeos, que se repetem algumas vezes ao longo do DNA (JEFFREYS et al., 1985).

As STR's são os marcadores genéticos mais utilizados na área forense para identificação de suspeitos (PANNEERCHELVAM; NORAZMI, 2003). A detecção das regiões onde se encontram os polimorfismos pode ser feita por meio de *primers* (iniciadores) flanqueadores em uma análise de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) – técnica que permite a síntese de DNA *in vitro*. Os produtos gerados pelo procedimento apresentaram tamanhos diferentes que poderão, posteriormente, ser observados e comparados em gel de eletroforese, de acordo com as suas mobilidades. Os padrões gerados no gel podem ser ditos como “*fingerprints*” (rastros) do DNA, visto serem extremamente individualizadas, ideal em caracterizações criminais (WEIR; ZHENG, 2015).

A molécula de DNA pode apresentar uma marcação biológica caracterizada pela substituição de um único nucleotídeo na cadeia. (WANG et al., 2015). Essa outra forma de polimorfismo vem ganhando força no auxílio de investigações criminais. Os polimorfismos de nucleotídeo único, ou SNP's (*Single Nucleotide Polymorphism*), são amplamente distribuídos no genoma humano e, por essa razão, o interesse forense pelos mesmos tem crescido continuamente (BUDOWLE; VAN DAAL, 2008).

As alterações do tipo SNP's apresentam características individuais e perspicazes que os tornam ideais para a utilização no uso forense. Além das baixíssimas taxas de mutação, o que os torna interessante para testes de paternidade, eles são bastante adequados em análises utilizando tecnologias de alto rendimento, como PCR e sequenciamento de DNA, podendo gerar bancos de dados bastante representativos. A avaliação pode ser feita em sequências menores de DNA visto a singularidade na variação e, ainda, utilizando pouca quantidade de material genético, sendo compatível

com o perfil de amostra geralmente encontrado em cenas de crime (SOBRINO; BRIÓN; CARRACEDO, 2005).

Análise de DNA forense tem sido rotineiramente realizada por meio de marcadores do tipo STR. Contudo, vestígios contendo DNA são geralmente encontrados em pequenas quantidades ou mesmo apresentando informação bastante degradada, o que dificulta a avaliação por STR. Por esse motivo, é indicada a análise de polimorfismos autossômicos de nucleotídeo simples nesses pequenos fragmentos, sendo este procedimento mais propenso à obtenção de resultados confiáveis. (DIVNE; ALLEN, 2004).

Atualmente, a análise de provas utilizando DNA é considerado o padrão-ouro para a identificação forense. É realizada uma correlação dos marcadores genéticos, como STR e SNP, encontrados no material de cenas de crime, com informações de bancos de dados de pessoas já qualificadas. Esse procedimento, contudo, apresenta algumas limitações, sendo a principal delas a carência de referências nesses bancos, impossibilitando a comparação. É certo que criminosos pouco provavelmente fornecerão seus materiais genéticos à polícia e, dessa forma, só será possível a obtenção de um resultado excludente. (KAYSER, 2015).

Com o intuito de solucionar essa questão, cientistas trouxeram à tona a ideia de prever características externas visíveis a partir do DNA. Investigações sobre a importância do genoma humano no contexto do aspecto facial levou à detecção de vários polimorfismos de nucleotídeo único relacionados às alterações comumente observadas. Algumas características faciais já foram demonstradas possíveis de modelagem a partir do material genético, como cor de olhos, cabelo e pele, tendência a calvície, entre outras. (FAGERTUN et al., 2015).

A capacidade de prever características externas a partir do genoma humano com intuito de definir um suspeito de crime pode também ser denominada Fenotipagem de DNA Forense. Apesar de ainda se apresentar em fase de desenvolvimento, esse novo conceito já é uma grande promessa para o rastreamento de indivíduos desconhecidos, tendo como base tanto marcadores genéticos de sequência simples quanto aqueles de alterações pontuais. (WALSH et al., 2011).

Estudos de associação genômica ampla (GWAS) e o Projeto HapMap, viabilizaram o conhecimento da sequência de DNA humano, além de mapearem regiões polimórficas. Bancos de dados ricos em SNP's foram gerados, podendo se observar uma prevalência destes em áreas de íntrons. Com base nessa informação, estudos posteriores passaram a analisar essas regiões com mais persistência a fim de correlacionar genótipo e fenótipo. (ALLWOOD; HARBISON, 2013).

O processo de identificação de SNP's e correlação com o perfil externo de um ser humano consiste em três etapas. Antes de iniciar o procedimento, deve ser garantido que as amostras utilizadas em cada passo devem ser independentes. Na primeira parte, um grande número de polimorfismos pontuais é testado interativamente em diversos indivíduos para se obter sua relação fenotípica. Aqueles com grande significância associativa são considerados candidatos na construção de um modelo padrão. Na segunda etapa, é estabelecida uma hipótese relativa aos parâmetros encontrados, na forma de função, que será avaliada estatisticamente. Por fim, a terceira etapa consiste na validação dos resultados obtidos; valores variáveis são atribuídos a função gerada a fim de gerar previsões e, posteriormente, estes são comparados com aqueles realmente observados. (KAYSER, 2015).

Esse novo conceito de fenotipagem a partir do DNA forense foi iniciado em meados do ano 2000, mas, devido a algumas limitações, teve um progresso bastante lento. O interesse em desenvolver o conhecimento relacionado a doenças genéticas garante um financiamento direcionado na busca de marcadores biológicos envolvidos nesses distúrbios, deixando pouco de lado as variações humanas normais. (KAYSER, 2015).

Além disso, assim como ocorre em patologias genéticas, outro fato que retarda o avanço da identificação externa humana tendo o DNA como precursor é a quantidade de genes relacionados a cada característica. Todos os genes contribuem individualmente de certa forma na expressão fenotípica; apenas a combinação de um número relativo de fatores genéticos seria capaz de explicar um componente hereditário de forma geral. Há também de se levar em consideração a influência ambiental na composição dos traços externos visíveis. Apesar de existirem

ferramentas laboratoriais altamente especializadas a serem utilizadas na caracterização desses fatores, esse ainda é um recurso extremamente oneroso e demorado. (KAYSER, 2015).

Apesar das dificuldades ainda encontradas, novas ferramentas já foram estabelecidas e testadas, se mostrando eficazes na correlação entre DNA e traços fenotípicos. Um grupo de características vem sendo cada vez mais compreendido no quesito determinação genética. No âmbito forense, o IriPlex, um sistema de genotipagem multiplex, tem sido indicado na predição da cor dos olhos e cabelos. (WALSH et al., 2013).

A cor do olho humano, assim como já dito da maioria dos traços, é um fenótipo altamente polimórfico. Olhos castanhos, por serem mais comuns, são objetos de estudo na reflexão da ancestralidade humana dispersa mundo afora. A observação de cores prevalentes contrárias ao marrom em determinadas regiões pode ser resultado de uma seleção baseada, talvez, na escolha dos companheiros para procriação. A compreensão genética dessa característica vem sendo estudada ao longo dos anos via análise da associação dos genes envolvidos. (WALSH et al., 2011).

O gene OCA2, localizado no cromossomo 15, acreditava-se ser o que possuía mais informações sobre a cor do olho devido sua associação à proteína P humana necessária ao processamento de proteínas relacionadas à melanina. Contudo, estudos recentes com uso do IriPlex demonstraram que alterações em genes vizinhos, como o HERC2, geram variações mais significantes do que o primeiro gene descrito. Além disso, outros genes também foram identificados por contribuírem indiretamente e de forma menos importante na cor dos olhos, tais como SLC24A4, SLC45A2 (MATP), TYRP1, TYR, ASIP e IRF4. (WALSH et al., 2011).

Além da cor dos olhos, a marcação nas pálpebras também tem sido tema de discussão. É possível notar diferenças entre olhares orientais e ocidentais, tendo, normalmente, estes últimos, uma linha divisória característica acima da margem palpebral superior. A ausência dessa linha em descendentes orientais pode estar relacionada a frequência de determinados marcadores genéticos no DNA. De acordo

com um estudo recente, o gene ABCC9 (rs2277404) apresentou maior divergência entre as populações avaliadas. (JIN et al., 2015).

A cor do cabelo, assim como a do olho, é altamente variável, sendo possível observar uma infinidade de tonalidades. Para efeito de estudo, estas foram condensadas em quatro categorias principais: vermelho, loiro, marrom e preto. SNP's em onze genes já foram identificados como precursores de grande parte da informação relativa a essa característica (MC1R, HERC2, OCA2, SLC45A2 (MATP), KITLG, EXOC2, TYR, SLC24A4, IRF4, PIGU/ASIP e TYRP1). (WALSH et al., 2013).

O formato da face é mais um ponto chave para identificação de suspeitos em questões forenses. A diversidade humana facial é extremamente diversa e substancial, contudo ainda pouco explicada cientificamente. O complexo craniofacial é inicialmente modulado por expressões de genes embrionários, além de interações moleculares diversas. Ao longo da vida, hormônios e fatores biomecânicos também afetam muitos pontos da face. Diferentemente das características anteriormente mencionadas, a incapacidade de sistematizar as variações observadas impede que se tenha uma correlação fiel da genética com os formatos externos. (CLAES et al., 2014).

Estudos recentes identificaram outros polimorfismos de nucleotídeos único que apresentam relação com, por exemplo, distâncias entre marcos faciais (como largura da boca ou nariz, espaçamento entre os olhos, comprimento geral da face, entre outros). Aproximadamente 20 genes já foram analisados, apresentando SNP's relevantes envolvidos em variações pontuais de rosto. (CLAES; HILL; SHRIVER, 2014).

Os dados apresentados anteriormente estão, geralmente, associados a pesquisas em países europeus, nos quais a população se apresenta de forma mais homogênea. Por esse motivo, a análise de SNP's já é melhor definida podendo se obter correlações com fenótipos de maneira mais eficiente. O Brasil, contudo, é considerado um dos países com maior diversidade étnica, tendo influência genética de diversas regiões do mundo. A avaliação gênica em brasileiros ainda segue, portanto, em processo de desenvolvimento. (FRIDMAN et al., 2015).

Alguns estudos já foram realizados na tentativa de prever determinados polimorfismos em populações heterogêneas, como ocorre no Brasil. O gene SLC45A2,

frequentemente avaliado em estudos forenses, é bastante conhecido pela sua influência na pigmentação humana visto sua relação com a proteína mediadora da síntese de melanina (MATP – proteína transportadora associada à membrana). Polimorfismos característicos dessa região, assim como em populações europeias, já foram mapeados como influentes na coloração de pele, cabelo e olhos. É possível, portanto, a associação de SNP's a fenótipos mesmo em grupos de pessoas bastante diverso (FRIDMAN et al., 2015).

A fenotipagem de DNA forense não se encerra apenas na avaliação dos perfis descritos anteriormente. Outras características ainda tem sido alvo de estudos, como idade, estatura corporal, tendência a perda capilar e estrutura do cabelo. Alguns polimorfismos já foram detectados e mostram ter relação com essas particularidades, contudo as investigações ainda estão em progresso e demandam mais tempo. (KAYSER, 2015).

Suspeitos de crimes usualmente tentam burlar o sistema de segurança alterando suas características externas durante a prática criminal. É comum, por exemplo, o uso de tinturas de cabelo e lentes de contato coloridas, mudanças no corpo por meio de cirurgias plásticas, entre outras alternativas. Essas mudanças podem atrapalhar o rumo da investigação policial se a identificação do possível agressor se basear somente na fenotipagem de DNA. Desta forma, podemos considerar esta como sendo mais uma ferramenta forense para o auxílio na captura do suspeito e, por isso, deve ser sempre analisada juntamente com outras informações obtidas ao longo da apuração do crime. (KAYSER, 2015).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados apresentados indubitavelmente demonstram a ampla aplicação das análises do genótipo humano e sua relevância para um maior desenvolvimento das técnicas de identificação humana tendo como precursora a molécula de DNA. Diversos SNP's já foram previamente caracterizados e definidos como influentes em determinadas características. Contudo, outros estudos devem suceder os já realizados

a fim de aprimorar o conhecimento obtido até o momento, além de permitir a descoberta de mais marcadores envolvidos na expressão de outras características externas de identificação.

Essa nova técnica de identificação é considerada um avanço importantíssimo em âmbito forense. Diferentemente do que ocorre com testemunhas durante a tentativa de gerar um retrato-falado, por meio da fenotipagem de DNA é possível excluir a influência de fatores emocionais característicos de vítimas e expectadores de um crime. Tais sentimentos causam uma confusão mental podendo apresentar divergências na apresentação das características de suspeitos. A fenotipagem forense se trata, portanto, de mais uma ferramenta com alto poder de contribuição na busca da veracidade dos fatos, visto ser uma análise imparcial capaz de fornecer dados para identificação de um agente de forma compatível com a realidade.

REFERÊNCIAS

- ALLWOOD, Julia S.; HARBISON, SallyAnn. SNP model development for the prediction of eye colour in New Zealand. **Forensic Science International: Genetics**. Nova Iorque, p. 444-452. jul. 2013.
- BUDOWLE, B.; VAN DAAL, A.. Forensically relevant SNP classes. **Biotechniques**. Nova Iorque, p. 603-608. abr. 2008.
- CLAES, Peter et al. Modeling 3D facial shape from DNA. **PLoS Genet**. p. e1004224. mar. 2014.
- CLAES, Peter; HILL, Harold; SHRIVER, Mark D. Toward DNA-based facial composites: Preliminary results and validation. **Forensic Science International: Genetics**. Nova Iorque, p. 208-216. nov. 2014.
- DIVNE, Anna-maria; ALLEN, Marie. A DNA microarray system for forensic SNP analysis. **Forensic Science International**. Nova Iorque, p. 111-121. set. 2004.
- FAGERTUN, Jens et al. Predicting facial characteristics from complex polygenic variations. **Forensic Science International: Genetics**. Nova Iorque, p. 263-268. nov. 2015.

- FRIDMAN, Cintia et al. Is it possible to use Forensic DNA phenotyping in Brazilian population? **Forensic Science International**. Nova Iorque, p. 378-380. dez. 2015.
- GRIFFITHS, Anthony J. F. et al. **Introdução à genética**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.
- HE, W. et al. A novel system for forensic SNP analysis through PCR–ligase detection reaction. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**. p. e231-e232. dez. 2015.
- JEFFREYS, A. J.; WILSON, V.; THEIN, S. L. Hypervariable “Minissatélite” regions in human DNA. **Nature**, p. 67-73. 1985.
- JIN, B. et al. A primary investigation on SNPs associated with eyelid traits of Chinese Han Adults. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**. Nova Iorque, p. 669-670. dez. 2015.
- KAYSER, Manfred. Forensic DNA Phenotyping: Predicting human appearance from crime scene material for investigative purposes. **Forensic Science International: Genetics**. Nova Iorque, p. 33-48. set. 2015.
- PANNEERCHELVAM, S.; NORAZMI, M.n.. Forensic DNA Profiling and Database. **The Malaysian Journal Of Medical Sciences**. Kelantan, p. 20-26. jul. 2003.
- SOBRINO, Beatriz; BRIÓN, María; CARRACEDO, Angel. SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies. **Forensic Science International**. Nova Iorque, p. 181-194. nov. 2005.
- VIEIRA, Maria Lucia Carneiro et al. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. **Genetics And Molecular Biology**. Ribeirão Preto, p. 312-328. jul. 2016.
- WALSH, Susan et al. IrisPlex: a sensitive DNA tool for accurate prediction of blue and brown eye colour in the absence of ancestry information. **Forensic Science International: Genetics**. Nova Iorque, p. 170-180. jun. 2011.
- WALSH, Susan et al. The HirisPlex system for simultaneous prediction of hair and eye colour from DNA. **Forensic Science International: Genetics**. Nova Iorque, p. 98-115. jan. 2013.

WANG, Li et al. Development of a SNP-STRs multiplex for forensic identification. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**. p. e598-e600. dez. 2015.

WEIR, Bruce S.; ZHENG, Xiuwen. SNPs and SNVs in forensic science. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**. Nova lorque, p. 267-268. dez. 2015.

ZIEGER, Martin; UTZ, Silvia. About DNA databasing and investigative genetic analysis of externally visible characteristics: a public survey. **Forensic Science International: Genetics**. Nova lorque, p. 163-172. jul. 2015.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Marciano Régis Rubini pelas contribuições ao conteúdo deste trabalho.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.