

ESTUDO DE FREQUÊNCIAS ALÉLICAS DE 12 LOCI DO CROMOSSOMO Y NA POPULAÇÃO BRASILEIRA DE ARARAQUARA E DA REGIÃO DA GRANDE SÃO PAULO.

Adriana Freschi; Regina Maria Barretto Cicarelli; Joyce A. Martins; Gabriela A. Pereira; Carolina C. Góis; Rogério N. de Oliveira. – Farmácia – Farmácia Bioquímica – Departamento de Ciências Biológicas – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Campus de Araraquara.

A habilidade para tipar o DNA de evidências biológicas é um dos mais importantes desenvolvimentos da Ciência Forense desde o advento das análises das impressões digitais. Quando um perfil de DNA obtido de espécime forense é igual àquele do suspeito ou vítima (ou não pode ser excluído como um parente biológico), é prática comum colocar algum significado estatístico nessa ocorrência e isto se baseia na frequência de ocorrência dos alelos (ou polimorfismos do DNA) na população. Assim, para a realização da identificação humana é mais interessante a utilização de marcadores moleculares que apresentem grande variabilidade, ou seja, alto grau de polimorfismo, pois a probabilidade de duas pessoas apresentarem um mesmo alelo para um determinado locus torna-se menor.

Nesse contexto, vários estudos sugerem a existência de variações da distribuição alélica tanto étnicas quanto populacionais, demonstrando a importância da determinação dessas frequências nas diferentes populações (1-3). O cromossomo Y, por apresentar herança paterna, não recombinante (herança haplotípica) e baixa taxa de mutação, tem sido muito aplicado nos testes de identificação humana e estudos evolutivos (4). No entanto, os dados genético-populacionais de cromossomo Y na população brasileira ainda são parciais e insuficientes, não existindo muitas publicações disponíveis. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi determinar a frequência de 12 STRs do cromossomo Y na população brasileira do Estado de São Paulo, fornecer esses dados ao Banco Mundial do Cromossomo Y (5) e compilar informações para formar um banco de dados contendo a frequência dos haplótipos em nossa população, o qual poderá ser utilizado para cálculo estatístico em análises de identificação humana, principalmente em casos forenses.

Para isso foram obtidas amostras (sangue ou mucosa bucal) de 200 homens residentes na região de Araraquara e na região da grande São Paulo. Cada doador foi, anteriormente à coleta do material biológico, esclarecido sobre a finalidade do projeto de pesquisa e assinou um Termo de Consentimento, no qual declarou estar de acordo com os objetivos deste trabalho para participar como voluntário. A extração do DNA de amostras sanguíneas líquidas foi realizada utilizando-se o kit GenomicPrep™ Blood DNA Isolation (Amersham), seguindo-se as recomendações do fabricante e para as amostras sanguíneas e de mucosa bucal, ambas coletadas em papel FTA (Whatman), realizou-se extração com solução FTA Purification Reagent (Whatman).

A reação de PCR foi realizada em todas as amostras de DNA, oriundas da extração, com o emprego dos sistemas marcadores contidos no kit PowerPlex® Y (Promega) que avalia 12 loci Y-STR (DYS19, DYS385I/II, DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS437, DYS438, DYS439). Utilizou-se para amplificação o termociclador MJ PT-100 (MJ Research) e a enzima PlatinumTaq DNA Polimerase (Invitrogen), de acordo com as recomendações do fabricante. Após amplificação, os DNAs foram preparados para corrida eletroforética no seqüenciador automático ABI377 (Applied Biosystems) para obtenção dos respectivos perfis alélicos. Estes foram analisados com o auxílio dos softwares GeneScan (Applied Biosystems) e PowerTyper Y Macro (Promega) e, após análise, as frequências alélicas das 12 Y-STR foram calculadas através do número de repetições do alelo nas amostras dos voluntários, ou seja, pelo método da frequência relativa; os cálculos das diversidades gênica e haplotípica foram realizados de acordo com Nei (6) e a capacidade de discriminação foi determinada dividindo-se o número de haplótipos observados pelo número de indivíduos testados.

Os dados relativos às frequências alélicas e diversidades gênicas das 12 Y-STR estão apresentados na Tabela 1, a seguir:

Tabela 1

Frequência alélica/genotípica e diversidade gênica para 12 Y-STR na população do Estado de São Paulo (Brasil).

Alelos	DYS391	DYS389I	DYS439	DYS389II	DYS438	DYS437	DYS19	DYS392	DYS393	DYS390	Genótipos	DYS385	Genótipos	DYS385
8					0.005						9-15	0.005	13-18	0.010
9	0.055		0.005		0.040						10-13	0.005	13-19	0.020
10	0.570		0.075		0.430			0.010	0.005		10-14	0.010	13-20	0.005
11	0.355	0.010	0.325		0.195			0.490			10-18	0.005	14-14	0.010
12	0.020	0.215	0.460		0.295			0.075	0.135		10-19	0.015	14-15	0.020
13		0.520	0.120		0.035		0.130	0.315	0.655		10-20	0.015	14-16	0.010
14		0.240	0.015			0.585	0.365	0.095	0.170		10-22	0.005	14-17	0.025
15		0.015				0.320	0.320	0.010	0.035		11-11	0.030	14-18	0.010
16						0.080	0.095	0.005			11-12	0.015	14-19	0.020
17						0.015	0.090				11-13	0.015	14-20	0.005
21										0.125	11-14	0.215	14-21	0.005
22										0.100	11-15	0.015	15-15	0.015
23										0.210	11-16	0.015	15-16	0.035
24										0.410	11-19	0.005	16-16	0.010
25										0.145	12-13	0.015	16-17	0.040
26										0.010	12-14	0.040	16-18	0.020
27				0.035							12-15	0.010	16-19	0.005
28				0.120							12-19	0.005	16-20	0.005
29				0.340							13-13	0.030	17-17	0.025
30				0.320							13-14	0.095	17-18	0.015
31				0.130							13-15	0.030	18-18	0.010
32				0.055							13-16	0.015	19-19	0.005
											13-17	0.060	24-24	0.005
GD	0.5484	0.6286	0.6658	0.7502	0.6907	0.5515	0.7340	0.6490	0.5252	0.7448				0.9325

Analisando-se a tabela apresentada, foi possível observar que a diversidade gênica média dos 12 Y-STR na população do Estado de São Paulo foi de 0,6746, sendo que os loci DYS389II e DYS385 foram os mais polimórficos com diversidade gênica de 0,7502 e 0,9325, respectivamente e, os loci DYS437, DYS391 e DYS393, os menos polimórficos com diversidade gênica abaixo de 0,6.

A diversidade haplotípica, parâmetro que indica a probabilidade de dois indivíduos escolhidos ao acaso apresentarem haplótipos diferentes, foi de 0,9996 e a capacidade de discriminação, parâmetro que corresponde à probabilidade de diferenciação de uma amostra escolhida ao acaso em relação às demais, foi de 96%.

Em conclusão, os parâmetros analisados apresentaram valores altos, demonstrando que os marcadores estudados são altamente polimórficos e discriminativos, constituindo uma poderosa ferramenta para auxiliar testes de paternidade e identificação humana na população do Estado de São Paulo.

Referências Bibliográficas

1. Gonzalez-Neira, A.; Gusmao, L.; Brion, M.; Lareu, M. V.; Amorim, A.; Carracedo, A. Distribution of Y-chromosome STR defined haplotypes in Iberia. *Forensic Sci Int* (2000) 110:117-126.
2. Pastore, L.; Vuttariello, E.; Sarrantonio, C.; Coto, I.; Roviello, S.; Fortunato, G. et al. Allele frequency distributions at several variable number of tandem repeat (VNTR) and short tandem repeat (STR) loci in a restricted Caucasian population from South Italy and their evaluation for paternity and forensic use. *Mol Cell Probes* (1996) 10:299-308.
3. Knijff, P.; Kayser, P.; Cagliá, A.; Corach, D.; Fretwell, N.; Gehrig, C. et al. Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects. *Int J Legal Med* (1997) 110:134-40.
4. Jobim, L. F.; Jobim, M. R.; Brenner, C. Identificação humana pelo DNA. *In*: Galante Filho, H.; Figini, A. L.; Reis A. B.; Jobim, L. F.; Silva, M. Identificação humana. Porto Alegre: Sagra Luzzatto (1999) 239-303.
5. <http://www.yhrd.org>
6. M. Nei. *Molecular Evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York, 1987.

Bolsa: CNPq/PIBIC