

USO DA BIOLOGIA MOLECULAR PARA O RECONHECIMENTO HUMANO NA CIÊNCIA FORENSE

Use of molecular biology for human recognition in forensics science

Resumo

A um tempo atrás, desprovidos de quaisquer recursos científicos, os resultados provenientes de análises forenses não eram precisos e nem sempre confiáveis. Já neste século, a partir de novas descobertas, tornou-se possível a ideia de discriminar indivíduos através de análises sanguíneas.

Recentemente, apontada como a maior revolução científica na área forense, a análise do ácido de desoxirribonucleico (DNA) tornou-se indispensável, desde o reconhecimento através de impressões digitais, até a determinação de características pessoais. Estas análises apresentam vantagens em relação a outras técnicas convencionais de identificação, tais como a estabilidade química do DNA mesmo após longo período de tempo, e a sua ocorrência em todas as células nucleadas do organismo humano, o que permite uma análise fidedigna através de uma única gota de sangue, ou um único fio de cabelo encontrado em uma cena de crime.

Palavras-chave: Análise forense. Identificação humana. DNA. Biologia molecular.

Thais Sonaira Pedrozo¹, Fernanda Marconi Roversi².

¹Acadêmica de Biomedicina da Universidade São Francisco – USF.

² Professora Doutora Fernanda Marconi Roversi – Universidade São Francisco - USF

Introdução

Nas últimas décadas, a análise do ácido de desoxirribonucleico (DNA) evoluiu no sentido de tornar-se indispensável na investigação pericial, por empregar técnicas extremamente sensíveis, realizadas em amostras retiradas de pequenos vestígios biológicos oriundos, como, por exemplo, sangue, sêmem, pelos e cabelos. (MASSUDA, 2016).

As análises genéticas possibilitaram identificações mais seguras e concretas, através de técnicas específicas, como a genotipagem, a reação em cadeia da polimerase (PCR) e o sequenciamento. Desta forma, casos de crimes sexuais, antes considerados insolúveis, vítimas de desastres em massa, como acidentes aéreos, e catástrofes naturais, onde a identificação física é impossível, estão começando a ser resolvidos pela análise de DNA. Um exemplo é a seguinte manchete:

“Polícia científica do Paraná identifica por meio de banco de dados de DNA, o autor de mais de vinte crimes de violência sexual” (Polícia científica do estado do Paraná, 2016).

A exatidão adquirida por estas técnicas fundamenta-se no desenvolvimento cada vez maior da Biologia Molecular e na estabilidade química e térmica da molécula de DNA, que, mesmo após longo período de tempo, permite obter padrões genéticos individuais, em determinados casos.

Todavia para que sejam cada vez mais fidedignos, a qualidade das amostras e dos cuidados prestados, é fundamental sendo que esta qualidade está relacionada diretamente aos processos de: coleta, acondicionamento, identificação, armazenagem, transporte e entrega dos materiais.

Qualquer material destinado à análise de DNA deverá desde sua coleta até seu encaminhamento final, ser tratado com maior atenção. (MASSUDA, 2016).

É fundamental para uma análise fidedigna a coleta correta dos materiais a serem analisados. De maneira geral, todos os instrumentos utilizados deverão ser estéreis e preferencialmente descartáveis, evitando, assim, quaisquer contaminações exógenas que possam vir a interferir no resultado correto. (WATSON, 2015)

Os problemas mais comuns relatados são: contaminação por materiais exógenos e alterações causadas por atividades naturais, como chuva e ressecamento por luz solar, interferindo na manutenção da estrutura natural da amostra biológica e, consecutivamente, dificultando a análise da mesma.

No caso da coleta de sangue, espermatozoides ou saliva, devem ser colhidos com *swabs*, ou gases estéreis, podendo ser armazenadas em temperaturas ambientes por um curto período de tempo, ou em caso de armazenamento por períodos mais longos, a amostra deve ser congelada para evitar a degradação.

Amostras como urinas e outros líquidos corpóreos, devem ser coletadas com seringas ou pipetas descartáveis, transferidas para frascos próprios e posteriormente congeladas em caso de períodos longos, para melhor preservação.

Fluidos líquidos contidos em vestes ou objetos, primeiramente, devem ser secos em temperatura ambiente e acondicionados em local refrigerado até a entrega final da amostra para análise.

Fluidos já secos em roupas ou objetos devem ser enviados se possível em sua totalidade, e transportados em envelopes de papel escuro e preferencialmente em local refrigerado.

Amostras de pelos ou cabelos, apenas os fios que conterem o bulbo ou raiz, devem ser separados e armazenados em sacos plásticos ou envelopes.

As fezes e os vômitos devem ser coletados com o auxílio de uma espátula, e armazenados em recipientes próprios, sendo mantidos refrigerados em curto período de tempo, ou congelados por períodos longos.

A coleta de tecidos, órgãos ou dentes, devem ser retiradas com o auxílio de materiais estéreis, e posteriormente, congelados.

As coletas realizadas *post mortem* e em vítimas vivas de violência sexual devem ser realizadas sempre em duplicada, utilizando *swab* para coletas de vestígios anais e vaginais, e possíveis vestígios contidos em baixo das unhas.

Por fim, amostras a serem coletadas de suspeitos são realizadas após a assinatura do mesmo sobre um termo de consentimento livre e esclarecido. (MASSUDA, 2016).

Por estes motivos, é incontestável que, além da padronização de coletas, centros forenses devam manter também a cadeia de custódia das amostras, de forma que se possa afirmar a veracidade das informações ali depositadas, desde a coleta do material até a disposição final.

A cadeia de custódia refere-se à documentação que serve para o rastreamento da amostra, e ela pode ser dividida em custódia externa, sendo responsável desde a coleta até a chegada do material ao laboratório de análise, e a custódia interna, responsável por seu recebimento até a destinação final.

O presente projeto pretende analisar a importância da área científica, através do estabelecimento da relação entre as técnicas de biologia molecular e a ciência forense,

descrevendo os usos e os benefícios das principais técnicas, a fim de proporcionar resultados precisos e seguros e mostrar a importância que justificam os investimentos em trabalhos destinados a estes fins e que contribuem diretamente para aprimorar o desenvolvimento de tais técnicas moleculares.

Materiais e métodos

O trabalho desenvolvido possui o formato de estudo exploratório, por meio de pesquisas bibliográficas, a partir de livros, trabalhos apresentados e artigos científicos. Este tipo de pesquisa se restringe por definir objetivos e buscar mais informações sobre determinado assunto de estudo.

Foram realizadas buscas de literatura científica, nas bases de dados *Scientific Electronic Library Online* (SCIELO), PUBMED e Literatura Latino-Americana em Ciências de Saúde (LILACS), MEDLINE, publicados preferencialmente nos últimos dez anos.

O método inicial foi de leitura rápida de todo material selecionado, a fim de observar se o material realmente atende as necessidades exigidas, seguindo de uma leitura aprofundada como estudo do assunto abordado, e o registro de materiais e fontes utilizadas.

Por fim, análise profunda de todo material que será utilizado juntamente com discussão e desenvolvimento dos resultados obtidos.

Discussão

A genética forense é uma das áreas da ciência forense, que se utiliza da molécula de DNA, no auxílio de investigações periciais, em investigação biológica de parentesco, e em investigação genética individual de um corpo ou fragmentos dele. (COLNAGO, 2013). Como todos os seres vivos possuem DNA, e todo DNA exibe variabilidade entre espécies diferentes e dentro de uma mesma espécie, qualquer material associado com um caso legal pode levar a informações sobre sua origem. (JOBILING, 2004).

Para isso técnicas de biologia molecular são utilizadas por apresentarem análises confiáveis a partir da extração do DNA.

As principais técnicas abordadas para prosseguir nas análises dos materiais são a genotipagem, a reação em cadeia da polimerase (PCR), e o sequenciamento.

A extração de DNA pode ser realizada em vários tipos de amostras. Preferencialmente, utilizam-se sangue, sêmen, pelos e cabelos, embora também possam ser usados ossos e cartilagens. A extração do DNA em diferentes amostras é realizada por um processo no qual, primeiramente, há a lise das células, onde ocorre o rompimento das membranas celulares, seguindo da etapa purificação para a separação do DNA de estruturas como proteínas, seguida de precipitação para a obtenção da molécula de DNA pura e agregada e, por fim, a reidratação do DNA para sua análise. (MASSUDA, 2016).

A quantidade de material genético contido na amostra coletada pode ser tão “pequena” que ela, por si só, fica impossível de se analisar. Então, o surgimento da técnica de PCR que permite a amplificação da quantidade de DNA específico. Para dar início ao processo da PCR, o DNA é inicialmente aquecido a uma temperatura relativamente alta (94 a 96°C), de modo que a molécula se desnature e fique

unifilamentar. Ele é, então, exposto a iniciadores, que delimitarão a região a ser analisada. Há a diminuição da temperatura para possibilitar o correto anelamento do iniciador com a região de interesse no DNA. Em seguida, há o aquecimento novamente, a uma temperatura intermediária, para que um novo filamento de DNA seja sintetizado pela enzima DNA polimerase. O ciclo de aquecimento / resfriamento / aquecimento é, então, repetido várias vezes, sendo que o DNA recém-sintetizado serve como molde para outras sínteses. A cada ciclo repetido, o número de cópias dobra, assim o motivo do processo ser chamado “reação em cadeia”. A vantagem desta técnica é que podem ser usadas quantidades extremamente pequenas de DNA, as contidas em uma mancha de sangue, em um único fio de cabelo ou saliva, por exemplo, são suficientes. Porém também existem desvantagens, já que a extrema sensibilidade da PCR a torna suscetível à contaminações no laboratório. Devemos levar em consideração o custo benefício desta técnica, em relação à de *real time quantitative PCR* (PCR quantitativo em tempo real), visto que embora a PCR em tempo real apresente um melhor desempenho em relação a tempo, o custo é muito alto, tornando a técnica de PCR convencional mais utilizada.

A genotipagem é um processo pelo qual é possível identificar pequenas regiões do DNA (marcadores), que variam de indivíduo para indivíduo, conhecido também como polimorfismos. A região do DNA onde estão localizados estes marcadores são amplificados pela técnica de PCR, aumentando consecutivamente o número de cópias de modo que ele possa ser identificado e caracterizado. Uma das técnicas é o gene *Fingerprinting*: é uma técnica forense usada na identificação de indivíduos através das suas características do seu DNA.

A eletroforese é uma técnica de separação de partículas de acordo com a sua carga elétrica e peso molecular em um determinado campo elétrico. Assim, o fragmento de DNA obtidos pela técnica de PCR ou pela genotipagem, pode ser separado pela

aplicação de uma voltagem. Moléculas de menor peso molecular terão maior facilidade de migrar pelo gel do que as de maior peso e percorrerão uma distância maior, ficando mais próximas do polo positivo. A distância que o fragmento percorre, a partir do ponto de aplicação, é comparada com a distância de que outros fragmentos de tamanhos conhecidos percorreram no mesmo gel. Esses fragmentos são marcadores de peso molecular, misturas de segmentos de DNA de tamanhos variáveis entre si são aplicados no gel no início do processo. Tanto na eletroforese com gel de acrilamida como na com gel de agarose, a separação das moléculas terá sua eficácia determinada tanto pela concentração do polímero como pela intensidade da voltagem aplicada. (COLNAGO, 2013).

Os polimorfismos também podem ser analisados através da técnica de sequenciamento, que permite identificar as sequências exatas de todas as bases nitrogenadas de um segmento de DNA, ou seja, determinar a ordem dos nucleotídeos. O conhecimento da sequência de bases de um gene fornece informações importantes, como sua estrutura, função relação evolutiva com outros genes, entre outros.

A partir da utilização de tais técnicas citadas, para fins forenses, pode-se observar a eficiência do DNA em todas elas, e a possibilidade de suas aplicações sobre qualquer fonte de material biológico. Enquanto outros testes menos específicos como os sorológicos, por exemplo, podem ser realizados apenas no sangue.

A eficiência de um exame de DNA ser discriminatório pode ser considerada como uma das mais importantes características e responsável pela ampliação da utilização destas técnicas para estes fins, ainda mais com a implantação do banco de dados de DNA que já vem sendo utilizado e aumentando cada vez mais o número de adeptos à utilização do mesmo em investigações. A lei torna obrigatória a identificação

genética, por meio de DNA de condenados por crimes hediondos ou crimes violentos contra a pessoa, como homicídio, extorsão mediante sequestro, estupro, entre outros. De acordo com a lei, os condenados serão submetidos, obrigatoriamente a identificação do perfil genético, mediante a extração de DNA, e esta identificação do perfil genético será armazenada em banco de dados sigiloso, conforme o regulamento a ser expedido pelo poder Executivo.

Em meio às vantagens, também podemos observar certas desvantagens, tanto específicas de determinadas técnicas, como na utilização do DNA propriamente dito, visto que em curto prazo, a análise através do DNA só é totalmente válida quando se têm suspeitos, em casos de vestígios encontrados em cenas de crimes, ou quando se há parentesco, em casos de reconhecimento humano. Desvantagens que já vem sendo abolidas com a utilização do banco de dados de DNA, visto que mesmo sem a apresentação de suspeitos, os materiais encontrados podem ser guardados neste banco de dados até ser conveniente à análise dos mesmos.

Conclusão

Nas ultimas décadas, houve um grande aumento nas investigações forenses a partir da análise de DNA, e isso se dá graças aos avanços, desenvolvimento e aprimoramento cada vez maior das técnicas de biologia molecular voltada a esta área. Com o surgimento de novas técnicas moleculares capazes de avaliar as características genéticas dos indivíduos através de estudos do DNA, os testes tradicionais vêm sendo substituídos, formando a cada dia o início de uma nova e significativa fase do desenvolvimento da medicina forense.

Referências

BROWN, Terence A. **Genética: Um enfoque molecular**. 3. Ed. São Paulo: Guanabara, 2000.

COLNAGO, Rodrigo; SOUZA, Josyanne. **Pratica forense civil**. 1. Ed. São Paulo: Saraiva, 2013.

JOBLING, Mark et al,. **Encoded evidence: DNA in forensic analysis**. **Nature reviews Genetics**, v.5, p.739-751,2004.

MASSUDA, Thiago.**Perícia criminal: Identificação humano por DNA e cena do crime**. Curitiba, v.1, p.01- 85, 2016.

POLICIA CIENTÍFICA. **Polícia científica do Paraná identifica por meio de banco de dados de DNA o autor de mais de vinte crimes de violência sexual**. 2016. Disponível em: < <http://www.policiacientifica.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=110>>. Acesso em: 25. Mai. 2016.

WATSON, James et al,. **Biologia molecular do gene**. 7. ed. Artmed, 2015.