



# APLICAÇÃO DO POWERPLEX® Y SYSTEM NO ESTUDO DE CASOS

## DE AGRESSÃO SEXUAL

C. Vieira-Silva, C. Cruz, T. Ribeiro, I. Lucas e R. Espinheira

Serviço de Genética e Biologia Forense, Delegação de Lisboa, Instituto Nacional de Medicina Legal

### Introdução

O cromossoma Y é especificamente masculino, haploide e transmitido de pai para filho sem alterações, a menos que tenham ocorrido mutações.

A maior vantagem do estudo dos STRs do cromossoma Y, em contraste com os STRs autossómicos é a amplificação selectiva do ADN masculino.

Os STRs do cromossoma Y têm propriedades de utilidade forense especialmente quando aplicados em vestígios biológicos provenientes de casos de agressão sexual, em que um suspeito masculino está envolvido, o que acontece praticamente na totalidade dos casos.

Diversas metodologias são aplicadas desde há longa data no estudo de vestígios biológicos provenientes de agressões sexuais, como a pesquisa de espermatozoides, a pesquisa de esperma pela reacção de Fosfatase Ácida e o estudo do gene homólogo da Amelogenina. Da amplificação desta região dos cromossomas sexuais resultam fragmentos com 106pb do cromossoma X e 112 pb do cromossoma Y, mas, se o material biológico feminino estiver em muito maior quantidade que o masculino, ao realizar o estudo da Amelogenina pode ser difícil detectar o cromossoma Y.

Neste estudo com aplicação do Powerplex® Y System detecta-se de forma inequívoca a presença de material genético de origem masculina, obtendo-se um perfil genético ou haplotipo que poderá ser comparado com o dos suspeitos. Este kit está comercialmente disponível e validado e permite a amplificação simultânea de 12 Y-STRs: DYS19, DYS385a/b, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS437, DYS438, DYS439.

### Material e Métodos

Dos casos de agressão sexual recebidos neste serviço foram estudados 32 casos, com vestígios biológicos presentes em zaragatoas vaginais, anais, peças de roupa e pensos higiénicos. Quatro destes, tinham também amostras de referência do suspeito recolhidas em zaragatoa bucal.

A extracção de ADN dos vestígios biológicos foi realizada pelo método de extracção diferencial. O método de fenol clorofórmio foi utilizado na extracção de três amostras, provenientes de uma peça de roupa, de um penso higiénico e outra de uma zaragatoa vaginal. O ADN das amostras de referência dos suspeitos foi extraído pelo método de chelex.

Todos os casos foram estudados com os kits Powerplex®16 System(Promega), AmpFISTR SGM Plus™ (Applied Biosystems) ou AmpFISTR Identifiler Plus™ (Applied Biosystems).

Todas as amostras biológicas foram sujeitas ao estudo dos Y-STRs com o kit Powerplex® Y System (Promega), seguindo as indicações do manual do respectivo kit.

A detecção e análise de fragmentos foi efectuada num sequenciador ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems), recorrendo a softwares específicos.

### Resultados:

O kit Powerplex® Y System (Promega) demonstrou óptimos resultados de amplificação, em ambas as fases obtidas na extracção diferencial, bem como nas amostras extraídas pelo método de fenol clorofórmio. Na figura 1 podemos observar os resultados obtidos na fase espermática da extracção diferencial dos vestígios biológicos de uma zaragatoa vaginal, com grande quantidade de ADN amplificado.

Em casos de abuso sexual em que a presença de material celular masculino é escassa, e em que as provas de pesquisa de espermatozoides, esperma e Amelogenina podem não ser elucidativas, o estudo dos Y-STRs pode ser determinante na resolução do exame. Na figura 2 é possível observar um caso em que no locus da Amelogenina existe um desequilíbrio notório entre o pico do cromossoma Y e o do cromossoma X. Na figura 3, a mesma amostra foi amplificada com o Kit Powerplex® Y System (Promega) tendo sido detectados alelos em praticamente todos os sistemas, sendo perceptível a baixa quantidade de ADN masculino.

Na figura 2 são ainda visíveis 4 sistemas autossómicos com mais de dois alelos detectados, o que significa que estamos na presença de uma mistura de vestígios, sendo por isso difícil de analisar.

Nos restantes casos em que o resultado da Amelogenina revelou a presença de material genético masculino foram obtidos resultados de Y-STRs com grande quantidade de ADN, inclusivamente nas amostras cuja quantidade de material celular masculino está presente em muito pequena quantidade.

Na figura 4 está representado o perfil obtido na amostra de uma vítima em que estariam alegadamente implicados 5 agressores, o que como se pode verificar há apenas presença de material biológico correspondente a uma linha paterna que não coincidiu com nenhum dos suspeitos.

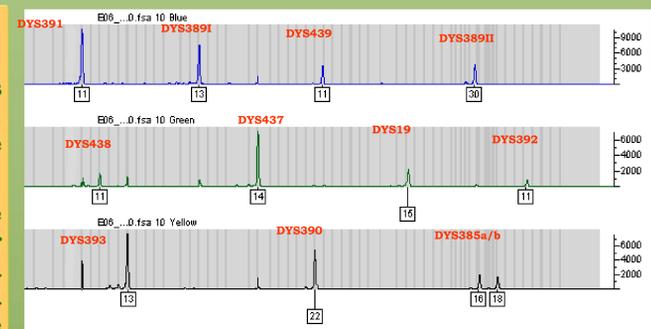


Figura 1 - Resultados da amplificação do kit Powerplex® Y System (Promega) numa amostra de zaragatoa vaginal-fase espermática

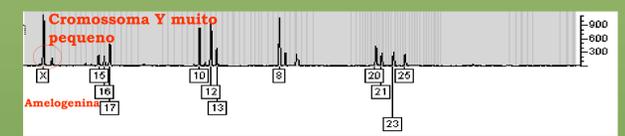


Figura 2 - Resultado da Amelogenina obtido com kit Powerplex®16 System (Promega) numa amostra de zaragatoa vaginal.

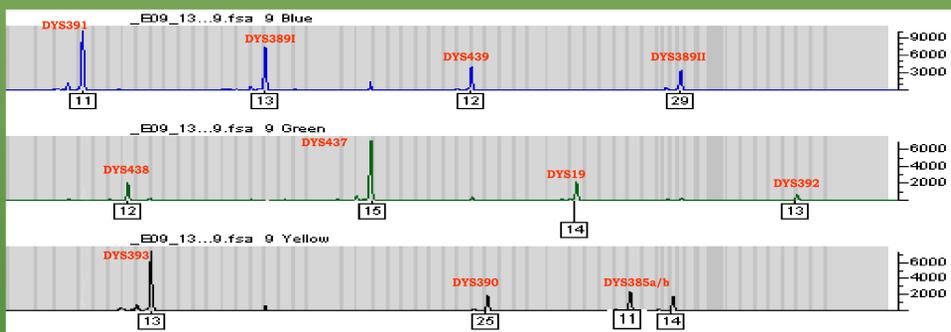


Figura 4 - perfil genético masculino obtido na amostra de uma vítima em que era alegado a existência de 5 suspeitos. Um só perfil revela uma linha paterna não coincidente com o perfil genético dos suspeitos

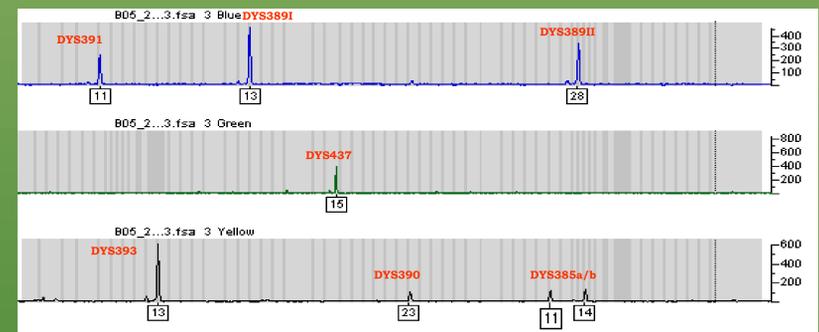


Figura 3 - Resultados dos Y-STRs obtido com kit Powerplex® Y System (Promega) na mesma amostra de zaragatoa vaginal.

### Conclusões

Nos casos de agressão sexual, o ADN autossómico do agressor pode surgir mascarado com o da vítima conduzindo a uma “sobrerrepresentação” do perfil genético da mesma. Quando os vestígios biológicos do agressor estão presentes em muito pequena quantidade e os resultados da fosfatase ácida para pesquisa de esperma são negativos, a pesquisa de Y-STRs pode ser um complemento fundamental para a prova de que existe nas amostras estudadas material genético de origem masculina.

A pesquisa de Amelogenina pode não ser a forma mais eficiente de comprovar a presença de material biológico masculino. Nos casos em que a presença de material biológico masculino é escasso comparativamente ao da vítima (figura 2), ou quando ocorre deleção no gene da Amelogenina do cromossoma Y do agressor, este pode não ser detectado na análise de fragmentos.

Nos casos em que se pode comparar o perfil genético das amostras com o perfil do suspeito, o estudo dos STRs autossómicos pode ser difícil de interpretar numa mistura de material biológico, sobretudo se estiver envolvido mais do que um suspeito. O estudo dos Y-STRs nestas amostras permite excluir imediatamente o(s) suspeito(s) se o perfil genético ou haplótipo não for coincidente. Se ocorrer coincidência dos resultados os restantes membros da mesma linha paterna não podem ser excluídos.

Quando a vítima é um indivíduo do sexo masculino os resultados obtidos também são válidos, sendo possível identificar o perfil genético do agressor conhecendo o perfil genético da vítima, desde que não pertençam à mesma linha paterna.

O Kit Powerplex® Y system poderá ser uma ferramenta muito útil para detectar quantidades mínimas de ADN masculino nas amostras recomendando-se a sua utilização nos casos de agressão sexual.