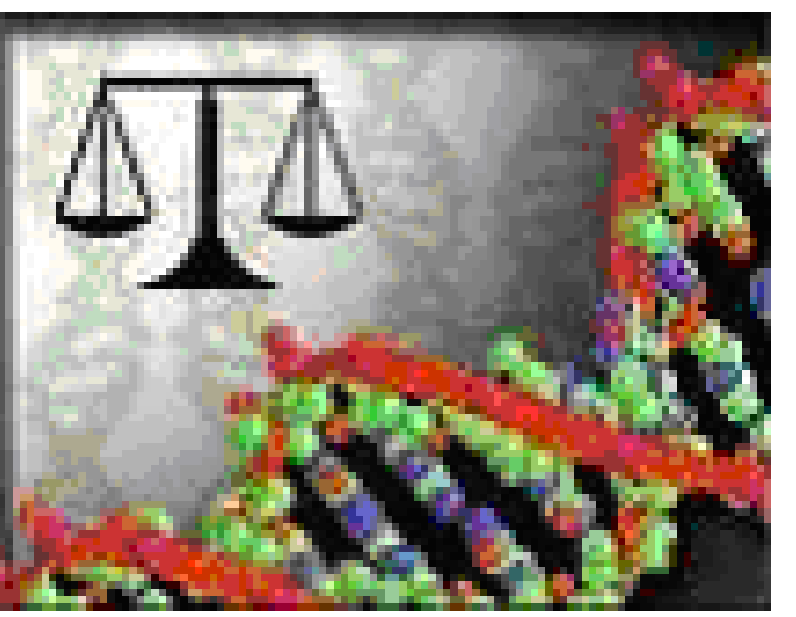




# Contribuição do Y-DNA na identificação de agressores



C. Vieira-Silva, P. Dario, T. Ribeiro, I. Lucas, C. Cruz e R. Espinheira  
Serviço de Genética e Biologia Forense, Delegação de Lisboa, Instituto Nacional de Medicina Legal

## Introdução

- ❖ Os loci do cromossoma Y (Y-STRs) têm sido extensivamente investigados em ciências forenses para identificação de indivíduos do sexo masculino.
- ❖ A aplicação dos Y-STRs, simplifica a análise de misturas, por apenas permitir a amplificação do material genético masculino dos vestígios biológicos.
- ❖ “Y-STR testing” tem sido considerada uma ferramenta adicional valiosa em casos que envolvem misturas de grandes quantidades de DNA feminino com pequenas quantidades de DNA masculino ou/e em casos de múltiplos doadores de sêmen.
- ❖ A aplicação dos Y-STRs em análises de misturas evita a necessidade de realizar uma extracção diferencial de esperma e de células epiteliais. Estes procedimentos de extracção têm um valor limitado em amostras com contribuições masculino/feminino desbalanceadas ou em restos de fluidos biológicos sem espermatozoides.

## Material e Métodos

- ❖ Vestígios biológicos provenientes de 50 casos de abuso sexual foram estudados e os resultados foram comparados com os das amostras de referência da vítima e do suspeito.
- ❖ O DNA das amostras de referência foi extraído pelo método de Chelex, O DNA dos vestígios biológicos foi extraído pelo método de fenol clorofórmio.
- ❖ Os STRs autossómicos foram amplificados com os kits Powerplex® 16 system (Promega), e AmpF1STR Identifiler plus™ (Applied Biosystems). Os STRs do cromossoma Y foram estudados com o kit Powerplex® Y system (Promega).
- ❖ A separação e detecção dos produtos de PCR foi realizada num ABI Prism® 3100 ou num ABI Prism® 3130 (Applied Biosystems) e analisadas com Genescan®3.7 e Genotyper®3.7 ou Genemapper® 3.2 (Applied Biosystems).

## Resultados

- ❖ Na figura 1 podemos verificar que em 21 dos casos estudados - 42% - dos casos estudados não foi detectado DNA masculino com o estudo de STRs autossómicos. As características genéticas masculinas foram obtidas com o estudo de STRs específicos do cromossoma Y.
- ❖ As características genéticas masculinas do cromossoma Y dos vestígios biológicos foram comparadas com a(s) amostra(s) de referência do(s) suspeito(s). Em 5 desses casos o suspeito foi excluído (fig. 2 e 3).
- ❖ Nos restantes 29 casos - 58% - foi determinado um perfil autossómico de mistura, com a detecção de alelos da vítima e do suspeito. Em dois destes casos foi detectada uma mistura de Y-STRs o que indica o envolvimento de dois ou mais contribuintes masculinos (fig.4).

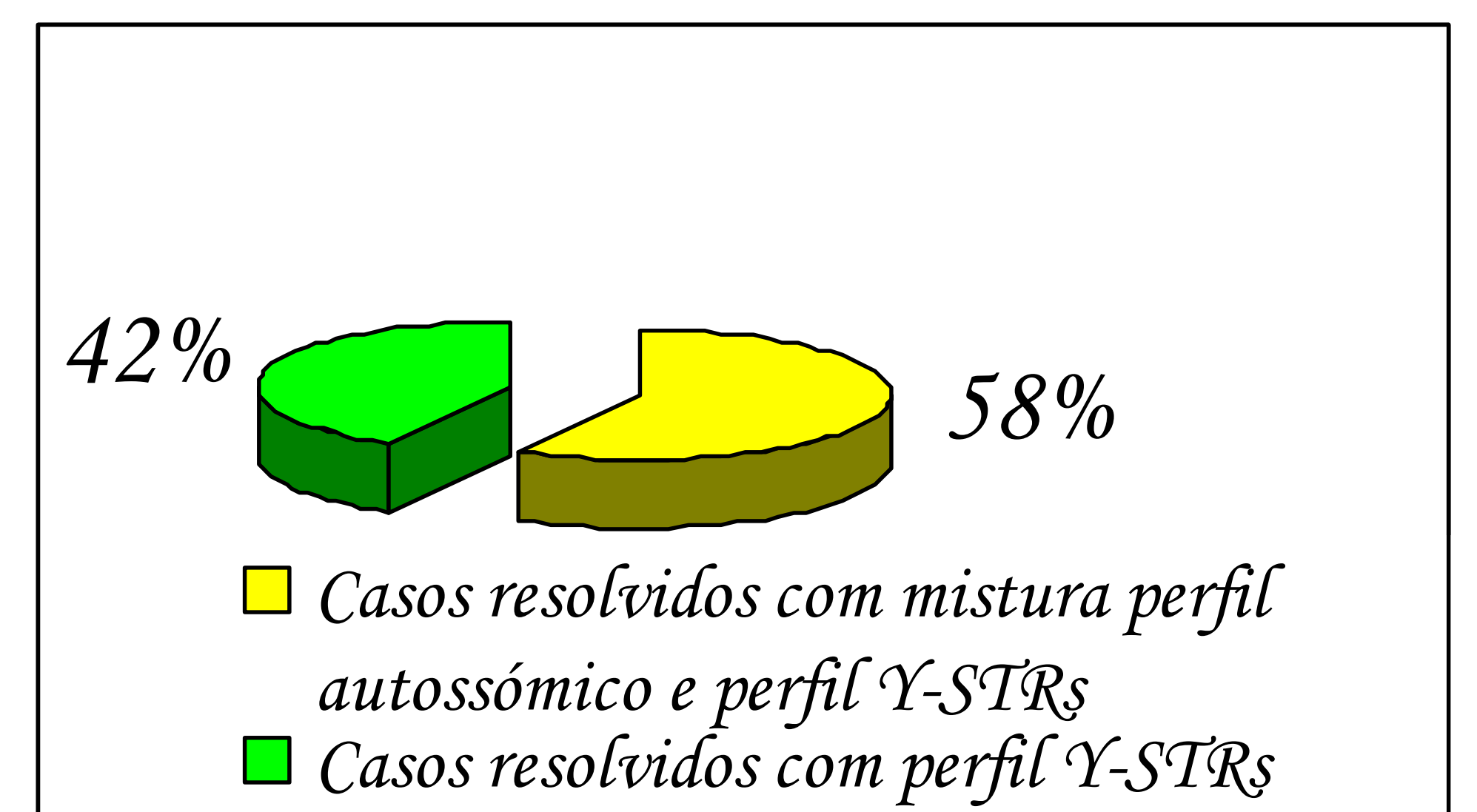


Fig.1 – gráfico representativo da percentagem de casos resolvidos recorrendo ao estudo de STRs autossómicos ou do cromossoma Y.

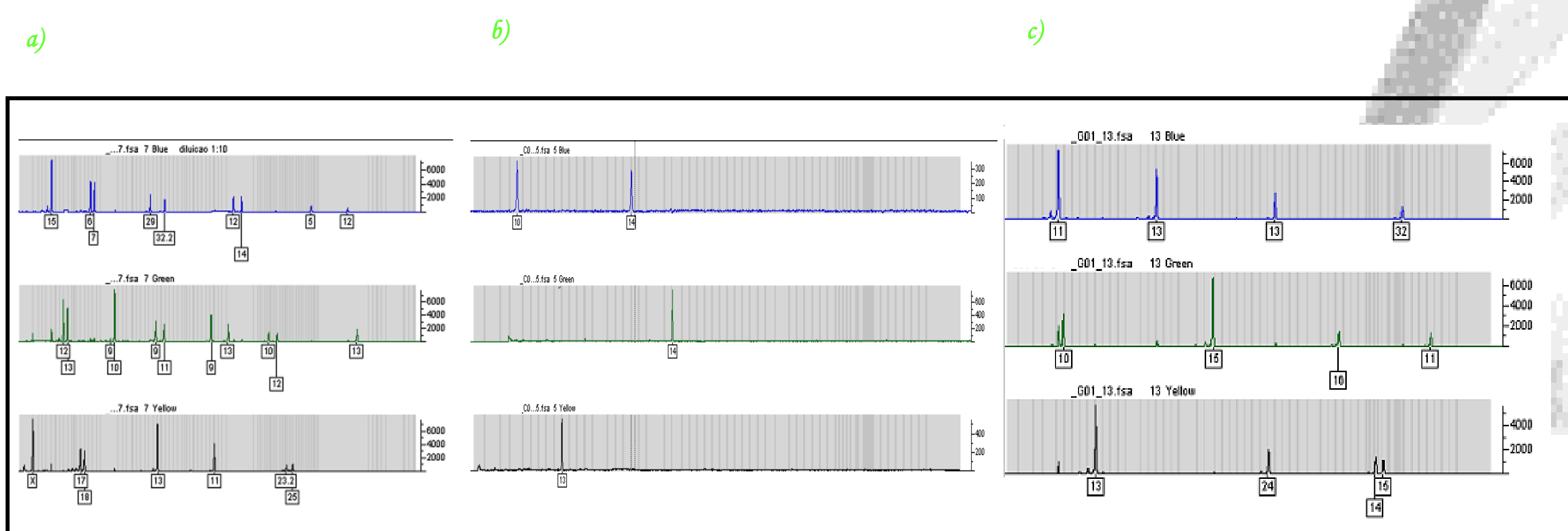


Fig. 2 – amostra de zaragatoa vaginal com pouco DNA masculino. (Em a) Estudo de STRs autossómicos sem perfil mistura, b) Estudo de Y-STRs com resultados em apenas 4 sistemas, c) perfil de Y-STRs da amostra de referência do suspeito em que 3 dos sistemas não são coincidentes com as características obtidas na zaragatoa vaginal.

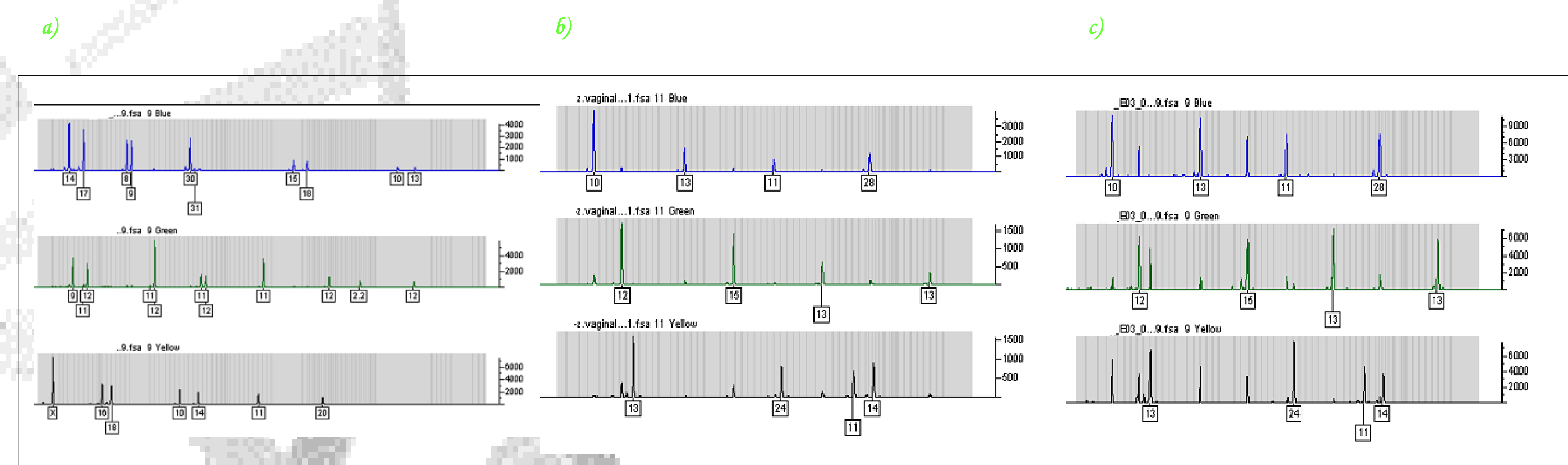


Fig. 3 – amostra de zaragatoa vaginal. (Em a) Estudo de STRs autossómicos sem perfil mistura, b) Estudo de Y-STRs na mesma amostra com resultados em todos os sistemas do kit c) perfil de Y-STRs da amostra de referência do suspeito coincidentes com as características obtidas na zaragatoa vaginal.

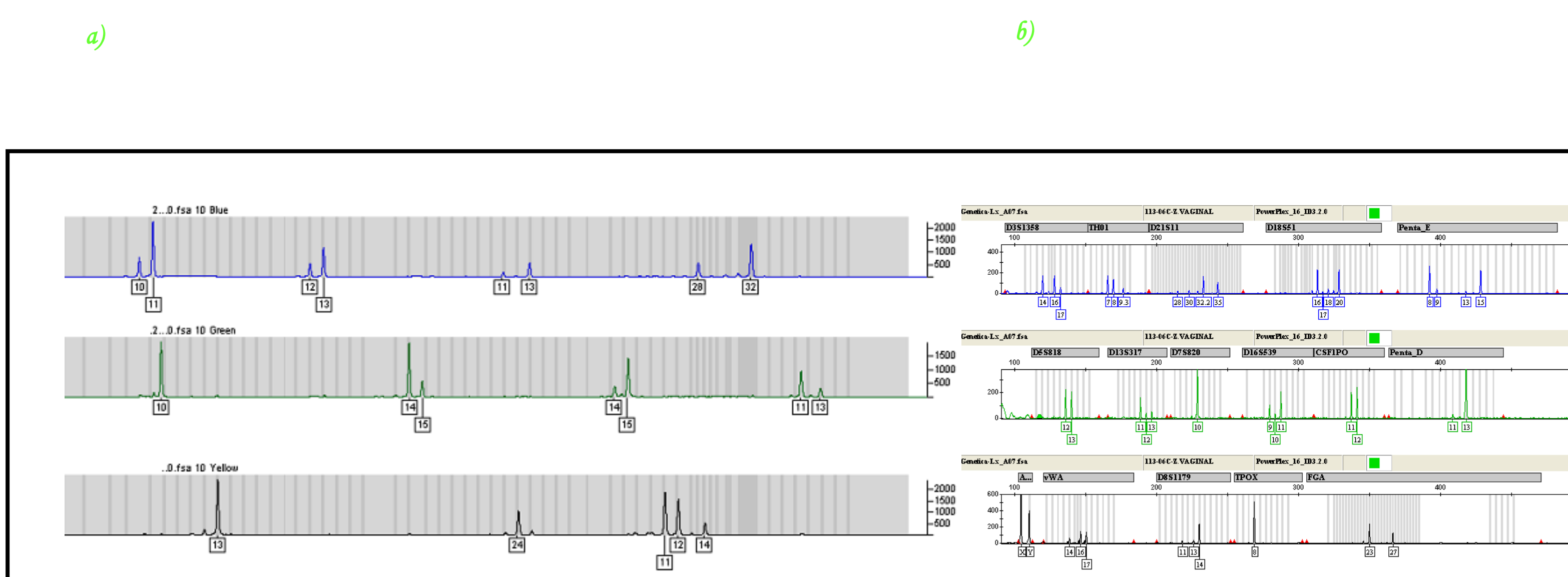


Fig.4 – Mistura de 2 perfis de Y-STRs indicando a presença de pelo menos dois contribuintes masculinos para o vestígio biológico. b) resultados dos STRs autossómicos na mesma amostra, os alelos de um dos contribuintes masculinos são mais dificilmente detectados devido à exiguidade de material genético.

## Conclusões

- ❖ Apesar do baixo poder de discriminação dos Y-STRs e de todos os indivíduos da mesma linha paterna, neste estudo ficou demonstrado que em casos forenses a análise dos Y-STRs é indispensável devido à especificidade de amplificação genética da componente masculina de uma amostra biológica.
- ❖ Em alguns casos em que a quantidade de material masculino é insuficiente para ser detectado um perfil completo com os sistemas do haplotipo mínimo (9 loci), mesmo não sendo estes sistemas suficientes para afirmar que a amostra do suspeito coincide com a da vítima poderemos afirmar que um indivíduo pode ser excluído de ser contribuinte de algum vestígio biológico, se não existir coincidência entre alguma das características genéticas do suspeito e as características genéticas dos vestígios encontrados.
- ❖ Os resultados obtidos demonstram que todas as amostras dos casos de violação devem ser estudados com sistemas multiplex de grande sensibilidade de Y-STRs.
- ❖ A presença de Y-DNA constitui prova de contacto sexual sendo importante para corroborar o testemunho das vítimas de abuso sexual.

## Bibliografia

- Delfin, F.C., Madrid B.J., Tan M.P., Ungria M.C.A. Y-STR analysis for detection and objective confirmation of child sexual abuse, *Int J. Legal Med* (2005)119:158-163
- Mulero J.J., Chang C.W., Calandro L.M., Green R.L., Li Y., Johnson C.L., Hennessy L.K. Development and validation of the AmpF1STR® Yfiler™ PCR Amplification kit: A male specific single amplification 17 Y-STR multiplex System, *J. For. Sci.*, January 2006 (51) nº 1 64-75
- Cerri N., Ricci U., Sani I., Verzeletti A., DE Ferrari F. Mixed Stains from sexual assault cases:Autosomal or Y-Chromosome Short Tandem Repeats? *Croat Med J* 2003 (3):289-292
- Sibille J., Duverneuil C., Lorin de la Grandmaison, Guerrouache K., Teissière F., Durigon M., Mazancourt P. Y-STR DNA amplification as biological evidence in sexually assaulted female victims with no cytological detection of spermatozoa *For. Sci. Int.* 125 (2002)212-216