

Eixo Temático ET-09-004 - Biologia Aplicada

FENOTIPAGEM: A RELAÇÃO GENÓTIPO-FENÓTIPO-AMBIENTE

Yorran Hardman Araujo Montenegro¹, Rosália Santos Ferreira², Ellen Rachel de Almeida Martins³, Maria Karoline da Silva Marcelino⁴, Denise de Queiroga Nascimento⁵

¹Graduando em Ciências Biológicas. Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). E-mail: yorran_montenegro@hotmail.com.

²Graduanda em Ciências Biológicas. Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). E-mail: rosaliaferreira496@gmail.com.

³Graduanda em Ciências Biológicas. Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). E-mail: ellenmartinsjp@gmail.com.

⁴Graduanda em Ciências Biológicas. Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). E-mail: karollmarcelinos@gmail.com.

⁵Mestranda em Genética. Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA). Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) E-mail: dennise.queiroga@gmail.com.

RESUMO

A genética forense é uma área do conhecimento que trata de técnicas moleculares para auxiliar, na maioria das vezes, no desvendamento de casos criminais. Afim de aprimorar ainda mais essa técnica e avançar no desfecho da ocorrência, uma nova ferramenta tem-se achegado no âmbito criminal, a fenotipagem por DNA (FPD). Tal mecanismo prediz a possível aparência física de indivíduos desconhecido em cenas de investigação acusável ou em sítios arqueológicos apenas com uma amostra de DNA. Entretanto essa tecnologia de análise enfrenta um obstáculo extremamente importante: a relação entre genótipo-fenótipo-ambiente, no qual tornam-se responsáveis por definir as características finais de um indivíduo. Com isso, o presente trabalho, tratasse de uma revisão bibliográfica, no qual selecionou artigos que destacasse os avanços nas ferramentas para as investigações de cunho forense. Por meio dessa análise foi possível observar evidências em marcadores específicos que puderam ser correlacionadas com características fenotípicas do indivíduo. Assim, muito pode-se inferir sobre a potencialidade de ferramentas desenvolvidas e que são eficazes para o entendimento dessa tríade: fenótipo-genótipo-ambiente.

Palavras-chave: Fenotipagem por DNA; Ciência Forense; Técnicas moleculares.

INTRODUÇÃO

As pesquisas relacionadas ao genoma humano têm gerado significativos avanços no ramo da ciência forense. Ferramentas técnicas que utilizam o DNA têm sido cruciais na elucidação de problemas jurídicos indo desde testes de parentidade à identificação de indivíduos suspeitos em locais de crime. Uma das ferramentas de previsão que pode funcionar como “testemunha biológica” é a fenotipagem forense por DNA (FPA) (VIRMOND et al., 2016).

A FPA trata-se de um método que prediz as características físicas de um indivíduo a partir do material biológico encontrado no local investigado. A efetivação dessa metodologia se dá a partir de Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNP). Estes SNPs são empregados na análise forense por possuírem características especiais, como, por exemplo, capacidade de previsão de origem biogeográfica e o provenimento de informações fenotípicas. Essa precisão biogeográfica facilita no entendimento quanto às relações fenotípicas com o ambiente e nas características fenotípicas típicas da população em questão (FAGERTUN et al., 2015; VIRMOND et al., 2016).

Mesmo com todo o avanço tecnológico da implementação dessa nova tecnologia, especialmente no âmbito de investigação forense, é necessário ter em mente que essa predição fenotípica possui alguns obstáculos cruciais. Esses obstáculos dizem respeito, por exemplo, ao trio: genótipo-fenótipo-ambiente. As características fenotípicas podem ser simples quando

expressas por genes ou complexas quando alteradas por fatores ambientais. Essa junção de fatores acaba influenciando de maneira direta o fenótipo final do indivíduo, especialmente o rosto. Tais fatores ambientais são relevantes e importantes para serem analisados. Muitos estudos têm focado nos SNPs relacionados a pigmentação humana, já que se trata de um perfil de alta hereditariedade e suficiente para fornecer dados fenotípicos de interesse dos indivíduos.

Vale ressaltar também que o rosto humano está susceptível às mais diversas interações para sua caracterização fenotípica final. Entre estes encontramos os fatores genéticos, especialmente aqueles que dizem respeito à morfologia facial, as chamadas características de alelos múltiplos. Diferente das leis de Mendel tradicionais, as características de alelos múltiplos demonstram que uma simples característica fenotípica humana como o cabelo é controlado pela expressão gênica de inúmeros genes espalhados por todos os cromossomos autossômicos, tornando a predição fenotípica de um indivíduo uma tarefa extremamente árdua (CLAES et al., 2014).

Atentando para essa nova tecnologia aplicada recentemente aos estudos envolvendo a caracterização fenotípica dos indivíduos, o presente trabalho visa estabelecer quais são os avanços alcançados nos últimos anos para a concretização dessa tecnologia importante, principalmente, na resolução de investigações criminais e forenses.

METODOLOGIA

A revisão bibliográfica tem por intuito integrar informações que podem ser abordadas em estudos realizados separadamente, e posteriormente apresentar resultados conflitante e/ou coincidentes afim de auxiliar em investigações futuras (SAMPAIO; MANCINI, 2007). Para tal revisão bibliográfica foram pesquisados e selecionados artigos que abrangessem atuais avanços na área da ciência forense e visto como essa progressão pode facilitar nas investigações forenses quanto às relações genotípicas e fenotípicas de um indivíduo.

Os artigos foram extraídos de bancos de dados como o SCIENCE DIRECT e NCBI, sendo esta escolha justificada pelo grande número de periódicos encontrados na área de biologia celular, molecular e saúde. Para a busca dos artigos, foram utilizadas algumas combinações de palavras-chave, sendo estas: “Forensic genetics”, “relations in forensic genetic”, “Investigation with the genetic forensic”. Além disso, optou-se por selecionar trabalhos nos idiomas inglês, português e francês, com delineamento experimental e resultados robustos, publicados entre 2011 até a atualidade, garantindo assim um levantamento bibliográfico atualizado. Os dados de exclusão para esta revisão são artigos que não tenham abordagem experimental a respeito da temática proposta como também artigos publicados em data anterior a indicada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao total foram analisados nove artigos, considerados relevantes para a pesquisa podendo ser consultados na Tabela 1.

Tabela 3. Relação dos trabalhos selecionados para a revisão bibliográfica.

TÍTULO	AUTOR	ANO
DNA-based eye colour prediction across Europe with the IrisPlex system	WALSH et al	2012
Development of a forensic skin colour predictive test	Manoñas et al	2014
Toward DNA-based facial composites: Preliminary results and validation	Claes et al	2014
Forensic DNA Phenotyping: Predicting human appearance from crime scene material for investigative purposes	Kayser	2015
Predicting facial characteristics from complex polygenic variations	Fagertun et al	2015
Bringing colours back after 70 years: Predicting eye and hair colour from skeletal remains of World War II victims using the HIrisPlex system	Chaitanya et al	2017
Forensic DNA phenotyping: Developing a model Privacy Impact Assessment	Scudder et al	2018
Single multiplex system of twelve SNPs: Validation and implementation for association of SNPs with human eye and hair	Kstelic; Drobnic	2011
Fenotipagem Forense pelo DNA através de SNPs	Virmond et al	2016

As três principais características fundamentais que instituem a base para a construção fenotípica de um indivíduo são: cor da pele, cor dos olhos e cor do cabelo. Tais traços são os principais alvos de aprimoramento e entendimento funcional da tríade: genótipo-fenótipo-ambiente.

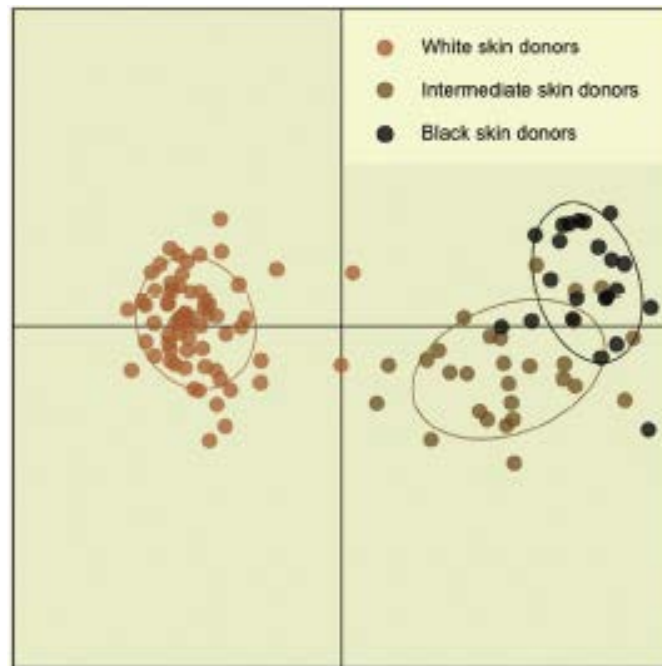
Cor da pele

Sabe-se que os fatores ambientes podem influenciar diretamente na expressão fenotípica de um indivíduo. Para Maroñas et al. (2014) a evidência para essa interferência se dá, por exemplo, em africanos que quando expostos a baixas taxas de radiação ultravioleta tornam-se pálidos, enquanto que europeus quando expostos a altas taxas de radiação ultravioleta tornam-se morenos. Além dessa caracterização ambiental, as propriedades genéticas para a determinação da cor de um indivíduo se dão pela atividade de melanócitos que variam em diferentes frequências alélicas dentro de uma determinada população.

Maroñas et al. (2014) analisaram as disparidades relativas aos SNP entre as populações africana, europeia e afroeuropeia, desmesurando as diferenças relativas quanto a frequência alélica nessas populações pela espectrometria. Esses pesquisadores encontraram uma relação muito intrínseca entre SNP específicos para as cores negras, morenas e brancas a partir dos doadores da pesquisa. Na população com pele negra, por exemplo, foram identificados os seguintes polimorfismos para estas cores: rs16891987, rs1426654, rs10777129, rs6058017, rs1408799 e rs1448484. Na Figura 1 estão demonstrados com precisão a distribuição dos grupos polimórficos encontrados. Além da detecção dos polimorfismos específicos, eles acabaram observando que entre os 29 SNP analisados nas populações, 10 destes eram encontrados em todos os casos. Por fim, os pesquisadores concluíram que as funções relativas a esses SNPs comuns eram na intensidade quanto à cor da pele dos indivíduos, sendo estes responsáveis pelas gradações das cores como pode ser percebido na Figura 2.

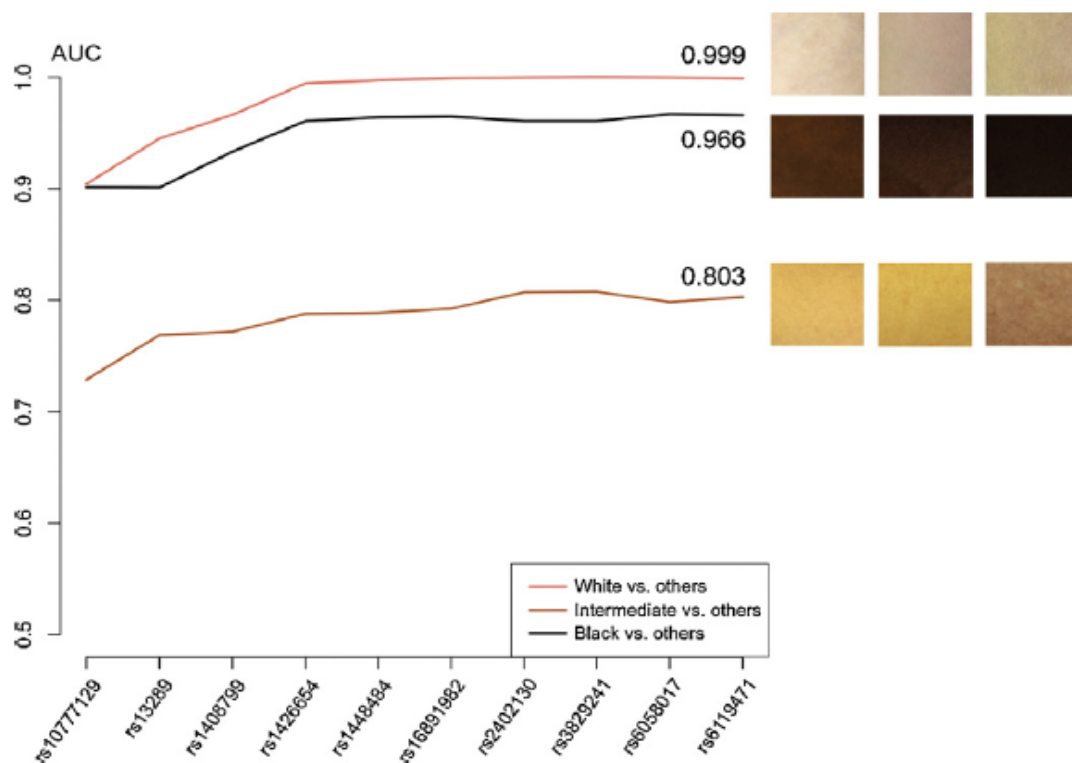
Na área de análise de fenotipagem criminal, a inferência sobre a aparência dos indivíduos pode ser utilizada como uma das formas mais eficientes de resolução direta dos crimes. Não só no âmbito criminal, mas até mesmo na busca de pessoas desaparecidas, as informações a respeito das possíveis mudanças fenotípicas da idade podem ser utilizadas (Maroñas et al., 2014).

Figura 1. Apresentação da distribuição dos Polimorfismos de Nucleotídeo Único nas diferentes cores de pele.



(Fonte: MAROÑAS et al., 2014)

Figura 2. Quadro gradativo de variação fenotípica na cor dos indivíduos. No eixo X encontram-se os SNP comuns a todas as cores de pele. No eixo Y encontram-se as frequências relativas a cada SNP.



(Fonte: MAROÑAS et al., 2014)

Cor dos olhos

Os primeiros estudos envolvendo as correlações genóticas com as características fenotípicas dos indivíduos quanto à cor dos olhos foram iniciados no ano de 2007 pela equipe de Frudakis (2007), detectando 33 SNP do gene OCA2. Posteriormente Sulem et al. (2018) inferiram nos primeiros estudos quanto à GWAS (uma *database* com as principais informações relativas aos genes de alelos múltiplos) para traços com pigmentação, e identificaram nove SNP em seis diferentes regiões genômicas (SLC24A4, KITLG, 6p.25.3 TYR, OCA2-HERC2 e MC1R) associando-as com as diferentes pigmentações oculares para a população europeia (KAYSER, 2015).

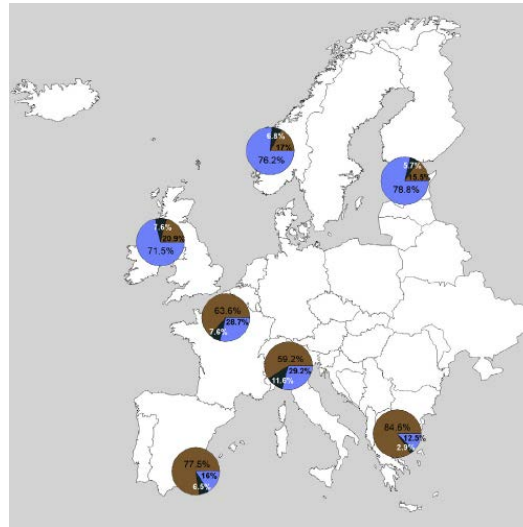
Um dado interessante quanto à pigmentação dos olhos é que, geralmente, a variação quanto ao gradiente de coloração para olhos é restrita às populações europeias, especialmente as categorias de coloração azuladas, castanhos e seus intermediários, como olhos verdes, por exemplo. Entretanto, nas demais populações, os indivíduos tendem a apresentar em maior porcentagem olhos castanhos e tal traço corrobora com o ponto de vista evolutivo no qual aponta que os primeiros homens modernos surgiram do continente africano. A coloração dos olhos então surgiu como um processo de mutação ocorrido e se estabelece na história da população europeia (WALSH et al., 2012). Por esta razão, os estudos que visam estabelecer uma tríade inter-relacionada estabelecem como população referência os descendentes europeus, analisando quanto às frequências alélicas nesta população.

Chaitanya et al. (2017) utilizaram a técnica *HirisPlex genotyping*, um software onde foram colocadas as informações relativas aos 24 marcadores conhecidos hoje para estabelecimento fenotípico sobre a cor dos olhos para o DNA de mais de 1000 soldados mortos durante a Segunda Guerra Mundial. Surpreendentemente, houve um resultado positivo quanto à análise desses marcadores e os dados confirmaram o fenótipo que os próprios registros fotográficos e relatos familiares destes mesmos soldados.

Atualmente, um perfil foi traçado quando as distribuições das frequências relativas das colorações incidentes nas regiões europeias como mostra a Figura 03. Quando levamos em consideração esse aspecto fenotípico da cor dos olhos, atualmente esse estabelecimento tem sido bastante difundido e concretizado, embora, as relações entre fenótipo e meio ambiente são mais complexas. No entanto, as pesquisas tem avançado e, surpreendentemente, a coloração dos olhos foi um indicador relacionado de maneira direta com outra característica fenotípica: a cor dos cabelos (WALSH et al., 2012).

A partir da explanação realizada quanto aos avanços relativos ao campo da fenotipagem, observa-se que a determinação fenotípica de um indivíduo é acurada. A relação entre a expressão gênica e fenótipo ocorre a partir de uma interação entre as características populacionais do indivíduo numa relação com as características fenotípicas intrínsecas à população ancestral do mesmo. As próprias características ambientais do próprio local de habitação do indivíduo que podem incidir um fenótipo quanto a cor da pele, por exemplo. Os estudos têm demonstrado que a cada novo passo dado em direção a predição fenotípica, mais tem-se entendido como os fatores do próprio ambiente, ancestrais e genotípicos podem atuar sobre a formação fenotípica de um indivíduo (WALSH et al., 2012).

Figura 3. Frequências quanto ao padrão de distribuição da cor dos olhos pela Europa.



(Fonte: KAYSER, 2015)

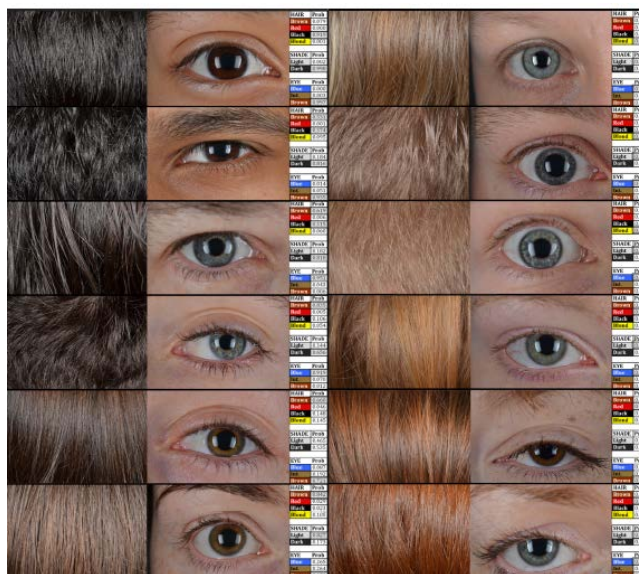
Cor do Cabelo

O primeiro teste para a definição de SNP quanto a coloração do cabelo foi realizado em 2001 através das análises do gene *MC1R*. O teste demonstrou cerca de 21 variações e polimorfismos (KAYSER, 2015).

Branicki et al. (2013) realizaram o primeiro teste genético que teve seus resultados a partir dos polimorfismos encontrados na amostra de DNA. O denominado *HirisPlex Sistem* (Fig. 03) inclui não só os 24 marcadores mais comuns para a cor de cabelo, mas também incluíam marcadores associados a coloração dos olhos.

Apenas em 2014 houve, finalmente, o estudo de validação do método de determinação fenotípica pelo sistema *HirisPlex Sistem* baseado com a compatibilidade da SWGDAM, o banco de dados online para marcadores genéticos de características fenotípicas. Essa regulamentação para utilização forense baseou-se, principalmente, em incluir nas análises as características do local em que o indivíduo habitava. Mesmo não tendo uma regulamentação quanto à ancestralidade do mesmo, esses dados acabam acurando as principais características fenotípicas de alguns países bases, como, por exemplo, indivíduos com descendência Leste-asiática, africana, Oceania e nativo americanos são esperados descendentes com cabelos negros (KAYSER, 2015).

Figura 4. Exemplos quanto a plataforma do HIrisPlex System.



(Fonte: KAYSER, 2015),

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos avanços tecnológicos, atualmente pode-se observar um grande avanço quanto a identificação de perfis gênicos e sua aplicabilidade nas ciências forenses e investigações criminais. Atentando-se para esses recentes avanços, embora datados inicialmente em 2001, muito se pode inferir da potencialidade do desenvolvimento de ferramentas eficazes para o entendimento da tríade fenótipo-genótipo-ambiente.

Vale ressaltar que aspectos éticos ainda precisam ser discutidos nesse âmbito, especialmente quanto ao uso de material genético nas investigações criminais, verificando como poderia ser feita uma melhor correlação entre a lei e a utilização de dados gênicos dos indivíduos estudados.

REFERÊNCIAS

- CHAITANYA, L. et al. Bringing colour back after 70 years: Predicting eye and hair colour from skeletal remains of World War II victims using the HIrisPlex system. **Forensic Science International: Genetics**, v. 26, p. 48-57, 2017. <http://doi.org/10.1016/j.fsigen.2016.10.004>
- CLAES, P.; HILL, H.; SHRIVER, M. D. Toward DNA-based facial composites: Preliminary results and validation. **Forensic Science International: Genetics**, v. 13, p. 208-216, 2014. <http://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.08.008>
- FAGERTUN, J. et al. Predicting facial characteristics from complex polygenic variations. **Forensic Science International: Genetics**, v. 19, p. 263-268, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.08.004>
- KASTELIC, V.; DROBNIČ, K. Single multiplex system of twelve SNPs: Validation and implementation for association of SNPs with human eye and hair color. **Forensic Science International: Genetics**, v. 3, n. 1, Supplement Series, p. 216-217, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigss.2011.08.108>
- KAYSER, M. Forensic DNA phenotyping: Predicting human appearance from crime scene material for investigative purposes. **Forensic Science International: Genetics**, v. 18, p. 33-48, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.02.003>

MAROÑAS, O. et al. Development of a forensic skin colour predictive test. **Forensic Science International: Genetics**, v. 13, p. 34-44, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.06.017>

SCUDDER, N. et al. Forensic DNA phenotyping: Developing a model privacy impact assessment. **Forensic Science International: Genetics**, v. 34, p. 222-230, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.03.005>

VIRMOND, M. B. et al. Fenotipagem forense pelo DNA através de SNPs. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 5, n. 2, p. 37-47, 2016. <http://dx.doi.org/10.15260/rbc.v5i2.128>

WALSH, S. et al. DNA-based eye colour prediction across Europe with the IrisPlex system. **Forensic Science International: Genetics**, v. 6, n. 3, p. 330-340, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.07.009>