



## LABORATÓRIO DE INVESTIGAÇÃO DE PATERNIDADE FCFAR-UNESP: HISTÓRICO E ATUALIDADES

*Regina Maria Barretto Cicarelli  
Danilo Faustino Braganholi  
Joyce Aparecida Martins  
Raquel de Freitas Figueiredo  
Greiciane Gaburro Paneto  
Aline Carolina Omai de Mello*

### RESUMO

O Laboratório de Investigação de Paternidade – FCFAR-UNESP – realiza, desde 2001, uma atividade de extensão universitária conforme o 3º. artigo da Resolução UNESP nº. 53 de 03 de novembro de 2004, classificado na área de Direitos Humanos, o qual envolve prestação de serviços à comunidade, formação de recursos humanos altamente qualificados e desenvolvimento científico institucional. Essa prestação de serviço à comunidade é realizada com recursos tecnológicos avançados e controle de qualidade de padrão internacional, colocando à disposição os resultados de pesquisas de interesse na identificação humana pelo DNA. O laboratório oferece um serviço extremamente qualificado por um preço justo, permitindo que a população de menor poder aquisitivo tenha acesso a exames dessa natureza.

**Palavras-chave:** Identificação humana. Paternidade. DNA.

## LABORATORY OF PATERNITY FCFAR-UNESP: HISTORY AND CURRENT ISSUES

### ABSTRACT

The Laboratory of Investigation on Paternity - FCFAR-UNESP performs an outreach university activity according to 53, UNESP Resolution article 3 , published on November 3, 2004. This article is classified in Human Rights area involving community services, training highly qualified human resources and scientific development. This kind of service is performed with advanced technological resources and quality control similar to the international standard. in human identification by DNA research results are available . The laboratory offers a highly qualified service at a fair price, allowing the low-income population access to such tests.

**Keywords:** Human identification. Paternity. DNA.

## LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN DE PATERNIDAD FCFAR-UNESP: HISTÓRICO Y ATUALIDADES

### RESUMEN

El Laboratorio de Investigación de Paternidad - FCFAR-UNESP realiza una actividad de extensión universitaria de acuerdo con el artículo tercero de la Resolución N. UNESP 53, 03 de noviembre 2004, que se clasifica en el área de Derechos Humanos, que involucra la prestación de servicios comunitarios, la formación de recursos humanos altamente calificados y el desarrollo científico. Este tipo de servicio se realiza con recursos tecnológicos avanzados y control de calidad similar a la norma internacional, poniendo, así, a disposición los resultados de la investigación en la identificación humana por el ADN. El laboratorio ofrece un servicio altamente cualificado a un precio justo, lo que permite el acceso de la población de bajos ingresos a dichas pruebas.

**Palabras clave:** La identificación humana. Paternidad. ADN.

## INTRODUÇÃO

A identificação humana é o processo pelo qual se determina a identidade de uma pessoa através do estabelecimento de um conjunto de caracteres que a individualize, fazendo-a igual apenas a si mesma ([FRANÇA, 2001](#)).

Teste de identidade humana forense é um campo da Ciência que envolve a identificação de amostras biológicas. Tradicionalmente, as análises de marcadores genéticos proteicos e os produtos dos genes foram tipados para detectar polimorfismos que poderiam ser potencialmente usados para diferenciar indivíduos ([MARTINS, 2008](#)).

No século XX, a descoberta dos grupos sanguíneos ABO marcou o início dos estudos modernos sobre a variação genética humana ([JORDE; WATKINS; BAMSHAD, 2001](#)). Nesta primeira fase, o exame forense de amostras biológicas era realizado com a aplicação deste clássico sistema, o qual foi utilizado por várias décadas em testes de identificação humana e em evidências relacionadas a crimes. Posteriormente, outros sistemas de proteínas marcadoras como os componentes grupo-específicos, transferrina, albumina, ceruloplasmina, haptoglobina, fosfoglicomutase-1, fosfatase ácida, esterase D etc., mostraram-se variáveis entre os grupos populacionais e passaram, também, a ser utilizados ([MARTINS, 2008](#)).

Marcando uma segunda fase, em 1954, foi demonstrada a ocorrência de um sistema de histocompatibilidade mediado por antígenos na superfície dos leucócitos, conhecido como complexo HLA (*histocompatibility leucocyte antigen*), determinado por genes alélicos muito próximos, localizados no braço curto do cromossomo 6, com acentuado poder de discriminação ([CALABREZ, 1999](#)). O uso de sistemas proteicos para a aquisição de altos níveis de diferenciação entre os indivíduos apresenta, no entanto, alguns inconvenientes, tais como a relativa baixa estabilidade das proteínas em amostras biológicas expostas ao ambiente, o baixo poder de discriminação dos sistemas e o fato de os mesmos marcadores proteicos não existirem em todos os tecidos de um indivíduo ([WEEDN; SWARNEN, 1998](#)). A tipagem de polimorfismos genéticos pelo DNA contornou muitas dessas limitações, dando início à terceira fase do desenvolvimento das ciências forenses voltadas à identificação humana.



A identificação humana pelo DNA tornou-se uma ferramenta importantíssima na determinação de paternidade e/ou vínculo biológico em perícias forenses, devido ao seu alto poder de discriminação, o qual permite obter a identificação de um indivíduo e/ou determinar o vínculo biológico entre indivíduos com a menor probabilidade de erro possível.

Nos testes de identificação humana pelo material genético são estudadas regiões hipervariáveis do DNA, as quais apresentam dois tipos de polimorfismos: o de sequência e o de comprimento. O primeiro é composto de diferentes nucleotídeos em uma determinada localização do genoma e, geralmente, se baseia em meras mutações pontuais ([WEEDN; SWARNEN, 1998](#)). O segundo corresponde a sequências de nucleotídeos que se repetem consecutivamente, conhecidas como VNTRs, *variable number of tandem repeats* ([MOLLER; BRINKMANN, 1995](#)).

De acordo com o *International Human Genome Sequencing Consortium* (2001), a sequência repetitiva também conhecida como motivo, formada de 14 a 500 pb, é denominada região minissatélite e, aquela formada de 1 a 13 pb, é conhecida como região microssatélite ou região de repetições consecutivas curtas (STRs, *short tandem repeats*). O número de repetições do motivo varia entre os indivíduos, criando o polimorfismo de comprimento, e estas formas variantes são denominadas "alelos". Os marcadores STRs estão espalhados pelos cromossomos em regiões não codificadoras entre os genes ou dentre eles (éxons), correspondendo a, aproximadamente, 3% do genoma humano ([SUBRAMANIAN; MISHRA; SINGH, 2003](#)).

A tecnologia mais recente, utilizada pela comunidade que atua na área de identificação humana, consiste na amplificação de regiões STRs pela reação de PCR (*polymerase chain reaction*), um processo *in vitro* que aumenta a quantidade de um fragmento pequeno de DNA previamente selecionado ([MULLIS; FALOONA, 1987](#)). A característica mais importante da PCR é sua capacidade de obter, relativamente, grandes quantidades de um fragmento de DNA, partindo de quantidades muito pequenas, da ordem de nanogramas ou picogramas ([SWEET, 2001](#)).

O perfil genético de um indivíduo é baseado na combinação de diversos marcadores que são herdados de seus progenitores. Esses marcadores são geralmente diferenças nas sequências de DNA nuclear entre os indivíduos conhecidos como polimorfismos. Na prática forense, normalmente, são analisados marcadores autossômicos e do cromossomo Y, sendo a utilização dos marcadores do cromossomo X ainda muito recente ([MARTINS, 2008](#)).

Entretanto, em alguns casos, como na exumação, em que pouco material biológico está disponível e, em casos complexos de vínculo biológico, como os exames de DNA realizados com o suposto pai falecido ou ausente, a análise dos marcadores tradicionais (autossômicos) pode não solucionar o caso. Nessas situações, faz-se necessária à análise de outros marcadores como as regiões polimórficas do cromossomo X ([SZIBOR et al., 2003](#)), as quais são capazes de complementar a análise dos autossômicos e do cromossomo Y de forma muito eficaz ([PANETO et al., 2010](#)).

Em alguns casos, a análise do DNA nuclear não pode ser aplicada. Isso ocorre quando o DNA da amostra apresenta-se degradado ou em situações em que o material



biológico não apresenta o DNA nuclear, como em fragmentos de cabelo ([SALAS; LAREU; CARRACEDO, 2001](#); [PANETO et. al. 2010](#)). Nestes casos, a única alternativa, ou pelo menos a alternativa de maior sucesso, é a análise do DNA mitocondrial (mtDNA).

No contexto da análise forense, o interesse pelo mtDNA surgiu por vários motivos: primeiro, esse DNA também contém regiões polimórficas que permitem sua individualização; segundo, os descendentes recebem esse DNA apenas da mãe, o que permite traçar a linhagem materna de uma pessoa; e, terceiro, é mais resistente à degradação que o DNA nuclear, além de estar presente em várias cópias por célula. Assim, em grandes desastres (incêndios, explosões, queda de avião etc.), quando é mais difícil identificar os corpos, analisa-se o mtDNA ([ANJOS et al., 2004](#)), que é extraído dos restos mortais e a sequência de interesse é comparada com sequências obtidas de irmãos ou ascendentes maternos. Devido ao fato de o genoma mitocondrial ser haplóide, ou seja, possuir apenas a contribuição materna, os diferentes mtDNAs são ditos haplótipos ([PANETO, 2006](#)).

A região hipervariável do mtDNA é de interesse para a identificação humana devido ao alto grau de polimorfismo na sequência de nucleotídeos, e compreende três segmentos da região controle: HV1 (da posição 16024 a 16365), HV2 (da posição 73 a 340) e HV3 (da posição 438 a 574) ([LUTZ et al., 2000](#)). A utilidade, aplicação e validade da utilização do mtDNA na análise forense estão bem documentadas ([IMAIZUMI et al., 2005](#)). Essa foi a primeira ferramenta utilizada na identificação de ossadas de soldados americanos que lutaram na Guerra do Vietnã ([HOLLAND; FISHER; MITCHELL, 1993](#)). Restos das vítimas da tragédia de 11 de setembro de 2001 no *World Trade Center* (EUA) também foram analisados por essa técnica ([HOLLAND et al., 2003](#)).

O Laboratório de Investigação de Paternidade, localizado na Faculdade de Ciências Farmacêuticas em Araraquara, realiza perícias de investigação de paternidade com tecnologia avançada na análise de DNA, com qualidade técnico-científica necessária para sua utilização na área de identificação humana, mediante análises dos STRs autossômicos, dos cromossomos X e Y, e do DNA mitocondrial. O laboratório oferece uma prestação de serviços importante devido à grande procura, por parte do Poder Público, para esclarecimento de processos jurídicos para determinação da identidade biológica do indivíduo e relação de vínculo genético com os ascendentes. O laboratório também desenvolve pesquisas em identificação humana, incrementando as informações existentes na área.

## OBJETIVOS

- Oferecer um serviço extremamente qualificado por um preço justo, permitindo que a população de menor poder aquisitivo tenha acesso a exames dessa natureza;
- Desenvolver pesquisas na área de genética de populações, incrementando as informações técnico-científicas na área de identificação humana;
- Formar recursos humanos altamente qualificados na área de genética forense.

## METODOLOGIA

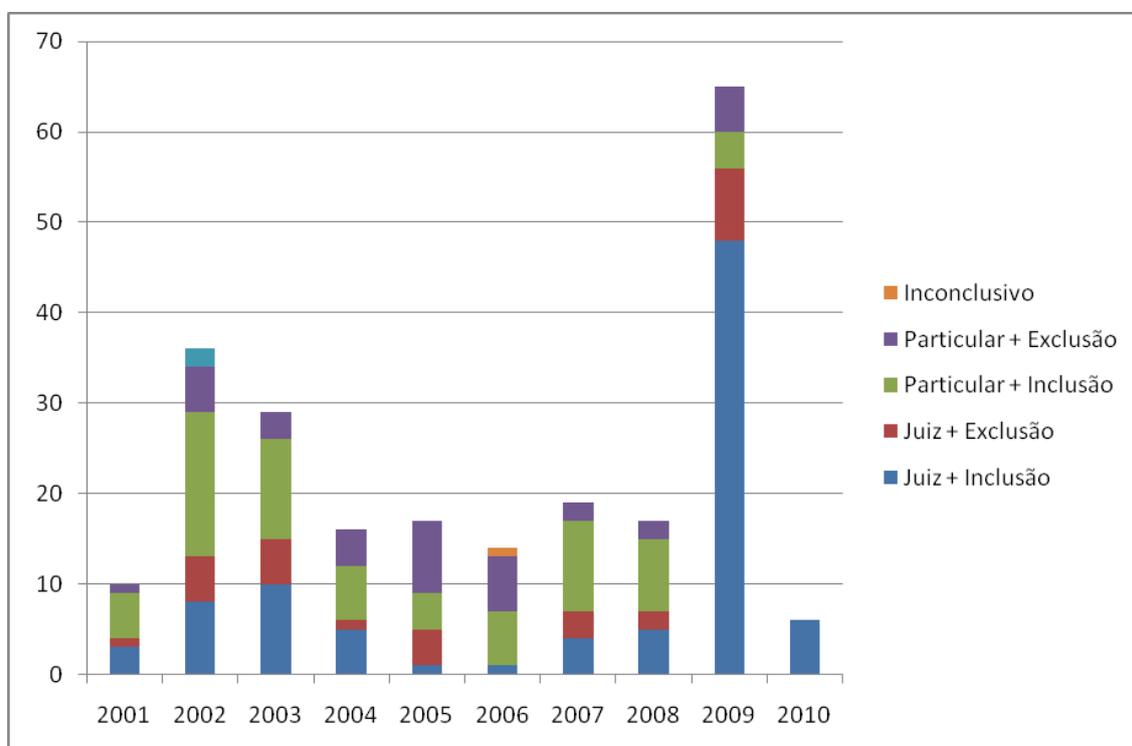


A metodologia e os reagentes utilizados obedecem aos padrões consensuais na área internacional de Identificação Humana e permite distintas possibilidades técnicas para a determinação de paternidade, utilizando análises de 16 STRs autossômicos mais amelogenina para identificação do sexo por meio de *kits* comerciais. Sempre que necessário, as regiões 12 Y-STRs, 10 X-STRs e do DNA mitocondrial são também analisadas para complementação do laudo pericial.

## RESULTADOS

Desde o início das atividades do laboratório no ano de 2001, este realiza perícias para determinação do vínculo genético e auxilia em perícias criminais em parceria com o Instituto de Criminalística de São Paulo.

Os laudos emitidos das perícias de investigação de paternidade podem apresentar resultados de inclusão ou exclusão. A Figura 1 apresenta os dados da relação anual dos laudos de perícias de investigação de paternidade, emitidos desde o ano de 2001, tendo como resultados de exames: inclusão de paternidade, exclusão de paternidade ou resultado inconclusivo.



**Figura 1.** Relação anual de laudos de perícias de investigação de paternidade, emitidos desde o ano de 2001 até o ano presente.

O resultado de um exame de investigação de paternidade pode ser inconclusivo quando se tratar de uma reconstrução dos perfis alélicos do suposto pai, existindo poucos parentes presentes para as análises, ou quando o número de pessoas analisadas e seu grau de parentesco com a pessoa a ter seu perfil genético reconstruído não possibilitou a emissão de um resultado mais robusto.

Os exames de investigação de paternidade são solicitados por via judicial ou particular, conforme apresentado na Figura 2. Nos exames particulares, os interessados em solucionar o caso de paternidade procuram diretamente o Laboratório para agendar o exame, enquanto aqueles, por via judicial, passam por um processo jurídico na Defensoria Pública e o juiz responsável pelo caso elege o Laboratório para a realização do exame.

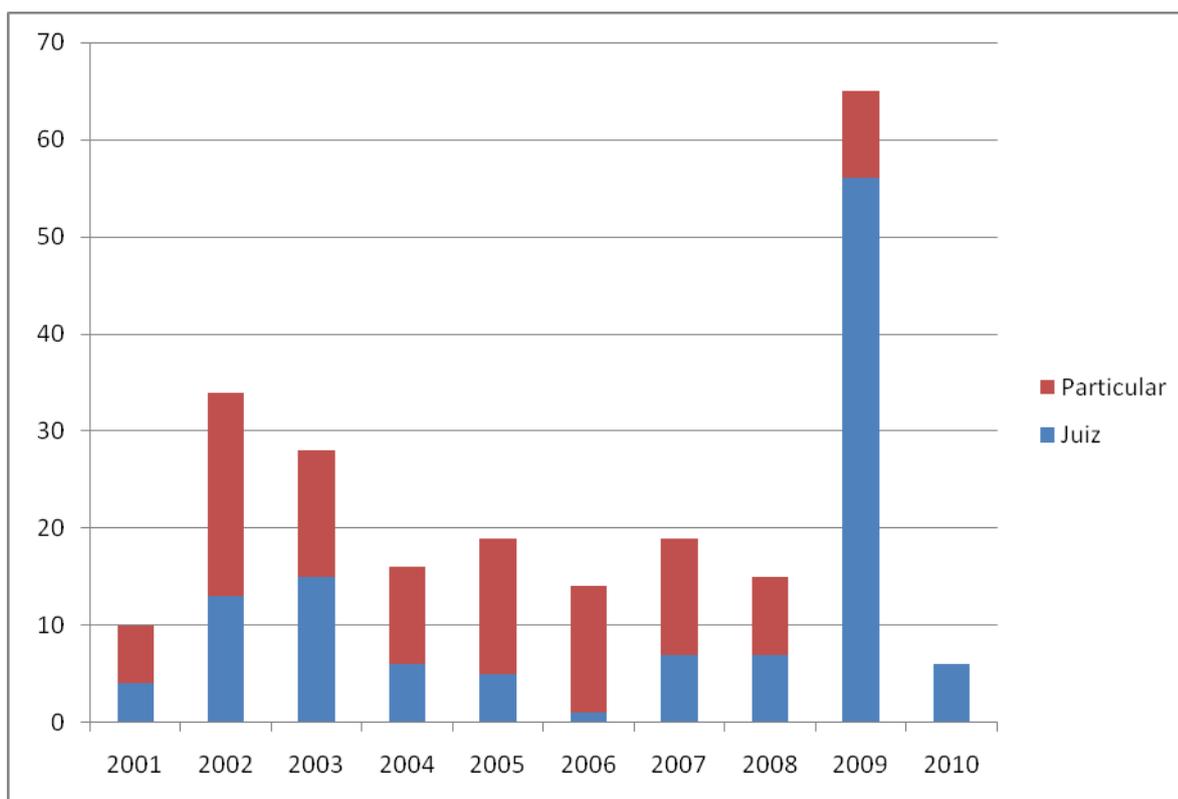
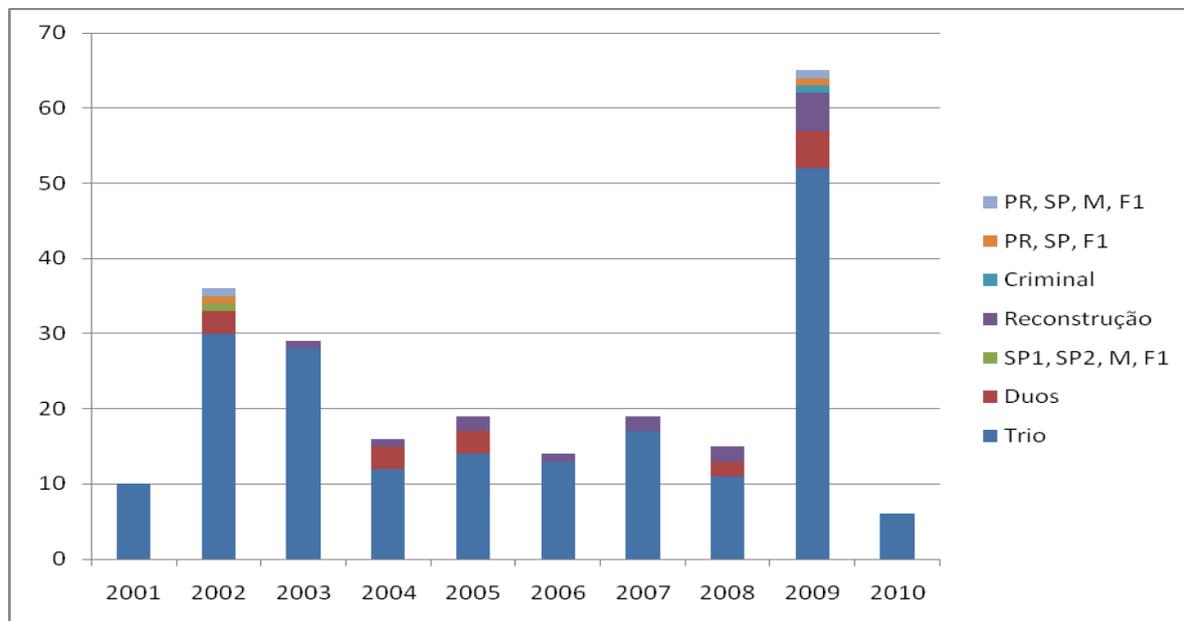


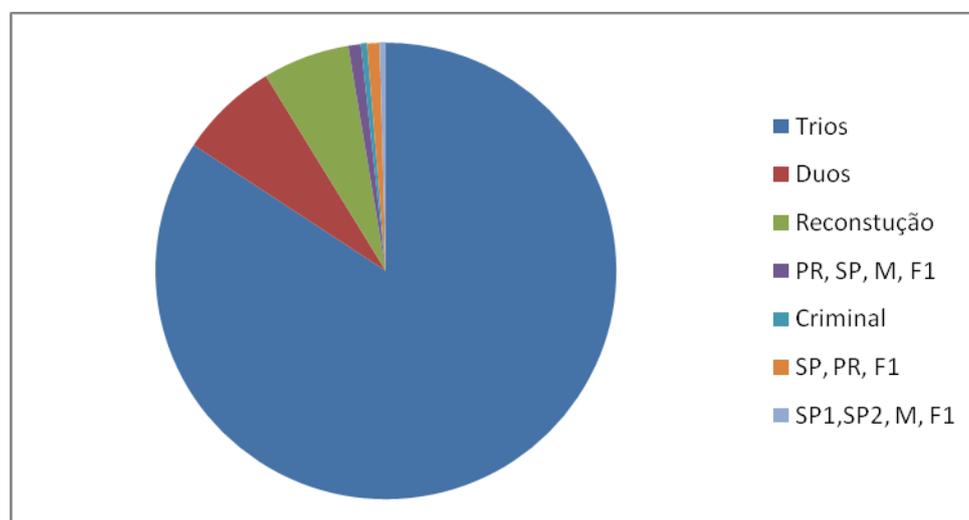
Figura 2. Relação anual de laudos: judiciais x particulares

O Laboratório realiza perícias a partir de trios (amostras biológicas da mãe, da criança e do suposto pai), “duos” (suposto pai e criança), reconstrução (suposto pai ausente com amostras de familiares deste e dos outros envolvidos) e outros casos com características particulares, conforme apresentado nas Figuras 3 e 4.



**Figura 3.** Relação anual de tipos de exames

SP = suposto pai; M = mãe biológica; F1 = filho/a questionado/a; PR = pai de registro.



**Figura 4.** Tipos de exames realizados pelo Laboratório de Investigação de Paternidade.

Além da realização de perícias de investigação de paternidade, a equipe do Laboratório de Investigação de Paternidade, desde o início de suas atividades, vem desenvolvendo pesquisas científicas na área de identificação humana e genética de populações; até o momento, foram publicados 10 artigos em revistas internacionais indexadas e apresentados trabalhos em 06 congressos internacionais e 23 em nacionais.

A equipe do laboratório recebeu o Prêmio Carlos R. J. Chagas, por dois anos consecutivos. Também recebeu menção honrosa em Congressos de Extensão Universitária da UNESP.

## DISCUSSÃO

O trabalho realizado pelo laboratório, tanto na área de pesquisa como na de extensão universitária, tem sido bastante relevante e tem agilizado o andamento de processos judiciais que, muitas vezes, se encontram sem nenhum resultado definitivo há vários anos, esclarecendo os reais vínculos biológicos, um direito constitucional de todo cidadão brasileiro. Ao lado disso, vem agregando conhecimento científico à área de Genética Forense, ainda muito incipiente no Brasil, formando profissionais altamente qualificados e estimulando o desenvolvimento dessa área no país.

Realiza atualmente pesquisas relacionadas aos cromossomos X e Y, DNA mitocondrial e Farmacogenética forense, esta última visando uma futura aplicação em casos de morte súbita sem causas exteriores aparentes.

A participação do Laboratório em exercícios de controle de qualidade do GEP-ISFG (*Grupo de Habla Española y Portuguesa – International Society for Forensic Genetic*) tem contribuído muito para agregar valor a esse tipo de prestação de serviços à comunidade, bem como tem contribuído para o ensino e desenvolvimento científico da equipe.

## CONCLUSÕES

O Laboratório de Investigação de Paternidade – FCFAr-UNESP – realiza um trabalho de transferência de tecnologia na análise de DNA com finalidade de identificação humana, associando desenvolvimento científico na resolução de casos forenses, publicações sobre o tema e, principalmente, possibilitando que a população de renda mais baixa também possa ter acesso a exames dessa natureza por preço justo.

## REFERÊNCIAS

[ANJOS, M. J. et al.](#) Individual genetic identification of biological samples: a case of an aircraft accident. **Forensic Sci.Int.**, v. 146, p. 115-117, 2004.

[CALABREZ, M. C. T.](#) **Influência do calor na análise de DNA extraído de sangue e tecidos humanos:** importância para a identificação de corpos carbonizados. 1999. 92 f. Tese (Doutorado em Ciências – Medicina Legal) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

[FRANÇA, G. V.](#) Antropologia médico-legal. In: \_\_\_\_\_. **Medicina legal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Kogan, 2001. cap. 3, p. 32-63.



[HOLLAND, M. M. et al.](#) Development of a quality, high throughput DNA analysis procedure for skeletal samples to assist with the identification of victims from the World Trade Center attacks. **Croat. Med. J.**, Zagreb, v. 44, p. 264-272, 2003.

[HOLLAND, M. M.; FISHER, D. L.; MITCHELL, L. G.](#) Mitochondrial DNA sequence analysis of human skeletal remains: identification of remains from the Vietnam war. **J. Forensic Sci.**, v. 38, n. 3, p. 542-53, 1993.

[IMAZUMI, K. et al.](#) DNA typing of bone specimens-the potential use of the profiler test as a tool for bone identification. **Legal Medicine**, v. 2, p. 31-41, 2005.

[JORDE, L. B.; WATKINS, W. S.; BAMSHAD, M. J.](#) Population genomics: a bridge from evolutionary history to genetic medicine. **Human Mol. Genetics**, v. 10, n. 20, p. 2199-2207, 2001.

[LUTZ, S. et al.](#) Is it possible to differentiate mtDNA by means of HVIII in samples that cannot be distinguished by sequencing the HVI and HVII regions? **Forensic Sci. Int.**, v. 113, p. 97-101, 2000.

[MARTINS, J. A.](#) **Estudo de frequências alélicas de STRs do cromossomo X na população brasileira de Araraquara – SP.** 2008. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

[MOLLER, A.; BRINKMANN, B.](#) PCR-VNTRs (PCR-variable number of tandem repeats) in forensic science. **Cell. Mol. Biol.**, v. 41, n. 5, p. 715-724, 1995.

[MULLIS, K. B.; FALOONA, F. A.](#) Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerasecatalyzed chain reaction. **Methods Enzymol.**, v. 155, p. 335-350, 1987.

[PANETO, G. G.](#) **Utilização do DNA mitocondrial no contexto forense brasileiro.** 2006. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

[PANETO, G. G. et al.](#) Heteroplasmy in Hair: Study of Mitochondrial DNA Third Hypervariable Region in Hair and Blood Samples. **J. Forensic Sci.**, v. 55, n. 3. p. 715-718, 2010.

[SALAS, A.; LAREU, M. V.; CARRACEDO, A.](#) Heteroplasmy in mtDNA and the weight of evidence in forensic mtDNA analysis: a case report. **Int. J. Legal Med.**, v. 114, p. 186-190, 2001.

[SUBRAMANIAN, S.; MISHRA, R. K.; SINGH, L.](#) Genome-wide analysis of microsatellite repeats in humans: their abundance and density in specific genomic regions. **Genome Biology**, v. 4, p. 13, 2003.

[SWEET, D.](#) Why a dentist for identification?. **Dent. Clin. North Am.**, v. 45, n. 2, p. 237-251, 2001.

[SZIBOR, R. et al.](#) Use of X-linked markers for forensic purposes. **Int. J. Legal Med.**, v. 117, p. 67-74, 2003.

[WEEDN, V. W.; SWARNEN, S. L.](#) Exames forenses de identificação por análises do DNA. In: HENRY, J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 19. ed. São Paulo: Manole, 1998. cap. 63, p. 1427-1438.