

UNIT- UNIVERSIDADE TIRADENTES

CURSO DE BIOMEDICINA

LISYANDRO JOSÉ FRANCISCO TRINDADE ROCHA

LUIS ARMANDO CAMPOS DE ANDRADE

**UTILIZAÇÃO DO BANCO DE DADOS DE PERFIS
GENÉTICOS PARA A RESOLUÇÃO DOS CASOS CRIMINAIS
E IDENTIFICAÇÃO HUMANA DO ESTADO DE ALAGOAS**

MACEIÓ/AL

2015

LISYANDRO JOSÉ FRANCISCO TRINDADE ROCHA

LUIS ARMANDO CAMPOS DE ANDRADE

**UTILIZAÇÃO DO BANCO DE DADOS DE PERFIS
GENÉTICOS PARA A RESOLUÇÃO DOS CASOS CRIMINAIS
E IDENTIFICAÇÃO HUMANA DO ESTADO DE ALAGOAS**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado para
obtenção do Grau de Bacharel no Curso de
Biomedicina da Universidade Tiradentes, UNIT.

Orientador: Prof Dr. Vítor de Góes Lima Dantas

Co-orientador: Prof. MSc. Gustavo Reis Branco

MACEIÓ/AL

2015

LISYANDRO JOSÉ FRANCISCO TRINDADE ROCHA

LUIS ARMANDO CAMPOS DE ANDRADE

**UTILIZAÇÃO DO BANCO DE DADOS DE PERFIS GENÉTICOS PARA A
RESOLUÇÃO DOS CASOS CRIMINAIS E IDENTIFICAÇÃO HUMANA DO
ESTADO DE ALAGOAS**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela
Banca Examinadora para obtenção do Grau de
Bacharel, no Curso de Biomedicina da
Universidade Tiradentes, UNIT, com linha de
pesquisa em Genética.

Data de defesa: 12 de Junho de 2015.

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Vítor de Góes Lima Dantas
Universidade Tiradentes
Orientador

Prof. MSc. Luiz Alberto da Silva Barros
Universidade Tiradentes
Professor Avaliador

Prof. MSc. Wendell Alexandre Pinheiro de Almeida
Universidade Tiradentes
Professor Avaliador

Aos nossos pais e a todos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para elaboração e conclusão desse trabalho e ao professor Luíz Antônio e a equipe do Lab. de DNA forense.

AGRADECIMENTOS

“Celebramos a Cristo aquele que em nós venceu! E com sua luz dissipou a escuridão em nós, tempestades não podem abalar a fé de quem no Senhor encontra proteção.” Com isso, gostaríamos primeiramente de agradecer a Deus pelo dom da vida que nos é concedido todos os dias, celebrar o nosso sim, que por meio desse trabalho nos configura Biomédicos graduados.

Agradecer a uma imensidão de pessoas que compartilharam conosco nossas lutas, vivenciando em tudo nosso caminho: nossos PAIS e FAMILIARES, em especial: Edlucé F. T. Rocha, Gilda Maria de Campos (in memória), Gláucia Campos Pinto, Thomas Hugo, Thallys Ítalo Campos de Andrade, Maria Ducarmo Santos pela real presença em nossas vidas, mostrando todos os dias o melhor caminho a seguir. A vocês nossa eterna gratidão! Somos aquilo que nos ensinaram!

Aos nossos AMIGOS: Larissa Amanda de Lima Macedo, Natanael Costa, Liane Lima, Maria Aline, Jesus Ferreira, Alian Alves, Everton Soares, Daniel Fontes, Aiala Alves, Alice Albuquerque, Amanda Gaspar, Nathalya Holanda, Kellya Pereira, Dandara Bezerril, Ismar Júnior, Romullo Junior, Leandro Ítalo, Thiago Xavier, pelas vezes que vocês foram para nós uma terra santa que acolheu as nossas misérias e transformou em vida.

Aos nossos MESTRES do Centro Universitário Tiradentes – UNIT pelos ensinamentos práticos/teóricos que levaremos para a nossa vida profissional. Em especial, gostaríamos de agradecer a três pessoas que muito mais que professores, são amigos que conseguimos conquistar ao longo da nossa vida acadêmica: Benísio Ferreira, Gustavo Reis e Moézio Vasconcelos.

Ao nosso ORIENTADOR: Vítor de Góes Lima Dantas pela disponibilidade em contribuir para a nossa formação, orientando-nos de forma precisa e cuidadosa mesmo em pouco tempo.

Aos nossos COLEGAS DE TURMA pelo tempo em que passamos juntos como acadêmicos, sendo por meio destes elevados a profissionais da saúde. A todos os FUNCIONÁRIOS DA UNIT por ter colaborado com nossa formação! Por fim... podemos hoje celebrar a vida, a vitória de Deus em nós que se concretiza numa amizade sincera, pura, que nasceu pautada no respeito, na lealdade, no cuidado, na atenção, desde os primeiros dias de aula. Agradecemos a Deus por que somos AMIGOS-IRMÃOS e por chegarmos até o fim!

Muito Obrigado!

"A vida é uma simples questão de química. "

James Watson

RESUMO

A Genética Forense é a ciência que trata da utilização dos conhecimentos e das técnicas de genética e de biologia molecular no auxílio à justiça. Tais técnicas nos permitem identificar pessoas pela análise de suas moléculas de DNA. Damos início com o estudo da estrutura do DNA e sua forma de transmissão da herança genética de geração para geração. Em seguida trata da detecção de polimorfismo presente nessa molécula formadores da obtenção de padrões genéticos indivíduo-específicos que vem sendo empregado na identificação de suspeitos em casos de crimes sexuais, identificação humana, em testes de paternidade e no estabelecimento de vínculos entre suspeitos e cenas de crimes. Abordamos também as técnicas de coleta de amostras biológicas e a preocupação para garantir a cadeia de custódia, assegurando uma finalidade legal e ética dentro dos padrões das leis brasileiras. São também apresentados os aspectos laboratoriais e quantitativos, como extração, método de amplificação por PCR e eletroforese capilar. Destacamos os aspectos metodológicos da genética forense na identificação de indivíduos e na resolução de casos criminais no estado de Alagoas. Para isso, foram utilizados dados secundários, extraídos do arquivo do laboratório de DNA Forense da Universidade Federal de Alagoas, destacando os casos criminais efetivados durante o período de contrato com o governo estadual. Diante dos casos analisados, destacamos que existem uma grande quantidade de cadáveres sem amostras de referência, que pudesse ser comparado ao seu perfil para fins de identificação sendo necessário ser adicionado ao Banco de Dados de Pessoas Desaparecidas- BDPD. Assim, concluímos por meio destas análises, que se faz necessário a utilização deste banco de dados como ferramenta de armazenamento de informações genéticas afim de ser possível a comparação de perfis, em eventualidades posteriores, tornando a elucidação de crimes no estado de Alagoas mais ágil.

Palavras-chave: Genética, Forense, Banco de Dados de Pessoas Desaparecidas, Criminalidade.

ABSTRACT

Forensic Genetics is the science that deals with the use of the knowledge and techniques of molecular biology and genetics in aid to justice. Such techniques allow us to identify people by analyzing their DNA molecules. We start with the study of the structure of DNA and its form of transmission of the genetic heritage from generation to generation. Then comes the detection of polymorphism present in this molecule trainers of obtaining individual-specific genetic patterns that has been employed in the identification of suspects in cases of sexual crimes, the human identification in paternity tests and establishing links between suspects and crime scenes. We discussed also the techniques of collecting biological samples and the concern to ensure the chain of custody, ensuring a legal and ethical purpose within the standards of the Brazilian law. We also present laboratory and quantitative aspects, such as extraction, PCR amplification method and capillary electrophoresis. We highlight the methodological aspects of forensic genetics in identifying individuals and in the resolution of criminal cases in the State of Alagoas. For this, we used secondary data, extracted from the DNA lab Forensic file at the Federal University of Alagoas, highlighting criminal cases handled during the period of the contract with the State Government. Before the cases analyzed, we point out that there are a lot of dead bodies without reference samples, which could be compared to your profile for identification purposes and must be added to the database of missing persons-BDPD. Thus, we conclude through these analyses, it is necessary to use this database as a tool for genetic information storage in order to be possible the comparison of profiles in contingencies, making the elucidation of crimes in the State of Alagoas more agile.

Keywords: Genetics, forensics, missing persons database, crime.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BD - Banco de Dados

BDPD - Banco de Dados de Pessoas Desaparecidas

CPFor - Centro de Pesquisa Forense

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

DNTPS - Desoxiribonucleotídeo trifosfato

IML - Instituto Médico Legal

RNA - Ácido Ribonucleico

UFAL - Universidade Federal de Alagoas

CODIS – Sistema de Índice de DNA Combinado

STRs - *Short Tandem Repeats*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS.....	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
3.1 Ciência Forense	13
3.1.1 O DNA: Informações Gerais	14
3.1.2 Genética Forense	23
3.1.3 Aplicação do DNA na Genética Forense	24
3.1.4 Marcadores Moleculares	26
3.2 Genética Forense no Estado de Alagoas	30
3.3 As técnicas utilizadas	31
3.3.1 Extração de DNA.....	31
3.3.2 Extração de DNA com CHELEX 100.....	31
3.3.3 Extração Orgânica (Fenol/Clorofórmio).....	31
3.3.4 Reação em cadeia da Polimerase – PCR	32
3.3.5 Método de Sequenciamento.....	35
3.4 Banco de Dados	36
3.4.1 Banco de Dados de DNA de pessoas desaparecidas do Estado de Alagoas	38
3.4.1.1 Passo a passo do BDPD.....	39
3.4.1.2 Comparação do DNA no BDPD	41
4 METODOLOGIA	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

1 INTRODUÇÃO

A descoberta da estrutura tridimensional do DNA, causou sérios avanços no campo científico, possibilitando ao homem, “tocar” a estrutura que fundamenta toda a nossa existência, determinando e quantificando bilhares pares de base que formam um emaranhado de informações que nos individualizam como seres únicos. Segundo Watson, “A vida é uma simples questão de química! ”. Com isso, percebemos a importância dos estudos genéticos para a sociedade atual. Com uma incrível sensibilidade e um alto poder de discriminação, a análise de DNA tem sido uma poderosa ferramenta para a identificação humana e investigações criminais. (WATSON & CRICK, 1953)

A utilização do DNA como instrumento de investigação e prova é uma realidade nos laboratórios oficiais do Brasil. Contudo, os exames são realizados apenas quando se tem amostras suspeitas e amostras de referências para comparação. A determinação da identidade genética pelo DNA pode ser usada para diversos fins, entre eles, a culpabilidade dos criminosos, exonerar os inocentes, identificar corpos e restos humanos em catástrofes, evidenciar a paternidade com confiabilidade praticamente absoluta. (PENA, 2005).

A problemática do desaparecimento de pessoas, é um assunto muito delicado. No Brasil, não é possível calcular em níveis exatos a quantidade de pessoas desaparecidas, por não possuímos uma fonte confiável. No ano de 2003, a ONG movimento Nacional dos direitos humanos, com o auxílio do ministério da Justiça, nos apontou uma média de 200.000 mil pessoas por ano. (desaparecidosdobrasil.org, 2014)

A investigação de crimes, e comparação de perfis genéticos em um passado não muito distante, era realizado por meio de técnicas como: análise da arcada dentária, impressões digitais, entre outras técnicas forenses. No entanto, nem sempre isso era possível devido ao estado de putrefação dos corpos. Graças ao avanço da informática aplicada a ciência, foi possível desenvolver um banco de dados em parceria com o laboratório de DNA Forense da Universidade Federal de Alagoas para armazenar, gerenciar e comparar informações genéticas entre restos mortais e possíveis familiares, de modo que resulte no grau de parentesco entre os DNA comparados. (MICKLOS, David A. et. Al 2005)

Com a tecnologia a favor da identificação criminal, a criação de banco de dados de perfis genéticos, tornou-se realidade corriqueira, e o sucesso de seu uso nos países desenvolvidos, aumentou as expectativas quanto a solução de casos, principalmente criminais, que antes eram dados como irresolúveis. No entanto, o tema em estudo, levanta vários discursos em diversos

âmbitos sociais, inclusive o direito penal, assegurando o princípio da não autoincriminação proposto pela legislação brasileira. (Plano Mais Brasil PPA 2012-2015)

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar como a Genética Forense é utilizada no estado de Alagoas para a identificação de indivíduos e na resolução dos casos criminais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evidenciar a contribuição da Genética Forense na resolução dos casos criminais que foram enviados ao Laboratório de DNA Forense da UFAL.

Demonstrar a importância do Banco de Dados no Estado de Alagoas para a solução de casos criminais e os benefícios para a sociedade.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Ciência Forense

O termo “forense” é apresentado em diversos dicionários da língua portuguesa como sendo um termo relativo à justiça relacionado imediatamente a tentativa de resolução de crimes. Entende-se por ciência forense uma área interdisciplinar. Um conjunto de áreas que atuam a fim de atender às causas de aspecto judicial, podendo ser aplicada tanto em situações criminais quanto em cíveis. Há então que se referir que tal ciência não é única, existindo dentro dela, subdivisões que especificam as diversas áreas de atuação em favor da elucidação de crimes. São elas: Medicina Forense, Química Forense, Física Forense, Odontologia Forense, Psicologia Forense, Genética forense, Criminalística Forense, entre outras. (PENA, 2005)

3.1.1 O DNA: Informações Gerais

O ácido desoxirribonucleico (DNA) é a molécula que armazena toda a informação genética dos seres vivos. Nela existem todas as informações cruciais da vida, determinando assim as características fenotípicas dos indivíduos, portanto sendo considerado como a pedra angular da existência humana. É um polímero de alto peso molecular composto por pequenas unidades básicas de nucleotídeos, tendo como estrutura molecular uma dupla fita mantida unida por pontes de hidrogênio. A descoberta da sua estrutura marcou um período de grande evolução da história da ciência, desde os primeiros estudos propostos por Gregor Mendel, passando pelas entrelinhas das teorias de Darwin, contribuindo assim para o desenvolvimento e melhoramento de organismos vivos e, no entendimento dos processos biológicos como um todo. (WIEMANN S, 2001)

Grande parte da química básica do DNA já havia sido determinada por Miescher, Kossel, Levene, Chargaf e outros, que haviam estabelecido que o DNA consistia em nucleotídeos e que cada um continha um açúcar (desoxirribose), uma base nitrogenada (Adenina, Timina, Guanina e Citosina) e um grupamento fosfato, dando uma configuração eletrônica negativa a molécula. (PIERCE, BENJAMIN. p, 265) (Figura 01)

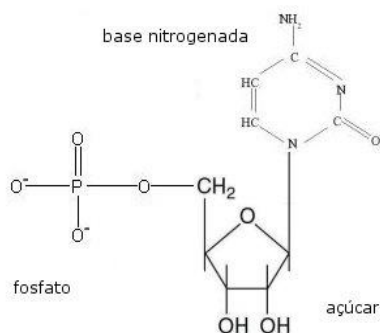


Figura 1: Representação esquemática do nucleotídeo, proposto por PIERCE, BENJAMIN, p. 266. Fonte disponível em: QUÍMICA, NOVA ESCOLA 2007

A estrutura dos nucleotídeos são as mesmas (grupamento fosfato e desoxirribose), para os diferentes compostos, diferindo apenas na base nitrogenada ligada ao açúcar. Para tal, existem quatro configurações químicas, sendo, portanto, diferenciadas pela sua estrutura molecular. Adenina e Guanina, são compostas por um anel pirimidínico fundido a um anel imidazólico, sendo assim denominadas de púricas, e Timina e Citosina que são moléculas

menores, formadas por um único anel de carbono e nitrogênio de fórmula molecular $C_4H_4N_2$. (WATSON & CRICK, 1953). (Figura 2)

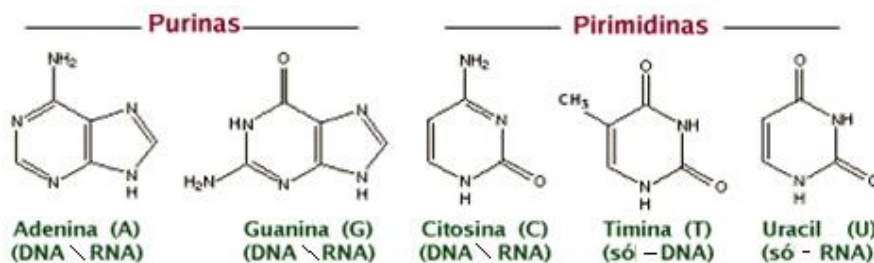


Figura 2: Representação esquemática das bases nitrogenadas do DNA. Com exceção da Uracila, base esta que se encontra apenas no RNA e difere-se da Timina por um grupamento metil associado ao carbono 2. Fonte disponível em: Blog de Desenvolvimento de material didático para o ensino de ciências biológicas em meio digital – UFPI. <http://www.bioblogkarolla.blogspot.com/2010/10/sintese-de-proteinas.html>.

A combinação do código genético, estruturado pelos Nucleotídeos (G, T, A, C), determinam a estrutura helicoidal do DNA, pois existe entre os compostos químicos, atrações moleculares que possibilitam a interação química em uma mesma fita e em fitas opostas. Para unir a dupla fita, os nucleotídeos são ligados entre si por meio de uma ligação covalente denominada Pontes de Hidrogênio. Essa, é caracterizada por meio do compartilhamento de pares de elétrons entre o hidrogênio (H) e o oxigênio (O), nitrogênio (N) ou flúor (F), sendo apresentada como uma estrutura dipolo-dipolo. (SARDELA, 2010) (Figura 3)

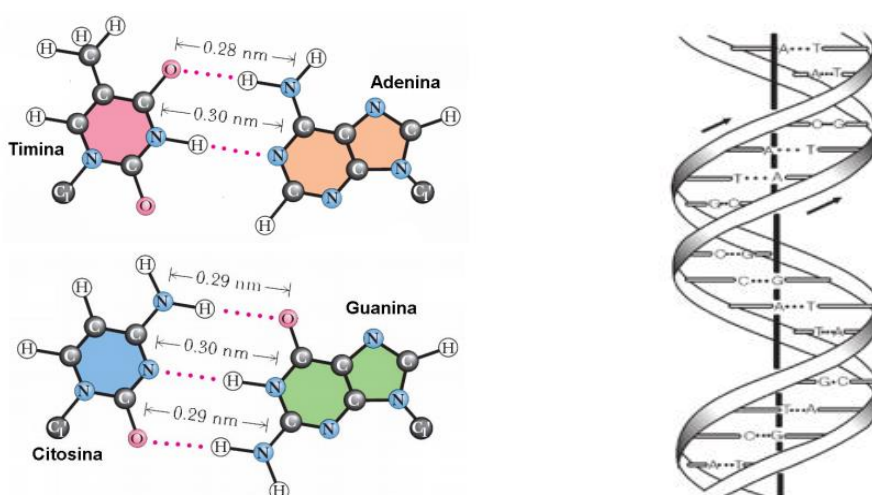


Figura 3: Representação esquemática das ligações de pontes de hidrogênio unido a dupla fita de DNA. Os nucleotídeos Timina e Adenina são unidos por duas ligações de hidrogênio. Citosina e Guanina, por três pontes de hidrogênio. Apresentando ainda a estrutura helicoidal da molécula. Fonte disponível em: <http://www.qnint.s bq.org.br>

Em uma mesma fita do DNA, os nucleotídeos são ligados por meio de uma ligação covalente denominada: fosfodiéster. O grupo hidroxila do carbono-3 da pentose do primeiro nucleotídeo se liga ao grupo fosfato ligado a hidroxila do carbono-5 da pentose do segundo nucleotídeo. (REIS, MARTA, p.127, 2010) (Figura 4)

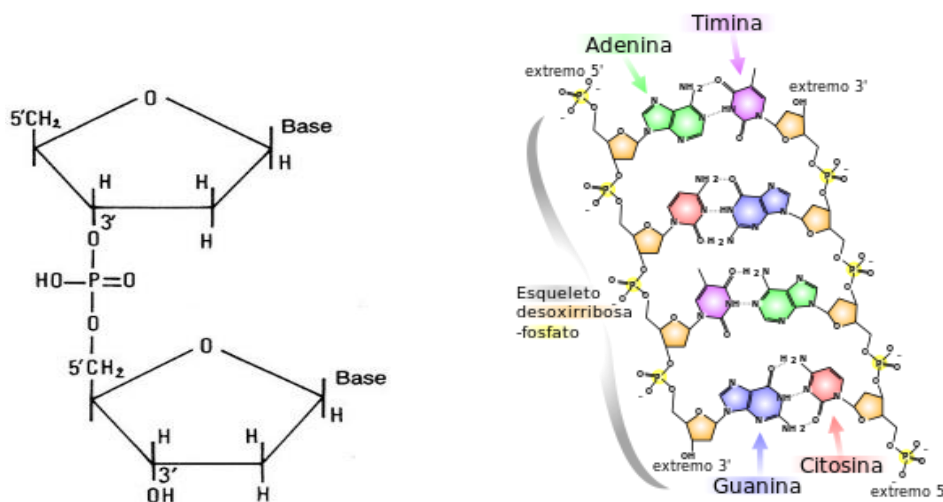


Figura 4: Representação esquemática da ligação fosfodiéster ocasionada em uma única fita do DNA, formando pontes de fosfato. E estrutura antiparalela da molécula. Fonte disponível em: QUIMICA, NOVA ESCOLA 2007

Devido a esta formação, a cadeia de DNA fica com uma direção determinada. Em uma extremidade temos livre a hidroxila do carbono-5 da primeira pentose e na outra temos livre a hidroxila do carbono-3 da última pentose, determinando que o crescimento do DNA se faça na direção de 5' para 3'. Ainda com base nestes estudos, na dupla hélice as duas fitas são em direção opostas, significando que são anti-paralelas. O termo anti-paralelismo, deve-se ao fato de que uma das fitas tem a direção exata da sua síntese (5'---3') enquanto que a outra está invertida (3'---5'). (SNUSTAD, D. Peter pag. 199)

Tendo como base os estudos propostos pela química, Watson e Crick foram capazes de limitar o número de estruturas possíveis que o DNA podia assumir. Para isso, utilizaram conceitos científicos propostos por Erwin Chargaf que em sua pesquisa, investigou a composição do DNA de diversos organismos e concluiu que a composição de bases varia entre as espécies. Mas que amostras isoladas de diferentes tecidos da mesma espécie têm a mesma composição de bases (A, C, T e G). Ele também pôde observar que a composição de bases numa dada espécie não muda com a idade do organismo, estado nutricional ou mudanças ambientais. Sua observação mais importante, porém, talvez tenha sido de que em todos os

DNAs celulares, não importa qual a espécie, o número de bases Adenina é igual ao de Timina ($A = T$) e o de Guanina é igual ao de Citosina ($G = C$). (QUÍMICA, NOVA ESCOLA 2003) (Tabela 1)

Organismo	Tecido	Adenina	Timina	Guanina	Citosina
E. coli (K12)	—	26,0	23,9	24,9	25,2
D. pneumoniae	—	29,8	31,6	20,5	18,0
M. tuberculosis	—	15,1	14,6	34,9	35,4
Levedura	—	31,3	32,9	18,7	17,1
P. lividus (ouriço do mar)	esperma	32,8	32,1	17,7	18,4
Arenque	esperma	27,8	27,5	22,2	22,6
Rato	tutano de osso	28,6	28,4	21,4	21,5
Humano	timo	30,9	29,4	19,9	19,8
Humano	fígado	30,3	30,3	19,5	19,9
Humano	esperma	30,7	31,2	19,3	18,8

*Por 100 mols de fostato na forma hidrolisada do DNA.

Tabela 1: Quantidades de matéria em mol das bases em DNA de diferentes fontes. Fonte acessível em: [Química Nova na Escola, n.17, 2003](#)

Nestes tempos de estudo, a física quântica estava em alta e os trabalhos com elementos radioativos estavam ganhando espaço no campo científico. Assim, por meio da técnica de irradiação com feixes de raio-x, sob finíssimas lâminas de DNA, feito por Rosalind Elsie Frankilin, foi possível descobrir duas formas diferentes de apresentação da molécula, as quais denominou de A e B (Figura 5). A forma A, facilmente fotografada, correspondia as fibras desidratadas, enquanto a forma B correspondia a fibras molhadas. Apesar de mais difícil de registrar com os raios X, a forma B mostrava um padrão compatível com uma hélice. Uma vez que a água poderia ser atraída pelos grupos fosfato da estrutura molecular, e este poderia ser facilmente hidratado e desidratado. Ela sugeriu que os fosfatos se localizavam no exterior da hélice e as bases nitrogenadas (A, C, G e T) estariam voltadas para o interior. Por meio destas conclusões e com base nas discursões científicas de diversos companheiros das mesmas áreas e áreas afins, foi possível no ano de 1953, ser apresentado a estrutura tridimensional da molécula que fundamenta toda a nossa existência. (WATSON & CRICK, 1953)

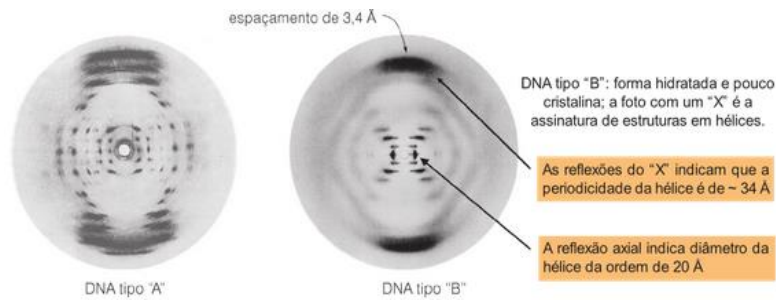


Figura 5: Representação da imagem de difração de raio-x, proposta por Rosalind Franklin com base em feixes de raio-x sob finas lâminas de DNA. Fonte disponível em: SBQ <http://www.qnint.sbq.org.br>

“Queremos sugerir uma estrutura para o sal de ácido desoxirribonucleico. Essa estrutura possui novas características que despertam um interesse biológico considerável”. (ARY, 2004). Com essas palavras, James Watson e Francis Crick impulsionaram a comunidade científica a voltar os olhos para uma pequena publicação na revista inglesa *Nature* de 25 de abril de 1953 que trazia o título- *A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid*- com um texto de no máximo 1.000 palavras e 6 citações bibliográficas. Watson e Crick apresentaram ao mundo um desenho simples da dupla hélice do DNA. Tal publicação foi considerada a descoberta mais importante no campo da biologia, ficando apenas para trás do livro de Darwin (1859) e de Mendel (1866), rendendo-lhes o prêmio Nobel de Medicina em 1962. Durante o decorrer do texto, fazem menção de agradecimento ao Dr. Jerry Donouhe, Rosalind Franklin e a Maurice Wilks pelas orientações e contribuições experimentais. (ARY, 2004). (Figura 6)

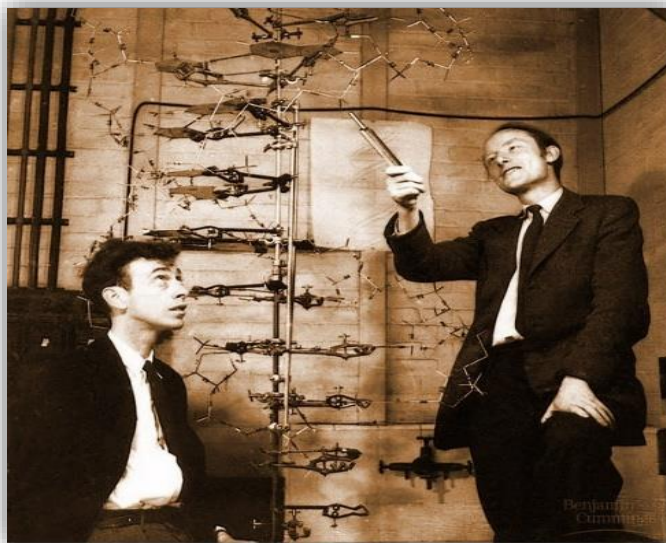




Figura 6: Representação do modelo de arame construído por Watson e Crick para demonstração da estrutura tridimensional do DNA e artigo de publicação na revista Nature. Fonte: Imagem do portal uol educação. *Dupla hélice do DNA*. Disponível em: <http://www.educacao.uol.com.br/biologia/dupla-helice-do-dna.jntm>.

A pesquisa feita por esses cientistas não possuía atividades estatísticas como o trabalho de Mendel ou observações próprias como Darwin. Foram baseadas em estudos realizados por outros cientistas que serviram de base para a construção do modelo de arame e metal, com ângulos e dimensões em escala interatômicos de um segmento de DNA. Tal ideia para a construção desse modelo surgiu por meio do trabalho de Linus Pauling que nessa época havia desvendado a estrutura helicoidal das proteínas. Assim, no dia 25 de Abril de 1953, o mundo e a comunidade científica conheceram a tão esperada estrutura molecular que contribuiria de forma significativa para o avanço científico. (WATSON & CRICK, 1953).

Imaginemos uma escada em formato de caracol onde as bases funcionavam como degraus. A distância entre as cadeias é de 20 Angström, e a estrutura se repete a cada 10 pares de nucleotídeos, cada um com 34 Angström (um Angström equivale a 0,1 nm). (MASTERS, BA 2010) (Figura 7)

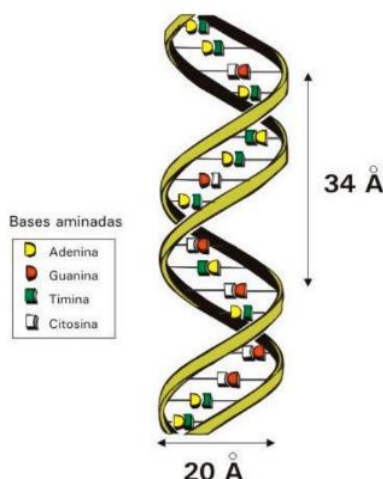


Figura 7: Representação esquemática da estrutura tridimensional do DNA. Fonte disponível em: [Química Nova na Escola, n.17, 2003](#)

Após a revelação da estrutura, muitas foram as pesquisas desenvolvidas por meio desta tão singular molécula. O DNA está presente no núcleo da célula e armazena toda a informação genética. Por meio de um processo denominado de transcrição, determinados fragmentos especificam a síntese de RNA por intermédio da enzima RNA polimerase. O ácido ribonucleico é um polímero linear composto de cadeia de unidades ribose ligados por intermédios de grupamentos fosfodiéster, e tem como função a síntese proteica. Pode ainda constituir o genoma de alguns vírus. O tal ácido nucleico, especifica a síntese de aminoácidos e polipeptídios que formarão as proteínas, pelo processo denominado de tradução que ocorre nos ribossomos, nas mitocôndrias e nos cloroplastos. (BEARD & ARMENTROUT, 1967; SRINIVASAN & YATHINDRA, 1977) (Figura 8)

Assim, as variantes de um gene em um determinado locus são denominados alelos. Diferentes alelos produzem variações nas características individuais, como por exemplo a cor do cabelo ou tipo sanguíneo (NHGRI, 2008).

A replicação do DNA é a grande responsável pela transmissão das características genéticas de geração para geração, pois, todo o genoma é copiado por meio de enzimas específicas denominadas DNA polimerase. No início do processo a dupla fitas são separadas pelo rompimento das ligações de hidrogênio pelo processo de desnaturação, que ocorre *in vivo* em pH alcalino, numa faixa acima de 7. Para a replicação acontecer é necessária uma fita molde que será recriada por meio de pareamento de pares de base a uma fita complementar da molécula existente, pela presença de um oligonucleotídeo iniciador ou *primer*- pequenos fragmentos de DNA simples - desoxinucleotídeos trifosfatados (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), que serão incorporados a fita duplicada (MARMUR & DOTY, 1959). (Figura 10). Tal processo é a base para a amplificação *in vitro* em uma das técnicas da biologia molecular denominada de Reação em Cadeia da Polimerase - PCR.

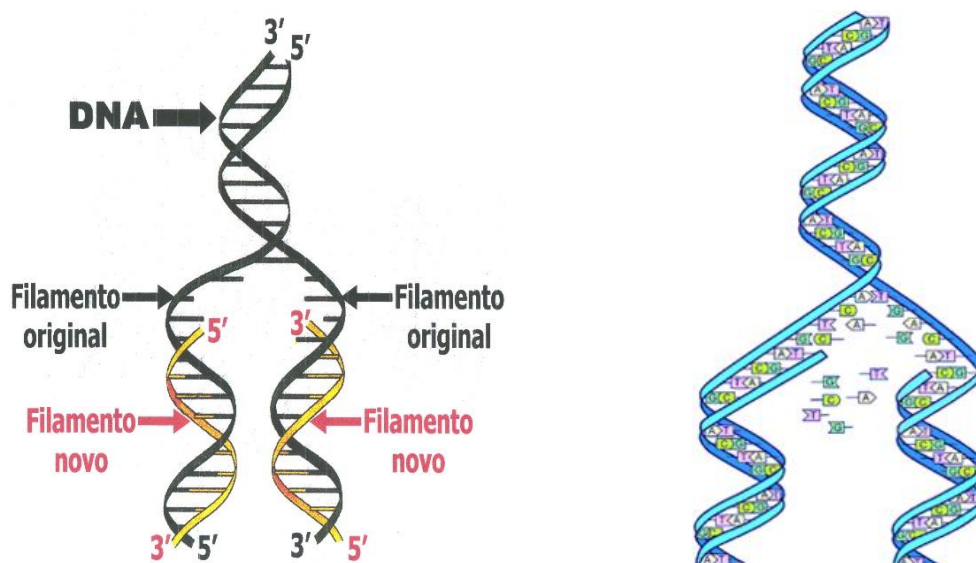


Figura 10: Representação esquemática da replicação do DNA. Posição 5' – 3' das fitas do DNA. E incorporamento das dntps da nova fita duplicada. Fonte: J.M.Butle (2005)*Forensic DNA Typing*.2ª Edição.

3.1.2 Genética Forense

A mais ou menos 3.000 anos, nos foi apresentada a história de um rei que se pôs à frente de uma situação ameaçadora: duas mulheres que brigavam pela maternidade de uma criança. O Rei Salomão propôs cortar a criança ao meio para dividir em partes iguais, deixando satisfeitas ambas as partes. Tal atitude estimularia a verdadeira mãe a abrir mão da causa, deixando vivo seu filho, mesmo que em outras mãos que não a dela. O coração de mãe falaria mais alto. Ficamos imaginando como seria se naquela época existisse toda a tecnologia de identificação humana que temos nos dias de hoje. Temos a certeza de que apenas um exame de DNA resolveria aquele grande impasse e toda a discursão seria reduzida. (BÍBLIA NOVA JERUSALÉM I REIS 3:25)

Tal situação apresentada acima pode ser explicada dentro de uma das áreas da criminalística: a Genética Forense. Sendo denominada como uma área que se utiliza das técnicas da biologia molecular, por meio da análise do DNA para elucidação de crimes. Trata-se de uma área de investigação científica e se dedica a três tipos principais de testes: extração de DNA, amplificação pela PCR e análise/leitura dos perfis genéticos obtidos. (J.M. Butle (2005) *Forensic DNA Typing*. 2ª Edição.)

A identificação humana pelo estudo do DNA é amplamente utilizada em casos de caracterização de vínculo genético familiar, seja em processos cíveis, como exclusão ou não de paternidade, ou em processos criminais. (PENA, 2005)

O conjunto de sequências do material genético de um organismo é denominado Genoma. O genoma humano nuclear é composto de 25 a 30 mil genes e possui, cerca de 3 164 700 000 pares de base de informação, que é organizado em 23 pares de cromossomos. Sendo 22 autossômicos e 1 par sexado. É caracterizado por 1,5% a 2% de DNA codificante de proteínas, sendo que 46% do total é constituído de sequências de DNA repetitivas. (WIEMANN, 2001; SZYMASKY, 2005).

Em 1990, vários laboratórios uniram-se em um projeto para decodificar o genoma humano inteiro, onde no mesmo estimava-se que o genoma humano possuía mais de 80.000 genes. O Projeto Genoma Humano como ficou conhecido, foi concluído no ano de 2003, com cerca de 99% de sequenciamento com uma precisão de 99,99%. (WILLIAM GOODWIN & *et al.*, 2007)

“É um livro de história - a narrativa da viagem das nossas espécies através do tempo. É um manual de compras, com um projeto incrivelmente detalhado para a construção de cada célula humana. E é um livro transformativo da medicina, com ideias que proporcionarão aos prestadores de cuidados de saúde imensos novos poderes para tratar, prevenir e curar doenças” (Francis Collins, 2001).

O objetivo da Genética forense atual é identificar regiões específicas do DNA humano, que individualizem os indivíduos. Isso foi possível, graças ao sequenciamento completo dos pares de base do Genoma Humano. Analisando qualquer região dentro dos 3,2 bilhões de pares de base. Isso permite que as evidências biológicas da cena do crime correspondam a um indivíduo com um elevado nível de confiança, provas forenses poderosas. (PENA, 2005)

Crimes, criminalidade, elucidação, estatísticas de homicídios, casos sexuais, impunidade, paternidade, identificação de corpos e restos mortais em desastres, são palavras comuns nos dias atuais. Trata-se de uma rotina social, que os jornais e noticiários comunicam aos brasileiros todos os dias aumentando o medo e a angústia por viverem em uma sociedade onde o criminoso não paga por seus atos e a impunidade reina, sendo por diversas vezes alegada a falta de provas materiais que confirmem ou descartem a autoria do suspeito em eventuais episódios.

“A sociedade atual é pautada pela técnica, pelo progresso científico e pelo risco. Esses três elementos, quando analisados conjuntamente, criam uma situação interessante: a técnica, quando utilizada em prol do progresso científico, ao mesmo tempo em que pode servir como um fator de diminuição dos riscos pode ser justamente o fator de aumento desses riscos. E isso se torna mais evidente quando a técnica é utilizada em questões envolvendo o DNA humano.” (RAMOS, Ana virgínia, 2014).

Partindo do ponto de vista social, a determinação de perfis genéticos pelo DNA constitui um dos produtos mais revolucionários da moderna genética molecular aplicada. Em menos de 20 anos ela tornou-se uma ferramenta indispensável em investigação criminal (PENA, 2005). É justamente aí aonde a genética forense vem atuar, disponibilizando recursos e técnicas que fundamentem cientificamente provas por meio do material genético.

Segundo Butler (2005), os testes de DNA para identificação humana podem ser utilizados para: casos forenses, teste de paternidade ou caracterização de vínculo genético familiar, desastres em massa, investigações históricas, investigações de pessoas desaparecidas, identificação de militares, Banco de DNA de criminosos ou de evidências biológicas.

A genética forense teve seu impulso, quando Alec Jeffrey em Junho de 1985 publicou na revista Nature uma invenção que revolucionaria a ciência como um todo. Tal técnica era pautada em estudos simultâneos de múltiplas regiões do DNA com ‘lanternas químicas’ denominadas sondas multilocais. (PENA, 2010).

“Tais sondas eram capazes de reconhecer simultaneamente um grande número de minissatélites muito variáveis no DNA. O resultado era um padrão de bandas absolutamente individuais, similar a um código de barras, que ele chamou de ‘impressões digitais de DNA’, em analogia às dos polegares.” (PENA, 2010)

A partir da técnica proposta por Jeffrey, foi possível a determinação e comparação de perfis genéticos de duas ou mais pessoas afirmando com certeza superior a 99,9999% a paternidade de uma criança por exemplo, ou confirmando ou descartando a presença de algum suspeito em inquéritos criminais (FIGUEIREDO, ANDRÉ et al., 2012).

Tal exame começou a ser utilizado no Brasil em 12 de Junho de 1988 pelo Laboratório de Genética Médica de Minas Gerais, possuindo uma adesão muito forte por parte dos brasileiros, pois, segundo dados do IBGE, em 1988 30% das crianças nascidas no País não tinham paternidade declarada. A chegada desse método ao Brasil foi considerada o marco principal no ano de 1988. À frente inclusive da promulgação da nova Constituição brasileira no mesmo ano. (PENA, 2010)

3.1.3 Aplicação do DNA na Genética Forense

Muitos são os relatos dos benefícios científicos ocasionados pelo advento da tecnologia de análise do DNA. Por meio dele, pode-se acusar ou inocentar pessoas que estejam respondendo a inquéritos criminais.

A primeira vez que um exame de DNA serviu como prova foi no caso de duas jovens inglesas, Lynda Mann e Dawn Ashworth, que foram assaltadas, violentadas sexualmente e assassinadas na década de 1980. Como as características dos crimes eram as mesmas, a polícia suspeitou que tivesse sido o mesmo homem a cometer os crimes. Com objetivo de solucionar o caso, mais de 3.600 homens na vila de *Narborough*, em *Leicestershire*, Inglaterra, foram convocados a fazerem exames de DNA e comparar os resultados com os da amostra de sêmen coletada das vítimas. Um ano mais tarde um empregado de uma padaria pediu a um colega que doasse sangue em seu lugar. Sabendo disso, por intermédio de um informante que trabalhava no mesmo estabelecimento, a polícia procurou e prendeu o homem que não queria doar sangue. Este, posteriormente, confessou a autoria dos crimes e sua ligação com as evidências coletadas das vítimas foi confirmada pelos exames de DNA. A técnica, a partir de então se disseminou por todo o mundo, chegando ao Brasil rapidamente no final da década de 1980. (CHEMELLO, 2007).

Tal exame analisa regiões específicas dentro do genoma humano, por meio de marcadores moleculares. O FBI/CODIS preconiza no mínimo 13 marcadores moleculares, dando uma certeza estatística aceitável pelos tribunais (SILVA & PASSOS, 2006).

3.1.4 Marcadores Moleculares

As pessoas possuem sequências de DNA específicas, as quais diferenciam um ser do outro geneticamente. Assim, com o objetivo de reconhecer tais regiões, denominadas “locos”, onde ocorrem variações, foi desenvolvida a técnica de RFLP- *do inglês Restriction Fragment Length Polymorphism*, ou ‘Poliformismo de Comprimento de Fragmento de Restrição’. (CHEMELLO, 2007)

“A diferença entre cada ser vivo está na variabilidade do DNA humano, sendo que se esta variação genética possuir frequência acima de 1% em determinada população ela é denominada de polimorfismo, e mutação abaixo deste valor (BEIGUELMAN, 2006).”

Tal técnica é utilizada com o objetivo de ‘cortar’ por meio de enzimas de restrição, determinadas partes do DNA onde ocorrem repetições de sequência de nucleotídeos. São denominadas endonucleases. Uma das primeiras enzimas de restrição isolada foi a *EcoRI*, produzida pela bactéria *Escherichia coli*.

O local do corte é conhecido como sítio ativo. Elas reconhecem e atuam sobre sequências específicas de DNA, catalisando a ligação fosfodiéster entre dois nucleotídeos ligados. Cada molécula pode ser composta de várias repetições da sequência *GAATTC* ao longo de toda a sua extensão. Ao usar uma enzima de restrição que identifique tal sequência, a mesma irá clivar em diversos lugares gerando fragmentos de tamanhos diferentes que são separados posteriormente por eletroforese. A separação de moléculas por meio da técnica de eletroforese em gel se baseia na diferença de um campo elétrico que atrai o DNA do polo negativo da cuba para o polo positivo da mesma, levando em consideração a carga nuclear do DNA ser negativa devido à presença do grupamento fosfato. (SILVA & PASSOS, 2006).

A mobilidade de moléculas em um campo elétrico de determinada intensidade depende do tamanho e da forma destas, além de suas cargas elétricas. Um meio, formado por gel do polissacarídeo agarose, conhecido como ágar-ágar, permite a passagem dos pedaços de DNA ‘cortados’. Os fragmentos menores podem migrar através do gel mais rapidamente que os fragmentos maiores, devido ao seu peso molecular. A velocidade de migração de fragmentos linear através da agarose é inversamente proporcional a $\log^{10}$ de seus pesos moleculares. (CHEMELLO, 2007).

Após a eletroforese em gel, os fragmentos de DNA normalmente são corados com brometo de etídeo. Em outros casos utilizamos técnicas de coloração como: *sybersafe* e o gelred. Esses corantes possuem afinidade pela molécula que fluorecem em contato com a luz ultravioleta. Dessa forma pode-se localizar as bandas que correspondem ao DNA. (Figura 11)

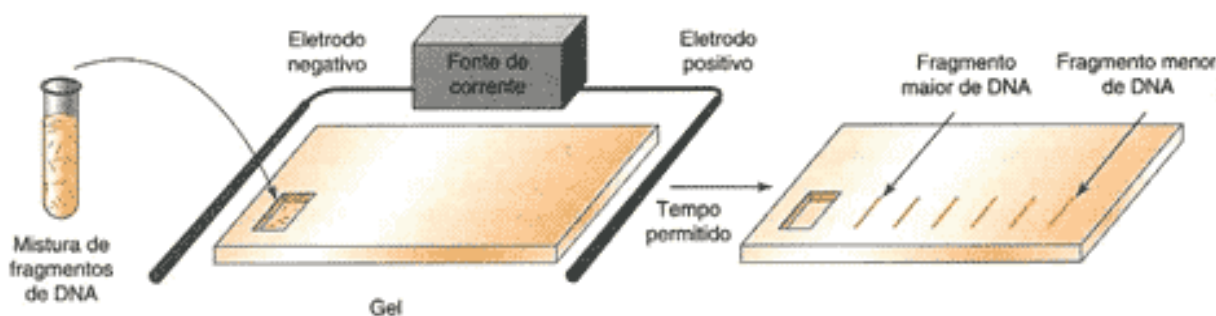


Figura 11: Representação esquemática do processo de eletroforese em gel de agarose. Fonte: www.sobiologia.com.br

O estudo dos diversos polimorfismos de microsatélites é o método mais utilizado nos dias atuais para análises do DNA. Os locos mais variáveis do genoma humano são os minissatélites. (PENA e JEFFREYS, 1993). Os polimorfismos de comprimento de sequência única (*Single Sequence Length Polymorphism – SSLP*) englobam os VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*) ou repetições consecutivas de números variável também denominados de minissatélites, como também os STR (*Short Tandem Repeats*) ou repetições consecutivas curtas ou ainda microsatélites (JEFFREYS *et al.*, 1985). O que difere os minissatélites dos microsatélites é o tamanho da sequência que se repete, sendo os microsatélites constituídos por 2 a 9 pares de bases e os minissatélites, de 10 a 64 pares de bases (BUTLER, 2005). (Figura 12)

ESTRUTURA DOS MICROSATÉLITES

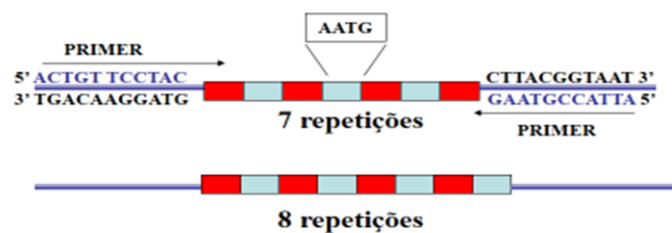


Figura 12: representação esquemática da estrutura dos microsatélites. Sequências de repetições de pares de base.
Fonte: www.snbq.com.br/geneticamolecular

Para análise do perfil genético dos seres humanos, o FBI/CODIS selecionou 13 marcadores moleculares do tipo STRS que se tornaram referências para o mundo todo, segundo SUN *et al*, 2003 . São eles: CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, vWA, D3S1358, D5S858, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51 e D21S11. (BUDOWLE & MORETTI, 1999). (Figura 13)

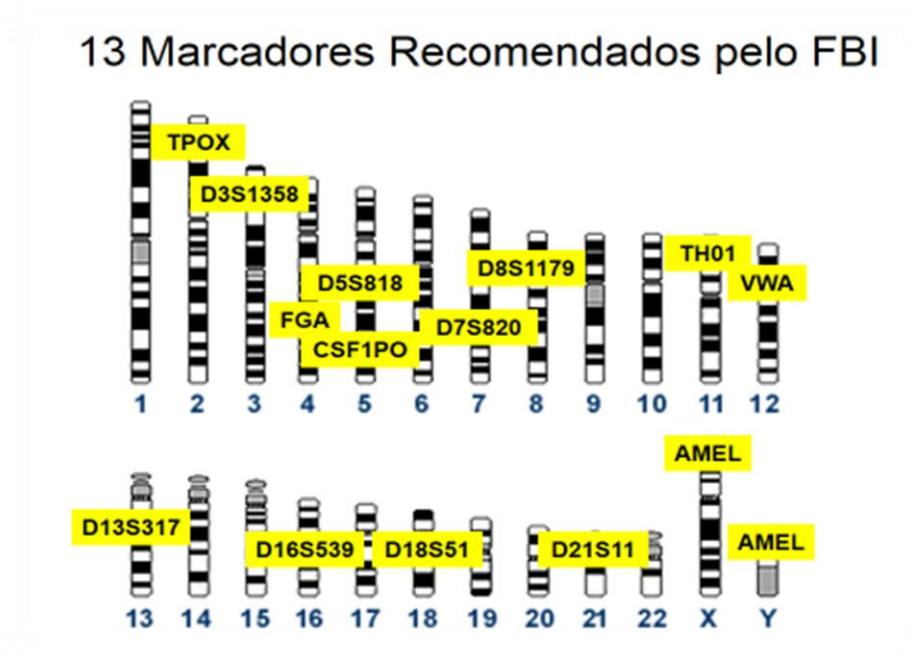


Figura 13: Representação dos marcadores preconizados pelo FBI para exames de identificação humana. Fonte: www.snbq.com.br/geneticamolecular

Deste modo é realizada uma separação dos marcadores moleculares em: autossômicos, ligados ao X e ligados ao Y. (Figura 14)

MARCADORES STR UTILIZADOS EM DNA FORENSE

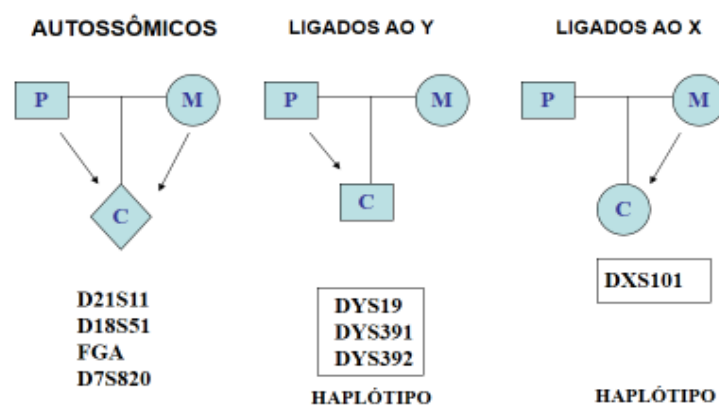


Figura 14: Representação dos marcadores moleculares utilizados para determinação dos perfis genéticos, separados em função da sua utilização. Fonte: sbq.com.br

3.2 Genética Forense no Estado de Alagoas

O estado de Alagoas é desprovido de tecnologia pública para elucidação de crimes. Segundo dados estatísticos, disponíveis no site (g1.com.br/Globonews, 2014), nosso estado é o mais violento no Brasil e o quinto maior no mundo, aumentando cada vez mais a quantidade de crimes e assustando a população que anseia por segurança. Não é preciso ir muito longe para os cidadãos alagoanos receberem um “banho de sangue” todas as vezes que assistem aos noticiários locais. Falar sobre crimes, pessoas desaparecidas, homicídios, estupros, entre tantos outros casos de violência desperta no íntimo de todo ser humano, um pedido de justiça. Um desejo por fazer cumprir o que está escrito em nossa constituição federal, no artigo 5º que nos assegura os direitos fundamentais, entre eles a segurança. O código penal proposto pela Legislação brasileira indica que todos devem pagar pelos seus crimes. Mas, a sociedade é “barrada” quanto ao pedido de justiça ao deparar-se com a falta de prova material que por muitas vezes devolve o criminoso a sociedade, livre para refazer seus atos ilícitos. Tal falta de prova, é causada pelas más condições e de estrutura de um laboratório de criminalística onde os peritos criminais do nosso estado possam trabalhar e levar a julgamento os criminosos por meio de técnicas científicas. Além de desvendar e devolver a tantas famílias os corpos desconhecidos de seus familiares e assim, que eles possam ser sepultados de forma digna.

Atualmente, o IML e o CPFor do estado de Alagoas, contam com recursos financeiros doados pelo Governo Federal guardados em caixas na própria sede, sendo ameaçado de devolução por não possuir um espaço físico para a construção de um laboratório que atenderia a demanda de crimes nas áreas de: Química forense, DNA forense, Toxicologia forense entre outras. Dessa forma, no ano de 2012, foi estabelecida uma parceria com o laboratório de DNA forense da UFAL, dirigido pelo Prof. Dr. Luiz Antônio Ferreira da Silva. Tal laboratório foi implantado na UFAL há quase duas décadas, e tendo conquistado referência nacional nas áreas civil e criminal. Está totalmente equipado para a realização de suas atividades e seu raio de atuação tem extrapolado o Estado de Alagoas, sendo palco de formação para peritos criminais de todo o Brasil devido a uma parceria com a SENASP (Secretaria Nacional de Segurança Pública).

3.3 As técnicas utilizadas

3.3.1 Extração de DNA

Atualmente existem vários métodos disponíveis para a extração de DNA. A escolha de qual método de utilização depende de uma série de fatores, incluindo o tipo de amostra e sua quantidade, a velocidade e, em alguns casos, a capacidade de automatizar o processo de extração (GOODWIN, William & *et al.*, 2007).

Como base da extração, temos a quebra celular, seguido da degeneração de algumas proteínas celulares e posteriormente, a precipitação do DNA com sua final diluição. Existem diversos métodos para obtenção do mesmo, no entanto, neste trabalho destacaremos apenas as técnicas de extração mais utilizadas pelo laboratório de DNA Forense da UFAL: a extração orgânica que é a mais tradicional, empregando-se proteinase K para lise celular e fenol clorofórmio para a precipitação das proteínas e a extração pela resina Chelex. Cada uma delas possui suas indicações, vantagens e desvantagens (BORNACOSO, 2005).

3.3.2 Extração de DNA com CHELEX 100

Foi um dos primeiros métodos de extração a ser utilizado pela comunidade forense. O Chelex R 100 trata-se de uma microresina composta de estireno-divinilbenzeno copolímeros contendo íons emparelhados. Tal resina possui uma afinidade muito alta para íons de metal polivalente, tal como o magnésio (Mg^{2+}) está afinidade é importante pois com a quelação destes íons ocorre a inibição de enzimas que degradariam o DNA (GOODWIN, William & *et al.*, 2007).

3.3.3 Extração Orgânica (Fenol/Clorofórmio)

Tal método de extração foi lentamente eliminado pela comunidade científica desde meados de 1990 devido a natureza tóxica do fenol. Os fenóis são compostos orgânicos que contêm o grupo funcional Hidroxila (-OH) ligado diretamente à um carbono de anel aromático.

São ácidos, em razão do hidrogênio ionizável ligado ao oxigênio. Ele ainda é utilizado em alguns laboratórios forenses, em particular, ainda é amplamente utilizado para a extração de DNA de amostras de ossos, dentes e solos (SARDELA 2010).

Envolve a adição de muitos produtos químicos. Como o dodecilsulfato de sódio (SDS) e proteinase K que são adicionados para romper a proteção primária da célula e para quebrar as proteínas das moléculas de DNA, respectivamente, enquanto estão nos cromossomos. Em seguida é adicionado a mistura fenol/clorofórmio para separar as proteínas do DNA. Já que é mais solúvel na porção aquosa da mistura orgânica-aquosa. Quando centrifugado, as proteínas não desejadas e detritos celulares são separados longe da fase aquosa e as moléculas podem ser transferidas de forma limpa para análise.

3.3.4 Reação em cadeia da Polimerase – PCR

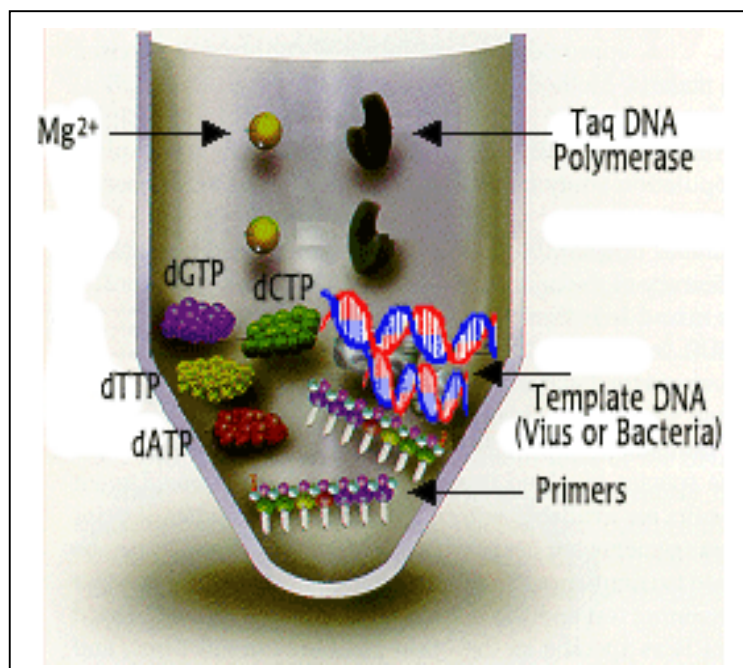
Em biologia Molecular, nos testes de exames de DNA, encontramos nas cenas de crimes, quantidades degradadas de amostra, bem como, quantidades que seriam insuficientes para determinação molecular. Graças a tecnologia da amplificação *in vitro*, hoje podemos multiplicar uma molécula de DNA em milhares. A técnica da PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foi desenvolvida por Kary Mullis nos anos 80 e lhe propiciou o prêmio Nobel de Química em 1994. Ela permite amplificar uma porção do DNA em milhões de cópias, a partir de uma pequena quantidade do DNA molde. (BUTLER, 2005).

Antes de tudo é necessário possuir o conhecimento da região do gene que se deseja amplificar. Em uma segunda etapa, são desenhados e sintetizados um par de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*), complementares às regiões da sequência a ser amplificada em cada fita do DNA, adicionado a um mix preparado sendo adicionado: o DNA molde, íons (Mg^{2+}), dntps livres, *primers* e a taq DNA polimerase. (Figura 16). O processo é composto de três etapas: desnaturação, hibridização (“anelamento”) e extensão, que juntas correspondem a um ciclo da reação. Normalmente são realizados de 25 a 35 ciclos para cada reação na qual a taxa de amplificação é exponencial, 2^n (JEFFREYS *et al.*, 1985)

A desnaturação ocorre quando a molécula de DNA é aquecida em uma temperatura compreendida entre 95° a 96°C, na qual as pontes de hidrogênio da dupla hélice se rompem, ocorrendo à separação das cadeias complementares. Os iniciadores se ligam especificamente às sequências de DNA complementares na etapa de anelamento, mediante uma temperatura entre

50°C à 60°C, a prevalência de ligação dos iniciadores ocorre pela sua alta concentração no meio da reação. (JEFFREYS *et al.*, 1985)

Na PCR, usamos uma enzima termoestável chamada Taq DNA polimerase. Sua função é direcionar o posicionamento dos precursores do DNA (dNTP), iniciando a síntese de novas fitas. A partir de um novo aumento de temperatura, a enzima DNA polimerase catalisa a reação, incorporando o nucleotídeo na posição terminal do iniciador, complementando a base da molécula molde, promovendo a extensão da fita. (SILVA & PASSOS, 2006) (Figura 15). No processo de reação, na PCR a DNA polimerase utilizada é a Taq DNA polimerase que é uma enzima proveniente da bactéria termófila *Thermus aquaticus*, uma extremófila encontrada em fontes hidrotermais, a Taq DNA polimerase suporta as elevadas temperaturas usadas em PCR, tendo uma meia-vida enzimática de 40min a 95°C. (JEFFREYS *et al.*, 1985)



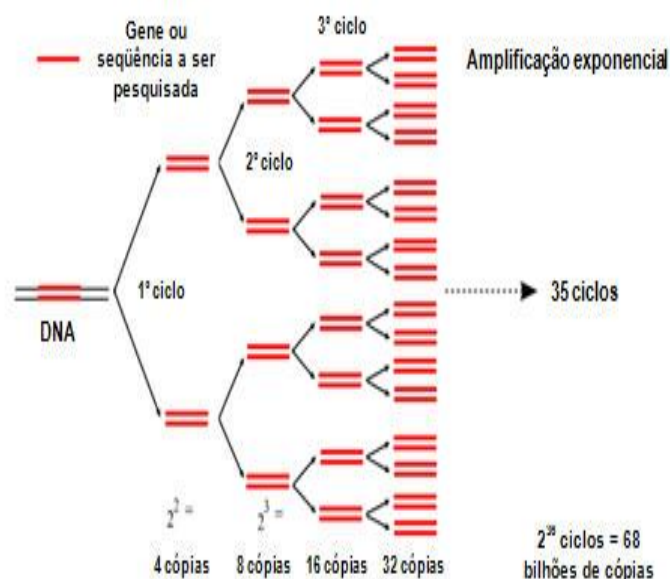


Figura 15: Representação esquemática do mix da PCR e produto da amplificação. Fonte: sbq.com.br

A PCR é realizada em aparelhos denominados termocicladores que controlam e variam a temperatura automaticamente para cada programa pré-estabelecido pelo pesquisador. (Figuras 16)



Figura 16: Esse processo é realizado no aparelho denominado termociclador, que executa alteração de temperatura. Fonte: sbq.com.br

3.3.5 Método de Sequenciamento

Até meados da década de 1970 não era nada simples obter uma sequência de DNA, fosse ele fita simples ou dupla. De fato, trabalhar com DNA era muito mais complicado do que com proteínas e o conhecimento sobre os ácidos nucléicos avançava de forma lenta.

A qualidade da amostra de PCR é um dos fatores mais críticos no sequenciamento. Sabemos que é muito importante que esteja limpa e livre de contaminantes. A qualidade de seu sequenciamento será diretamente proporcional à qualidade da PCR.

A eletroforese capilar é a mais recente técnica da família da eletroforese, a primeira separação de DNA com utilização desta técnica se deu no final de 1980, e ganhou popularização com a introdução de novos instrumentos para o desenvolvimento da técnica nos meados da década de 1990 (BUTLER, 2005). Para sua utilização, é de fundamental importância o conhecimento dos didesoxinucleotídeo trifosfato, ou ddNTP. Sabemos que trata-se de um precursor normal da síntese de DNA que apresenta uma hidroxila na posição 3'. É a partir desta hidroxila que a fita nascente é estendida. Um ddNTP, entretanto, não tem esta hidroxila. Logo, se for incorporado a uma fita, interrompe a incorporação de outros nucleotídeos a partir dele. Se o ddNTP for marcado associado à radiação ou fluorescência, a fita interrompida ficará radiativa ou fluorescente e poderá ser detectada mais facilmente. Portanto, as fitas terminadas em A, T, G ou C vão emitir cores diferentes quando excitadas com luz de um determinado comprimento (em geral, de um feixe laser). JEFFREYS *et al.*, 1985)

A fluorescência emitida pela passagem de uma banda pela janela de medição é registrada por um sistema de microcâmaras sensoras, que por sua vez transforma o sinal num gráfico, conhecido como eletroferograma. Os picos representam as bandas, e quanto mais altos e agudos mais qualidade têm, isto é, maior será a probabilidade de que a base registrada seja correta. (JEFFREYS *et al.*, 1985) (Figura 18)

É amplamente utilizada em análise de DNA forense, por permitir que grandes quantidades de amostras sejam analisadas de maneiras automatizada, além de precisar de poucas quantidades de amostra para o processo de injeção e podem ser facilmente reinjetadas, se necessário. Uma das vantagens da eletroforese capilar é que a separação eletroforética em capilar é realizada em menos de uma hora, se comparada com as muitas horas necessárias para àquela realizada em géis de poliacrilamida para identificação humana, além do tempo, a quantidade de passos para a preparação dos géis fazem com que possa haver uma chance maior de erro durante a manipulação; sua desvantagem está no custo inicial para a compra dos

equipamentos, sendo bem mais alta do que aqueles empregados em na eletroforese em gel de poliacrilamida. No entanto, a eletroforese capilar é a mais empregada nos laboratórios de DNA forense (BUTLER, 2005, CRISÒSTOMO 2011).

Atualmente, no laboratório de DNA Forense da UFAL, utiliza-se o método de sequenciamento por eletroforese capilar por fluorescência, com o auxílio do sequenciador ABI 310. (Figura 17)

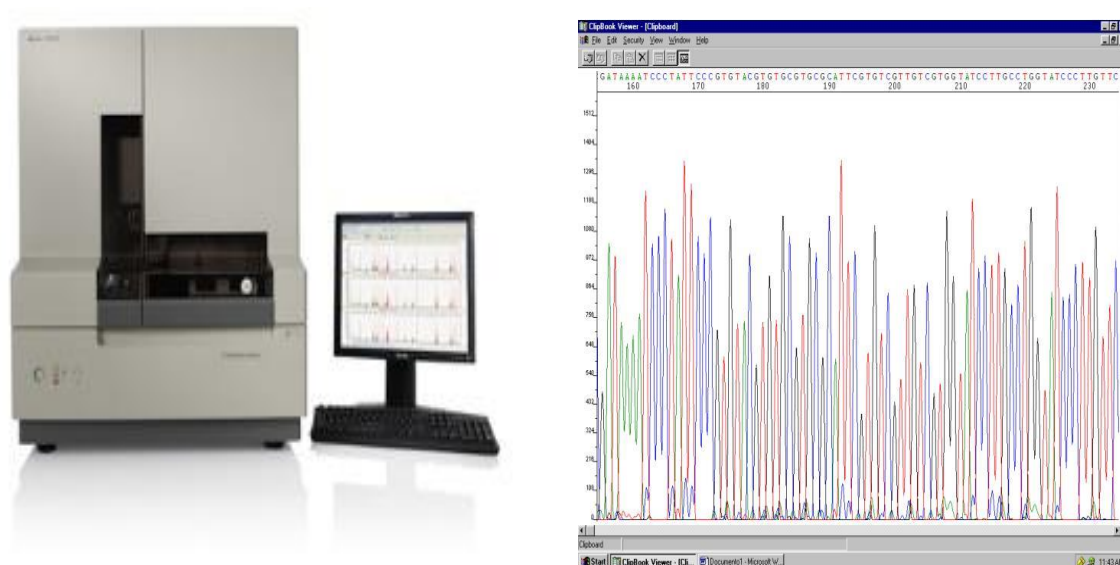


Figura 17: Representação esquemática do sequenciador ABI 310, e do produto do sequenciamento enviado para um comando computacional. Fonte: sbq.com.br

3.4 Banco de Dados

Um local no qual informações/dados são armazenadas de maneira estruturada. Acessível a vários usuários através de programas em uma rede eletrônica informatizada, onde o mesmo possa ter informações compartilhadas e consultas permitidas. (kioskea.net, 2014)

Tratando-se de um sistema onde possibilita que informações genéticas e não genéticas sejam centralizadas em um repositório de dados cadastrais de pessoas desaparecidas e/ou não identificadas e seus familiares. Assim como também de cadáveres e restos mortais não identificados. (PEREIRA, Wilkson Eldon Vilaça 2008)

O banco de dados de perfil genético nasce com o intuito de ajudar na resolução de casos mal e/ou não resolvidos. (RAMOS, Ana Virginia 2014) À medida que a identificação através da identidade genética pelo DNA tornou-se superior as demais técnicas disponíveis até os dias de hoje. Superando até a impressão digital. (PENA, 2005)

O surgimento dos bancos ocorreu em decorrência do amadurecimento e sofisticação das análises envolvidas da extração do DNA e do estabelecimento de uso padronizado do conjunto de locos de microssatélites e nas coletas de amostras biológicas em cenas de crimes. (PENA, 2005)

No mundo, existem vários BD de perfis genéticos. Porém o mais significativo e importante é o CODIS. Foi criado em 1990 como projeto piloto nos EUA pelo FBI (*‘Federal Bureau of investigation’*) com expressivo impulso com o *“DNA Identification Act”* de 1994. Tornando-se um banco de dados de perfis genéticos de criminosos condenados pela justiça e de informações encontradas em cenas de crimes. (PENA, 2005) Com a comparação entre os perfis genéticos em cenas de crimes com os das amostras já cadastradas nos BD, torna-se mais fácil, rápido e com menos custos localizar o autor de um crime. (SZCZERBICKI, 2011)

Já no Brasil em 2009, começou uns movimentos para a implantação de um BD de perfil genético, através de acordo firmado com o FBI usando um software CODIS já utilizado por outros países, muito semelhante ao CODIS dos EUA. (SZCZERBICKI, 2011). Porém, apenas em 2011 decorrente do Projeto de Lei 2458/11, de autoria do Senador Ciro Nogueira, foi que de fato o BD do Brasil foi analisado pela Câmara para a sua regulamentação e auxílio na investigação de crimes violentos. E que segundo o Senador Ciro Nogueira, o CODIS Nacional seria o mesmo que é utilizado nos EUA e em outros 30 países. (desaparecidosdobrasil.org, 2011)

Em 28 de maio de 2012, a Presidente Dilma Rousseff sancionou a Lei Ordinária Federal de nº 12.654, publicada no dia 29 de maio de 2012 no Diário oficial da União e entraria em vigor em três meses. Essa lei revoga a obrigatoriedade da coleta de perfil genético para fins de identificação criminal para condenados por crimes hediondos ou violentos e que a identificação dos mesmos será armazenada no BD em caráter sigiloso. Aquele que em qualquer momento promover ou permitir a divulgação dos dados para outros fins que não sejam aos que a lei relata, sofrerá punição civil, penal e administrativa. As regras do BD foram definidas em conjunto com o Ministério Público e organizações de Direitos Humanos. (g1.globo.com, 2012)

Aqui no Brasil o BD de referência é o do Instituto Geral de Perícias localizado em Porto Alegre e que usa o software CODIS, assim como outros 17 laboratórios. Funciona como laboratório-escola de treinamentos e cursos para peritos do Brasil todo. Com um único ressalvo

onde as informações do banco não são compartilhadas. Somente Polícia Federal é quem centraliza os cruzamentos dos dados do BD. (g1.globo.com, 2012)

3.4.1 Banco de Dados de DNA de pessoas desaparecidas do Estado de Alagoas

Foi desenvolvido como Trabalho de Conclusão de Curso de um aluno do Instituto de Ciências da Computação da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Wilkson Eldon Vilaça Pereira e inaugurado em 10/12/2007 com iniciativa do Laboratório de DNA Forense da UFAL, onde vinha sendo trabalhado há cerca de dez anos pelo coordenador e diretor do laboratório professor e geneticista Dr. Luiz Antônio Ferreira da Silva e sua equipe de colaboradores. Tendo como objetivo de ajudar no auxílio de localizar pessoas que sumiram e, na elucidação de crimes. Tornando-se assim, um importante instrumento para a Sociedade alagoana. Porém até a presente data não funciona 100% ao seu propósito.

Segundo o professor Dr. Luiz Antônio, o projeto não tem fins lucrativos e não teria dificuldade para ser implantado de forma eficiente. Na medida do surgimento da proposta do BD, um projeto piloto foi proposto para que o sistema fosse atualizado nacionalmente. As informações do BD ficariam acessíveis a todas as pessoas em qualquer lugar. Através de informações passadas pela família no momento do cadastro e a foto do desaparecido. Bastando apenas um acesso à internet.

Basicamente o BDPD consiste em um cliente-servidor, que seria a parte da central do BD que recebe as informações na hora do cadastro. Do sistema de terminais remotos para acessar o sistema central. E por último de um arquivo, no qual constará as informações genéticas obtidas com marcadores microssatélites autossômicos e ligados ao cromossomo Y. Para a devida utilização do BDPD, faz-se necessário seguir as leis brasileiras pertinentes ao segredo profissional, ao tratamento de informação confidencial e respeito aos direitos humanos. (PEREIRA, Wilkson Eldon Vilaça 2008)

Com relação aos familiares de pessoas mortas ou desaparecidas a participação fica sendo de forma voluntária, aonde a doação das amostras para estudo ocorrerá através da assinatura de um termo esclarecido de consentimento. Servindo apenas para o fim único de identificação humana. E a qualquer momento as informações doadas ao BD poderão ser retiradas. (PEREIRA, Wilkson Eldon Vilaça 2008)

3.4.1.1 Passo a passo do BDPD

Para o cadastro de informações é necessário um login com usuário e senha e senha de acesso. (Figura: 18)

Universidade Federal de Alagoas

BDPD GEN

LABORATÓRIO DE DNA FORENSE

BANCO DE DADOS DE DNA

Login

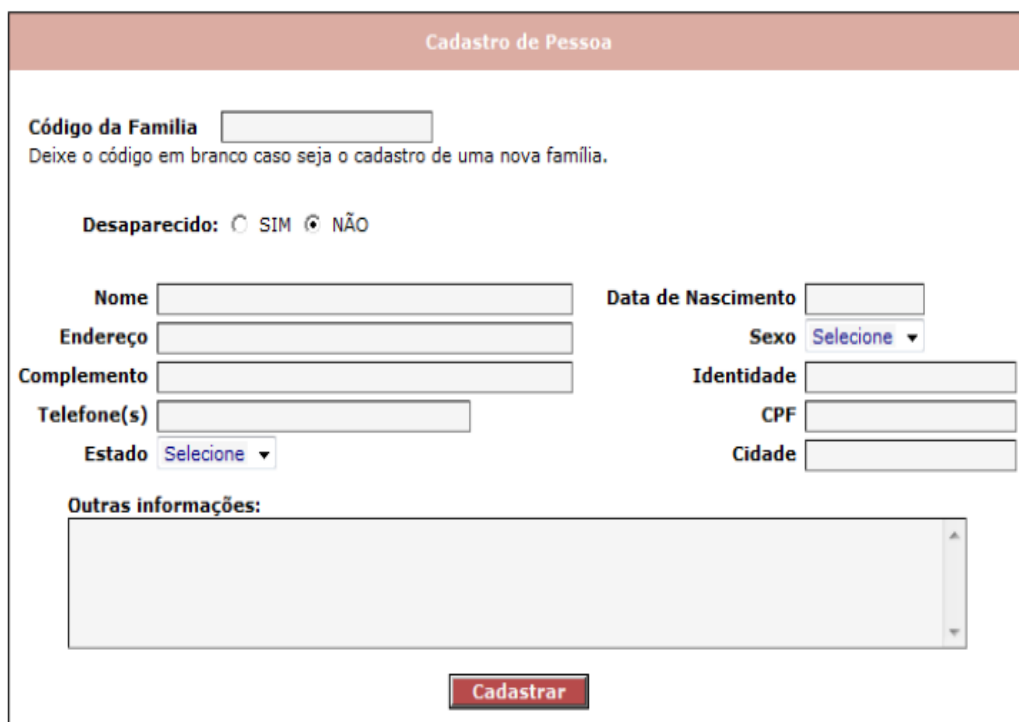
Senha

Entrar

@Copyright 2008-2008 | Laboratório de DNA Forense - UFAL | Desenvolvido por Wilkson Vilaça

Figura 18: Página inicial do BDPD. (Fonte: Sistema BDPD)

O cadastro é feito de duas formas. Uma com os de dados não genéticos que abrange o nome e endereço de pessoas desaparecidas e familiares do desaparecido. E uma outra com os dados genéticos, decorrente do DNA dos familiares e pessoas desaparecidas ou DNA de restos mortais, cadáver não identificado, entre outros. (PEREIRA, Wilkson Eldon Vilaça 2008) (Figura: 19)



O formulário, intitulado "Cadastro de Pessoa", contém os seguintes campos e elementos:

- Código da Família:** Campo de texto com uma dica: "Deixe o código em branco caso seja o cadastro de uma nova família."
- Desaparecido:** Grupo de botões de opção com "SIM" e "NÃO" (selecionado).
- Nome:** Campo de texto.
- Data de Nascimento:** Campo de texto.
- Endereço:** Campo de texto.
- Sexo:** Menu suspenso com a opção "Selecione".
- Complemento:** Campo de texto.
- Identidade:** Campo de texto.
- Telefone(s):** Campo de texto.
- CPF:** Campo de texto.
- Estado:** Menu suspenso com a opção "Selecione".
- Cidade:** Campo de texto.
- Outras informações:** Área de texto grande com uma barra de rolagem.
- Cadastrar:** Botão de ação no rodapé.

Figura 19: Cadastro de dados não genéticos (Fonte: Sistema BDPD)

Para a comparação de DNA é obrigatório o uso dos dados não genéticos com os dados genéticos. Os dados genéticos são as amostras de referências oriundas do DNA dos familiares ou pessoas desaparecidas através dos marcadores moleculares. São decorrentes de alguma pessoa familiar ou desaparecido o qual já teve os dados não genéticos cadastrados antes. Já as amostras questionadas são os dos DNA de restos mortais e cadáveres não identificados, podendo ser de um cadáver não identificado, de um osso, tecidos, gotas de sangue, entre outros. Assim, no cadastro é indicado a origem da amostra, o tipo da amostra e incluir os marcadores moleculares que foram extraídos. (PEREIRA, Wilkson Eldon Vilaça 2008) (Figura: 20)

Cadastrar Amostra de Referência

ATENÇÃO - Cadastrando amostra para:

Código Pessoa: P200805000002 [Visualizar Dados]

Código Família: F200805000002 [Visualizar membros]

Nome: Manoel Silva

Descrição:*

Tipo de Amostra:* Selecione ▼

Origem da Amostra:* Selecione ▼

* Campo Obrigatório

Marcadores

AMEL	CSF1PO	D10S2325	D12S391	D13S317	D16S539	D18S51	D19S433	D21S11	D2S1338
D3S1358	D5S818	D7S820	D8S1179	F13B	FGA	LPL	Penta E	SE33	TH01
TPOX	vWA								

Cadastrar
Voltar

Figura 20: Cadastro de dados genéticos para amostra de referência. (Fonte: Sistema BDPD)

3.4.1.2 Comparação do DNA no BDPD

Como já mencionado acima. A comparação do DNA entre os dados genéticos cadastrados. A amostra, chamada agora de amostra principal, passa a ser comparada entre as demais de referência ou questionada. Como no DNA existem vários marcadores moleculares para pontos de referência, cada um tem uma heterozigosidade e dois números variando de 4 a 39, chamados de alelos. É com essa informação do número de alelos compartilhados em cada marcador, o número de marcadores e a heterozigosidade do marcador que o BDPD realizará a comparação de maior probabilidade de parentesco genético entre as amostras. (PEREIRA, Wilkson Eldon Vilaça 2008) (Figura: 21)

Identificação da Amostra														
1														
Marcadores														
Marcador	CSF1PO	D13S317	D16S539	FGA	D7S820	D3S1358	D18S51	TH01	D19S433	TPOX	vWA	D2S1338	D8S1179	D5S818
Alelo 1	12	7	15	21	10	13	17	8	18	11	15	17	18	14
Alelo 2	7	12	8	18	8	20	20	5	18	11	22	16	13	14

Atenção: Todos os resultado abaixo de 12% na probabilidade Pai / Mãe, Irmão e Parente de 2º Grau foram removidos.

Resultado da Consulta																	
2518																	
Marcador	CSF1PO	D13S317	D16S539	FGA	D7S820	D3S1358	D18S51	TH01	D19S433	TPOX	vWA	D2S1338	D8S1179	D5S818			
Alelo 1	7	14	8	30	10	13	10	9	13	9	22	16	18	14			
Alelo 2	9	12	16	19	8	20	17	8	13	7	16	16	8	17			
Marcadores Analisados				Nº de Alelos Compartilhados				Pai / Mãe				Irmão		2º Grau			
14				UM				DOIS				0,0000		0,5697		4,4553	
				11				2				0,0000%		36,2963%		81,6694%	

6117																	
Marcador	CSF1PO	D13S317	D16S539	FGA	D7S820	D3S1358	D18S51	TH01	D19S433	TPOX	vWA	D2S1338	D8S1179	D5S818			
Alelo 1	12	12	16	21	6	13	26	11	10	9	13	24	18	10			
Alelo 2	16	14	8	25	10	12	25	8	18	11	15	15	14	9			
Marcadores Analisados				Nº de Alelos Compartilhados				Pai / Mãe				Irmão		2º Grau			
14				UM				DOIS				0,0000		0,0164		1,5352	
				11				0				0,0000%		1,6205%		60,5565%	

Figura 21: Resultado da comparação do DNA. (Fonte: Sistema BDPD)

4 METODOLOGIA

Este trabalho de conclusão de curso, foi dividido em três etapas. Sendo a primeira delas uma visita ao Laboratório de DNA Forense, onde ocorreu a primeira explanação da ideia de trabalho com o banco de dados de DNA e coleta de dados dos casos realizados no laboratório a partir do arquivo do mesmo. Tais casos fazem parte do contrato firmado entre o Governo do Estado de Alagoas, por meio do centro de pesquisa forense do estado e o laboratório de DNA. Esse contrato permaneceu vigente durante dois anos (2012 a 2014) e envolveram casos de identificação humana, determinação de perfis genéticos, crimes sexuais e homicídios.

Posteriormente foi realizada uma visita ao CPFor do Estado de Alagoas, onde foi possível conhecer a rotina dos peritos criminais em nosso estado, bem como, a estrutura do instituto, os equipamentos utilizados para diversos procedimentos na área de toxicologia forense seguindo das outras etapas até a liberação do laudo pericial.

São requeridas amostras biológicas coletadas nas cenas dos crimes, dos suspeitos, das vítimas e dos familiares das vítimas. Essas coletas são realizadas pelo IML ou pelos peritos criminais oficiais do estado de Alagoas lotados no CPFor.

Destacamos aqui a importância desta etapa para se ter resultados posteriores bem-sucedidos, afinal, em genética forense, a etapa anterior é sempre mais importante que a etapa

posterior, pois, dela é totalmente dependente. “Isolar e preservar o local onde ocorreu um crime é função dos primeiros policiais que ali chegarem”. Pois, a alteração do local do crime, afetará todo o processo de análise da dinâmica do ocorrido. (SILVA & PASSOS, 2006).

O cuidado com a amostra coletada, é outro fator de total importância, devendo-se evitar a degradação e contaminação da amostra ou do próprio perito. Seja qualquer tipo de tecido ou fluido corporal deve-se ter em mente que todos devem ser assumidos como infecciosos independente da sua origem. (SILVA & PASSOS, 2006). (Figura 22)

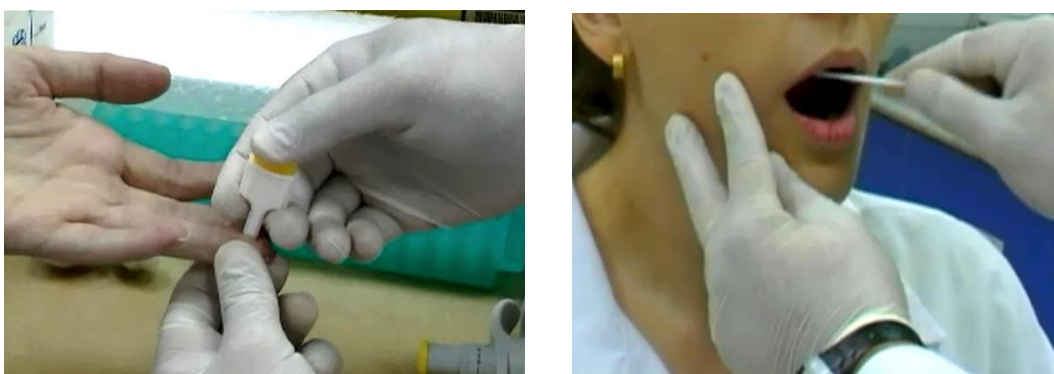


Figura 22: Método de coleta de DNA por pistola para sangue e swab bucal. Fonte: arquivos do laboratório de DNA forense. Acessado em: 29/05/2015

Após coletado, o material deve ser documentado e conduzido ao laboratório que procederá a etapa posterior. Para que tenhamos um efetivo controle da integridade física, assegurando o seu valor legal, é obrigatório a documentação de sua cadeia de custódia, que diz respeito à identificação de todas as pessoas que ficaram responsáveis pela guarda da amostra, e das condições em que as mesmas se encontravam a cada nova transmissão, desde a coleta até sua análise em laboratório. (SILVA & PASSOS, 2006). (Figura 23)

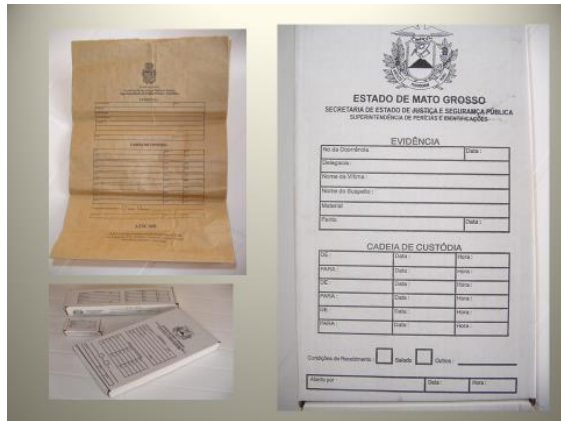


Figura 23: Kit para coleta de DNA e modelo de envelope para envio de material para análise forense. Fonte: arquivos do laboratório de DNA forense. Acessado em: 29/05/2015

Nos casos forenses, é preconizado para extração de DNA a seleção de ossos longos e dentes como nos mostra a figura 24.

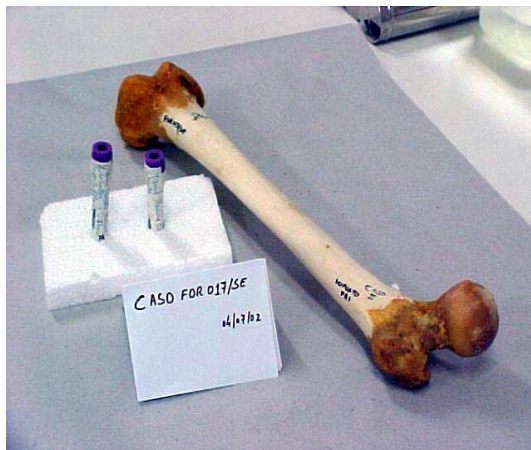


Figura 24: Apresentação das amostras biológica de preferência pelo laboratório de DNA- UFAL. Fonte: arquivos do laboratório de DNA forense. Acessado em: 29/05/2015

Os ossos longos, possuem uma facilidade maior para corte, limpeza e posteriormente pulverização com nitrogênio líquido. Os dentes possuem o esmalte que preserva o DNA para a extração como nos mostra a figura 25.



Figura 25: corte do osso longo para pulverização e retirada dos dentes de um cadáver pelo laboratório de DNA-UFAL para realização de exame de DNA. Fonte: arquivos do laboratório de DNA forense. Acessado em: 29/05/2015

Para os crimes sexuais é necessário que a vítima seja examinada logo que possível, e o material biológico coletado, o sêmen, deve ser recuperado por um profissional médico treinado para tal situação observando marcas de contato como contusões, mordidas devem ser esfregadas com o auxílio de um swab para coleta de DNA, pois, segundo um dos princípios da criminalística denominado de princípio de Locard, quando dois corpos entram em contato, um deixa resquícios de DNA no outro. (GOODWIN, William & *et al.*, 2007).

Ao término das etapas de extração, amplificação, sequenciamento que é realizado pelo aparelho ABI 310, segue-se para a etapa de análise dos eletroferogramas. Essa análise é feita por meio do sequenciamento dos pares de base que se apresentam computacionalmente em locus (regiões) nos cromossomos analisados como nos mostra a figura 26.

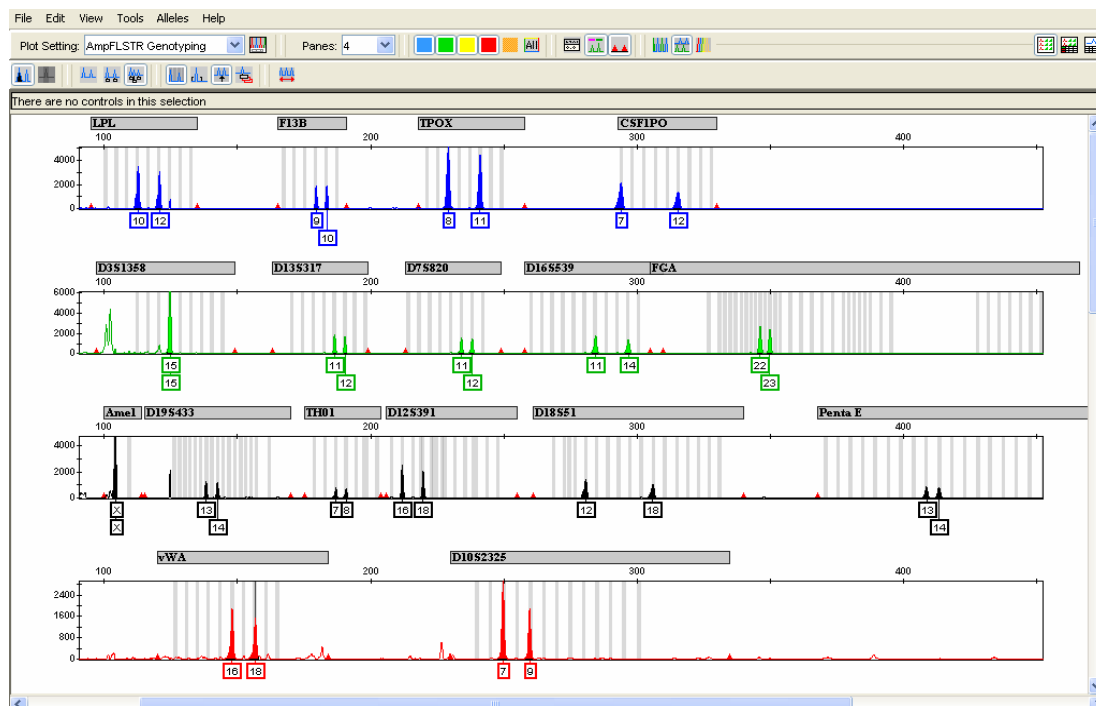


Figura 26: Representação esquemática de um eletroferograma apresentando os perfis genéticos para comparação. Fonte: sbq.com.br

Passada a etapa de análise, cria-se uma planilha que é enviada para a administração, seguindo com a digitação dos laudos. O mesmo é revisado por três pessoas diferentes, evitando erros de liberação/ digitação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o processo de contrato entre o governo do Estado de Alagoas e o Laboratório de DNA Forense da UFAL que durou em média dois anos, realizou-se 150 casos criminais de diversas naturezas por meio das técnicas de biologia molecular, aplicando a análise do DNA.

Dentre a maioria dos casos, destacaram-se, 97 casos de identificação Humana, 27 casos de crimes sexuais, 17 casos de Doação de Perfil Genético para adição no banco de dados de DNA do próprio laboratório e 9 casos de homicídios. Tais dados, podem ser observados (gráfico 1) abaixo:

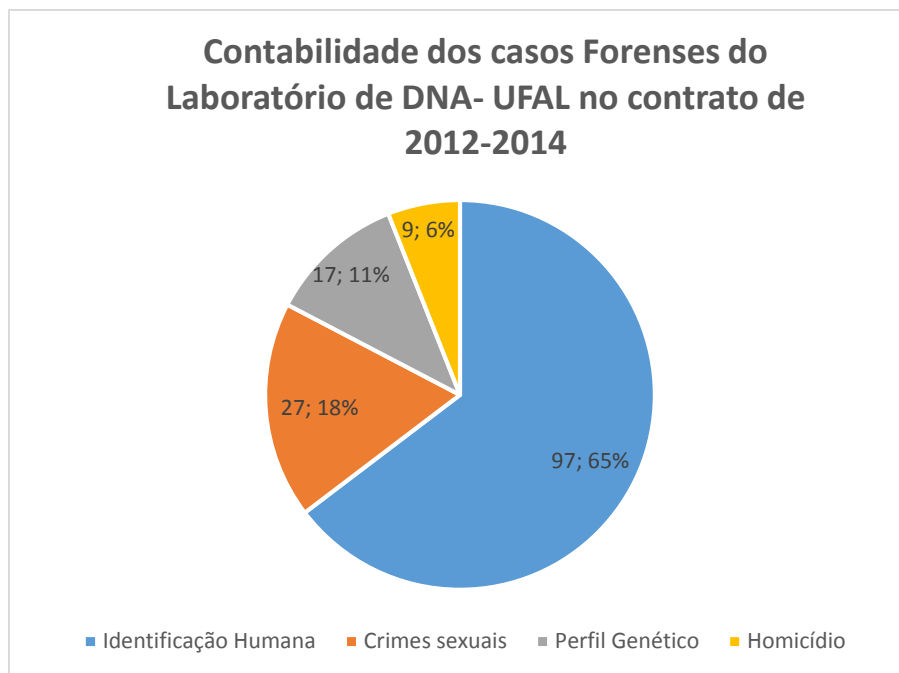


Gráfico 1: Representação esquemática dos casos enviados ao laboratório de DNA durante o período de contrato com o governo do estado. Fonte: Arquivo do laboratório. Acessado em: 05/04/2015

Dos casos enviados para o Laboratório de DNA foram utilizados como amostra biológica para o teste de identificação humana, dos 97 casos, 57 amostras de dentes, 32 amostras de ossos, 04 casos utilizaram dentes e ossos e 04 amostras de tecidos (Gráfico 2). Da totalidade dos casos referente a identificação Humana, foram necessários 89 swabs de familiares para determinação e comparação do perfil genético da vítima e 08 foram extraídos do BDPD. (Gráfico 3)

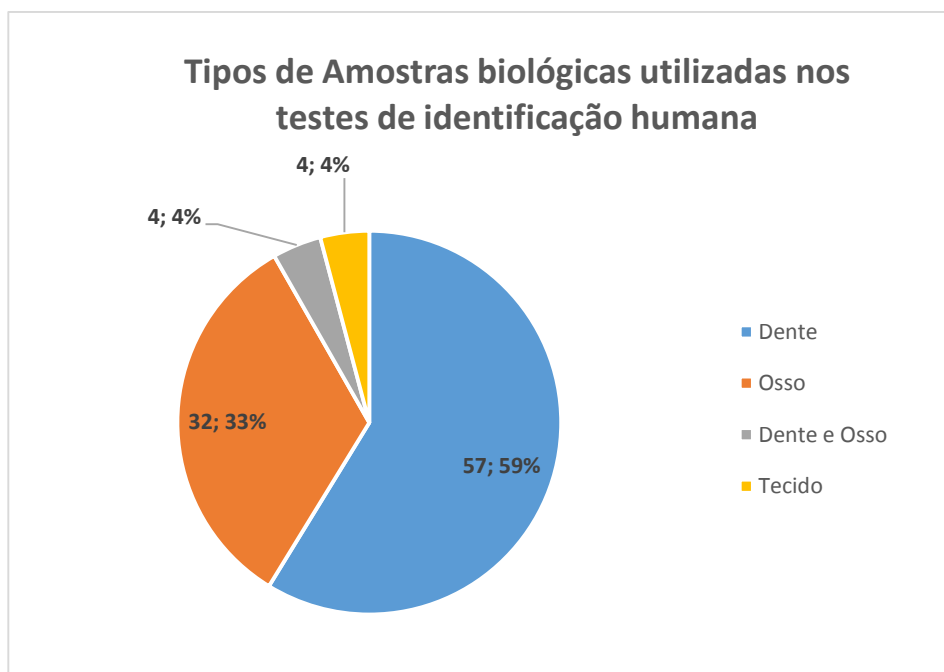


Gráfico 2: Representação gráfica das amostras biológicas enviadas ao laboratório de DNA Forense da Universidade Federal durante o período de contrato. Fonte: Arquivo do Laboratório de DNA. Acessado em: 05/04/2015

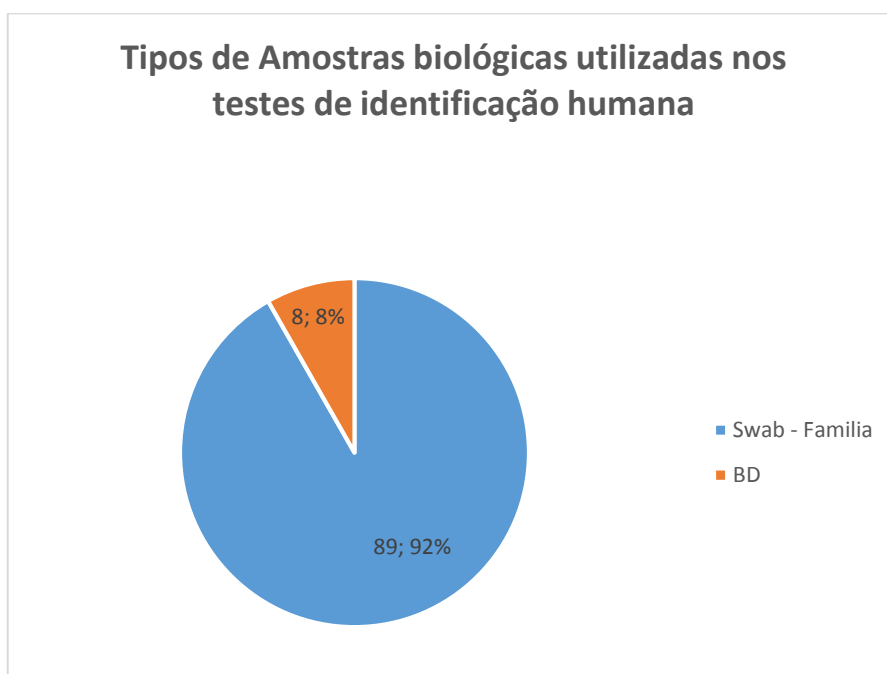


Gráfico 3: Representação gráfica das amostras de referência utilizadas para comparação dos perfis genéticos das vítimas. Fonte: Arquivo do Laboratório de DNA. Acessado em: 05/ 04/ 2015

Dos 27 casos sexuais enviados ao laboratório de DNA Forense, 19 foram enviados Swab Vaginal, 04 peças de roupa da vítima, 02 swabs anais e 01 amostra de unha exumada. (Gráfico 4). Para comparação dos perfís genéticos identificados pelos exames de DNA, foram utilizados 15 swabs bucais dos suspeitos, 12 não possuíam amostras de referência, sendo adicionados os perfís das vítimas no banco de dados do laboratório. (Gráfico 5)

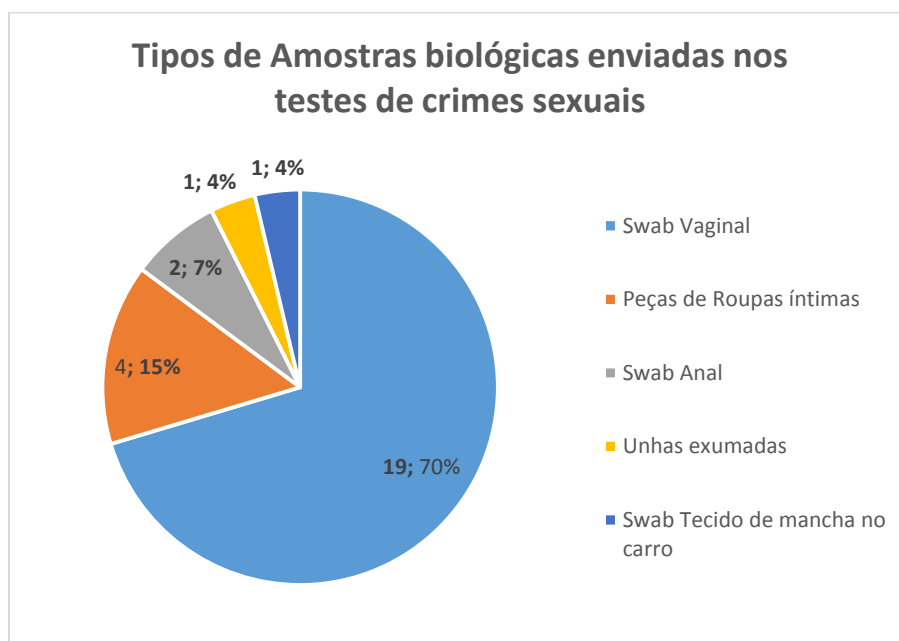


Gráfico 4: Representação gráfica das amostras biológicas enviadas ao laboratório de DNA Forense da Universidade Federal durante o período de contrato. Fonte: Arquivo do Laboratório de DNA. Acessado em: 05/04/2015

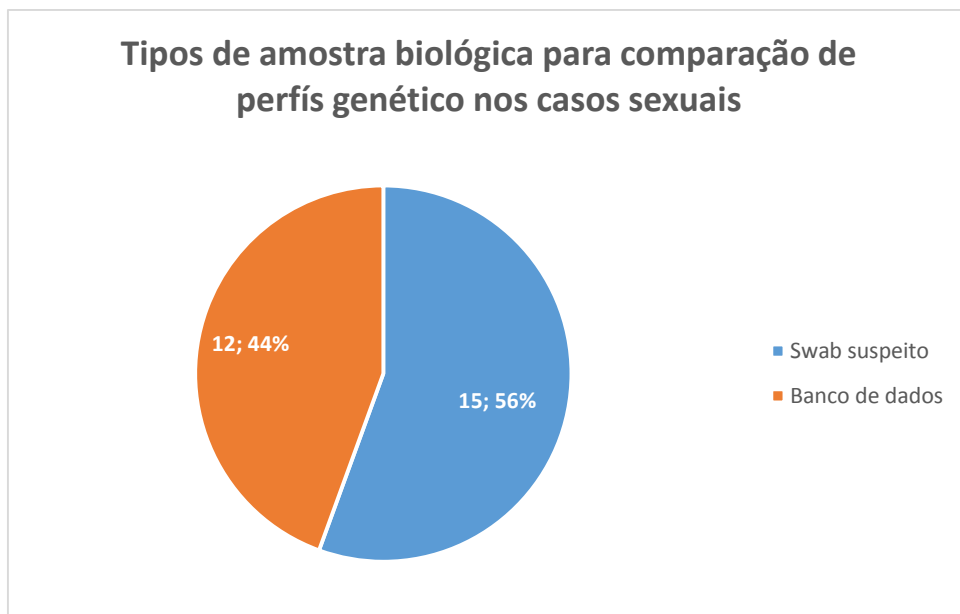


Gráfico 5: Representação gráfica das amostras utilizadas para comparação dos perfis genéticos nos crimes sexuais. Fonte: Arquivo do Laboratório de DNA. Acessado em: 05/ 04/ 2015.

Dos 150 casos enviados, 17 foram para determinação do perfil genético. Sendo 11 amostras de perfis genéticos de vítimas, 03 perfis encontrados em veículos e 03 perfis doados espontaneamente por familiares que estavam à procura de seus entes desaparecidos. (Gráfico 6). Dos casos acima apresentados, 16 foram enviados para o banco de dados e 1 não possuía amostra de DNA humano. (Gráfico 7)

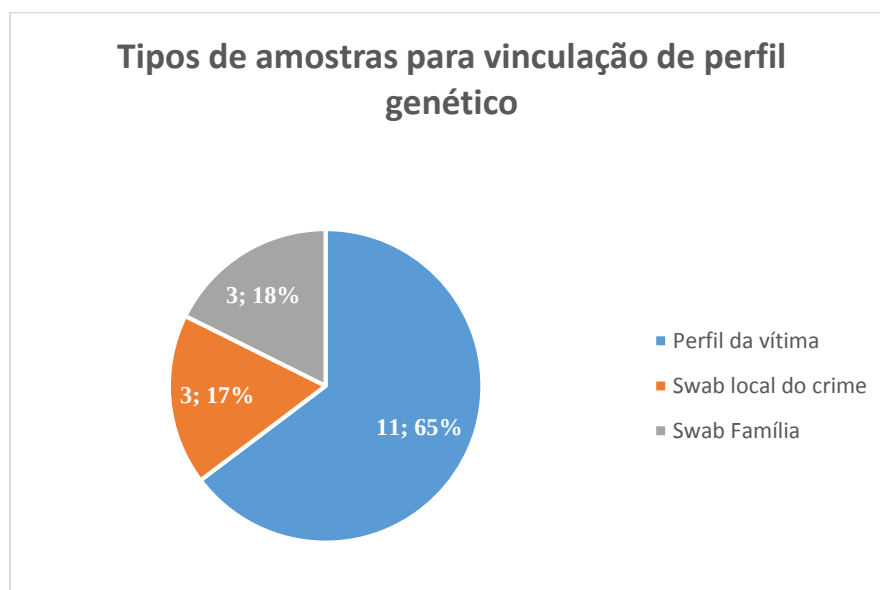


Gráfico 6: Representação gráfica das amostras de referência utilizadas para determinação dos perfis genéticos para vinculação genética. Fonte: Arquivo do Laboratório de DNA. Acessado em: 05/ 04/ 2015

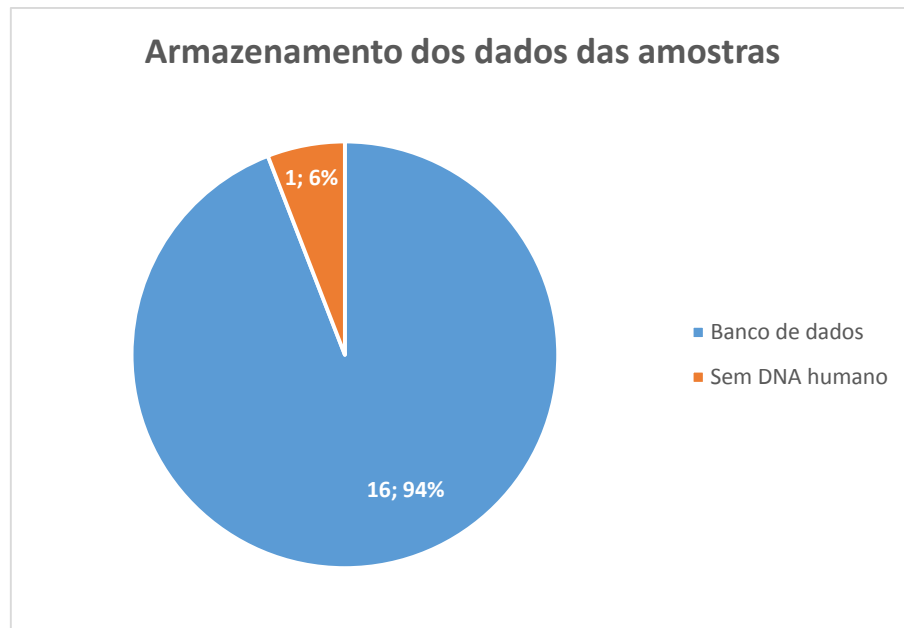


Gráfico 7: Representação gráfica do armazenamento dos dados das amostras de perfis genéticos determinados pelo laboratório de DNA forense. Fonte: Arquivo do Laboratório de DNA. Acessado em: 05/ 04/ 2015

A quarta análise estatística dos casos forenses, parte dos casos de homicídio, totalizando uma quantidade de 9 dos 150 casos analisados. 02 dos casos, a amostra utilizada foi swab umedecido com sangue, 02 amostras de cabelo, 01 amostra de swab da arma de fogo e 04 denominadas diversas amostras, pois, foram coletados swabs em diversas superfícies como: azulejo, areia, barro, madeira, entre outras, afim de identificar os suspeitos. (Gráfico 8). Das amostras dos casos de homicídio, todas possuíram swab do suspeito para comparação genética. (Gráfico 9)

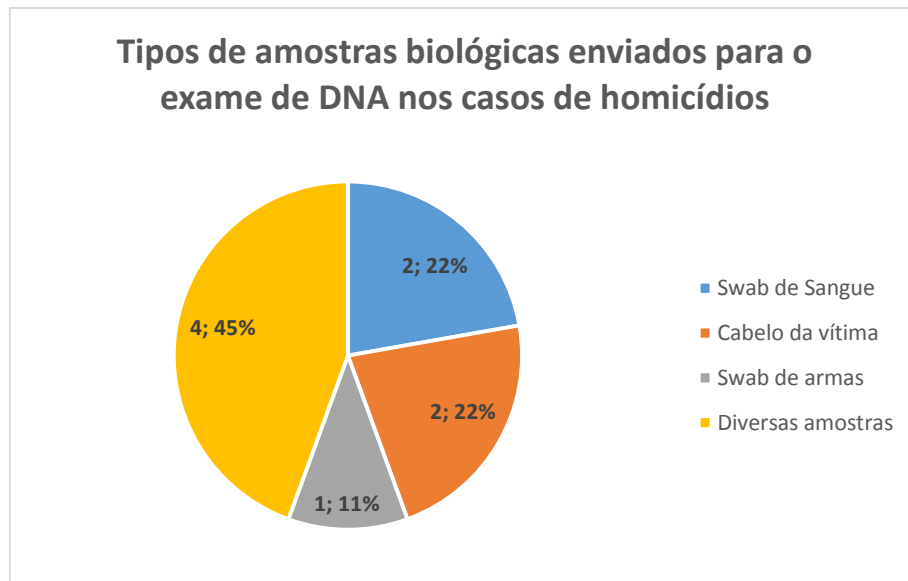


Gráfico 8: Representação gráfica das amostras biológicas enviadas ao laboratório de DNA Forense da Universidade Federal durante o período de contrato. Fonte: Arquivo do Laboratório de DNA. Acessado em: 05/04/2015

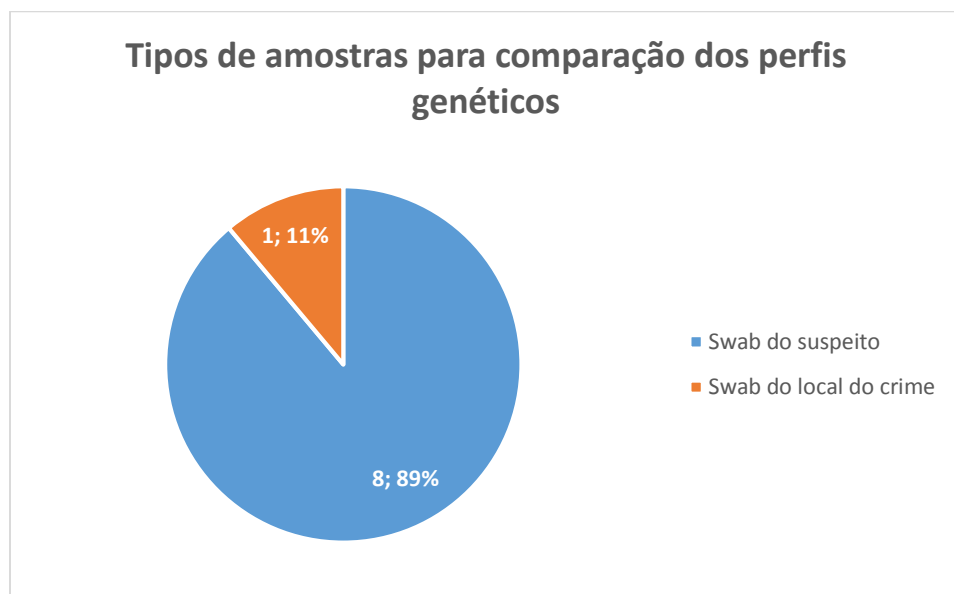


Gráfico 9: Representação gráfica das amostras de referência utilizadas para comparação dos perfis genéticos dos suspeitos. Fonte: Arquivo do Laboratório de DNA. Acessado em: 05/04/2015

Como segunda etapa do processo do exame de DNA, encontramos os métodos de extração. Para os casos acima citados, a sua totalidade de 100% utilizou-se o método orgânico por trabalhar em sua maioria, com amostras de osso, tecido e dente. Para tal, é utilizado o solvente Fenol- clorofórmio.

Após o processo de extração, seguido o protocolo, adentramos a etapa de amplificação. Percebemos que todos os casos foram amplificados por PCR. O produto da amplificação é encaminhado até a etapa de sequenciamento. Para tal, utiliza-se o aparelho ABI 310 e todas as amostras foram sequenciadas por microssatélites do tipo STRS. São utilizados 13 marcadores moleculares, preconizados pelo FBI.

Dos 150 casos enviados para o laboratório de DNA forense, todos houveram emissão de laudos. Sendo 92 inclusões, 25 enviados para o BD e 33 exclusões (Gráfico 10). Para os casos de identificação humana, obtivemos um resultado de 82 laudos de inclusão e 15 laudos de exclusão (Gráfico 11). Já nos casos forenses, englobando os crimes sexuais e homicídios, tivemos uma amostra 19 laudos de inclusão liberados e 17 laudos de exclusão (Gráfico 12). Assim, podemos evidenciar de forma eficaz, que a genética molecular é capaz de acusar ou inocentar pessoas investigadas em inquérito criminal.

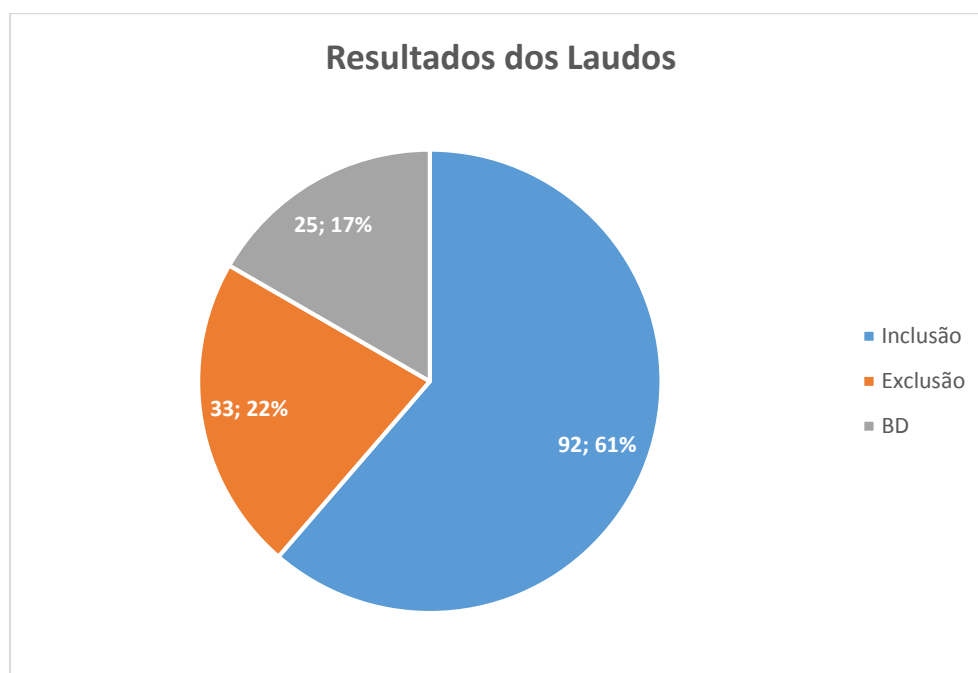


Gráfico 10: Representação esquemática dos resultados dos laudos emitidos pelo laboratório de DNA forense.
Fonte: Arquivo do Laboratório de DNA. Acessado em: 05/ 04/ 2015

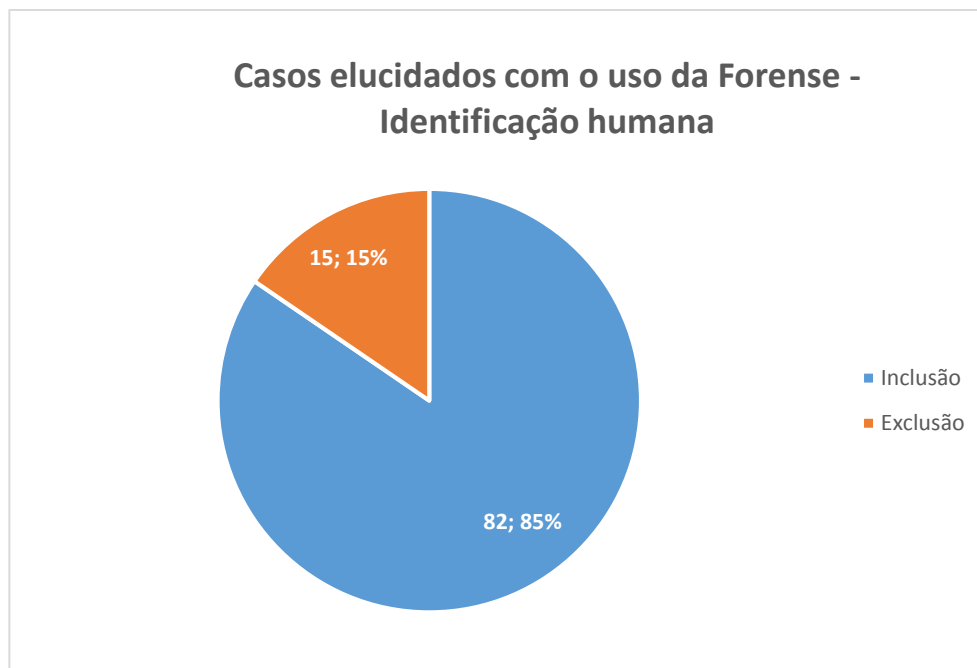


Gráfico 11: Representação esquemática dos casos elucidados pelo uso forense na identificação humana. Fonte: Arquivo do Laboratório de DNA. Acessado em: 05/ 04/ 2015

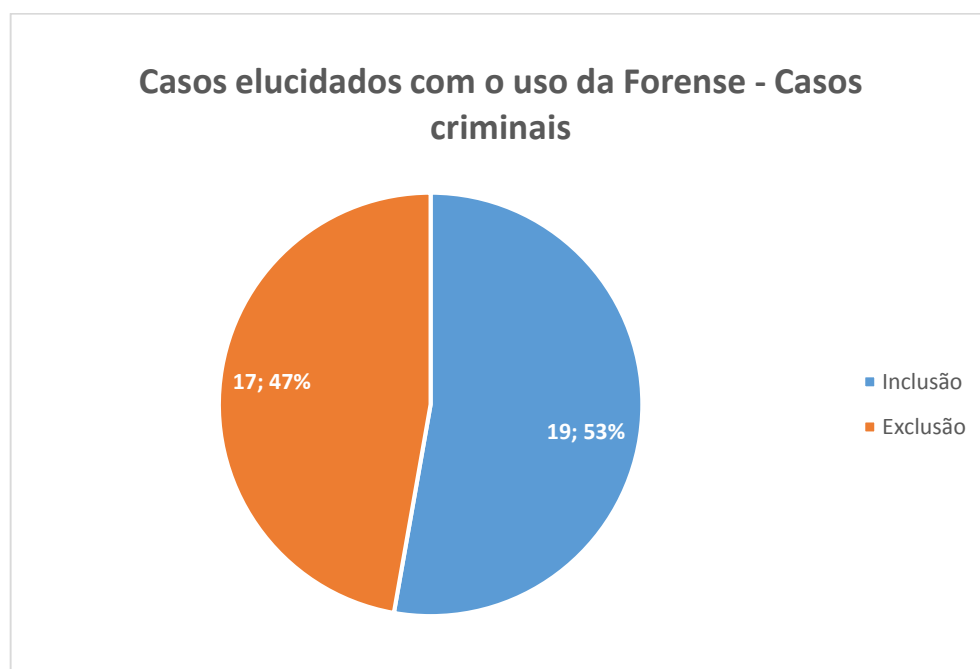


Gráfico 12: Representação esquemática dos casos elucidados pelo uso forense nos casos criminais. Fonte: Arquivo do Laboratório de DNA. Acessado em: 05/ 04/ 2015

A análise dos gráficos mostra a eficácia das tecnologias do DNA, para a elucidação de crimes em nosso estado, contribuindo para a melhoria das condições sociais, pois, de forma clara, podemos perceber a importância do uso da genética forense, para contribuir acusando pessoas indiciadas em inquéritos, sendo portanto, retiradas do convívio social, melhorando as condições da segurança pública. Em contrapartida, percebemos que da mesma forma que o DNA tem fundamento acusatório, possui também fundamentos para inocentar pessoas que estavam sendo acusadas de forma errônea em julgamento. Devolvendo as mesmas condições de vivência social, fazendo valer os direitos fundamentais a eles entregue pela constituição federal.

Segundo dados estatísticos extraídos do Portal G1/AL, o número de pessoas desaparecidas teve um aumento de 18,93% em relação ao ano de 2013-2014. Levando-se em consideração apenas os casos registrados nos arquivos da Polícia Civil, foram 338 contra 402. Nossa capital é o município de maior taxa de desaparecimento registrando 218 desaparecidos até setembro de 2014. Entre os desaparecidos a maior incidência é entre os jovens de 12 a 17 anos.

Com base nessas informações, fundamentamos a importância do uso do BDPD desenvolvido pela UFAL em parceria com o Laboratório de DNA Forense. A análise dos gráficos nos indica uma proporção exorbitante de casos relativos a identificação de restos mortais. Uma vez que existisse investimento no BD por parte das autoridades públicas e da sociedade em geral, a troca de informações de perfis genéticos ocorreria de forma direta entre os órgãos responsáveis pela elucidação de crimes no estado de Alagoas, minimizando o tempo de investigação, reduzindo gastos e consequentemente dando uma resposta positiva a sociedade e em especial aos familiares.

Segundo base estatística, elaborada por meio de um questionário aplicado a 500 pessoas com idades entre 16 a 72 anos, que fazem parte em sua maioria da população de Maceió, destacamos que 74% não tem conhecimento da existência do BD como nos mostra do gráfico 13.

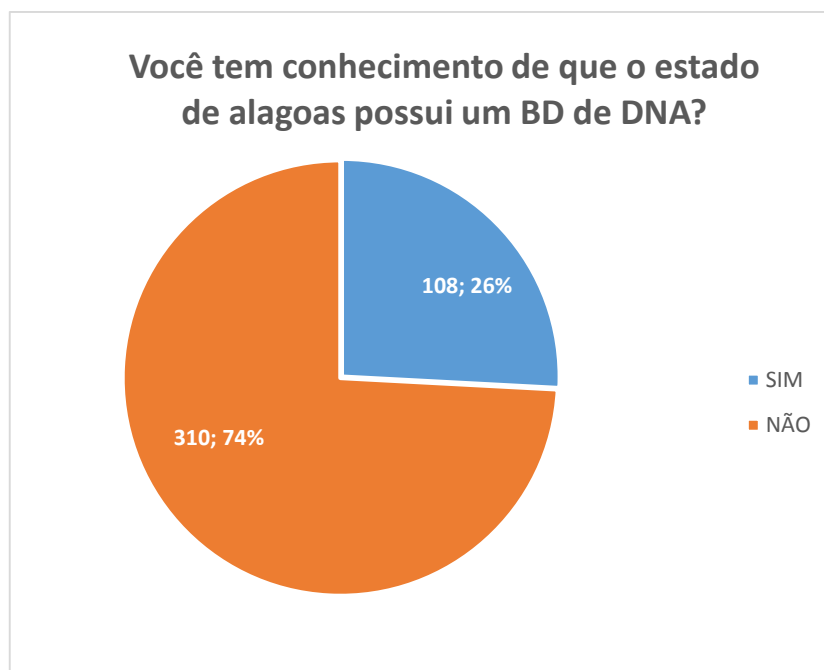


Gráfico 13: Apresentação esquemática dos resultados obtidos no questionário aplicado a população com fins estatísticos.

Evidenciamos também por meio do questionário, que 84% da população tem conhecimento de que a utilização de um BDPD, contribuiria em grande escala para a efetivação de crimes no estado de alagoas como nos mostra o gráfico 14.

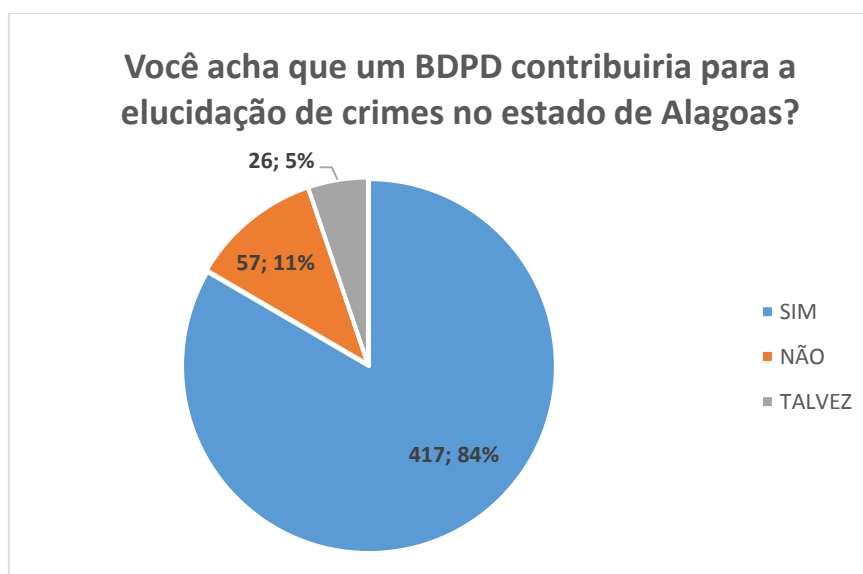


Gráfico 14: Apresentação esquemática dos resultados obtidos no questionário aplicado a população com fins estatísticos.

Quanto a doação do próprio perfil genético dos entrevistados para o BD, notamos uma grande adesão por parte da população, mesmo uma relativa quantidade estar duvidando do progresso desta ferramenta a nível local como nos mostra no gráfico 15.

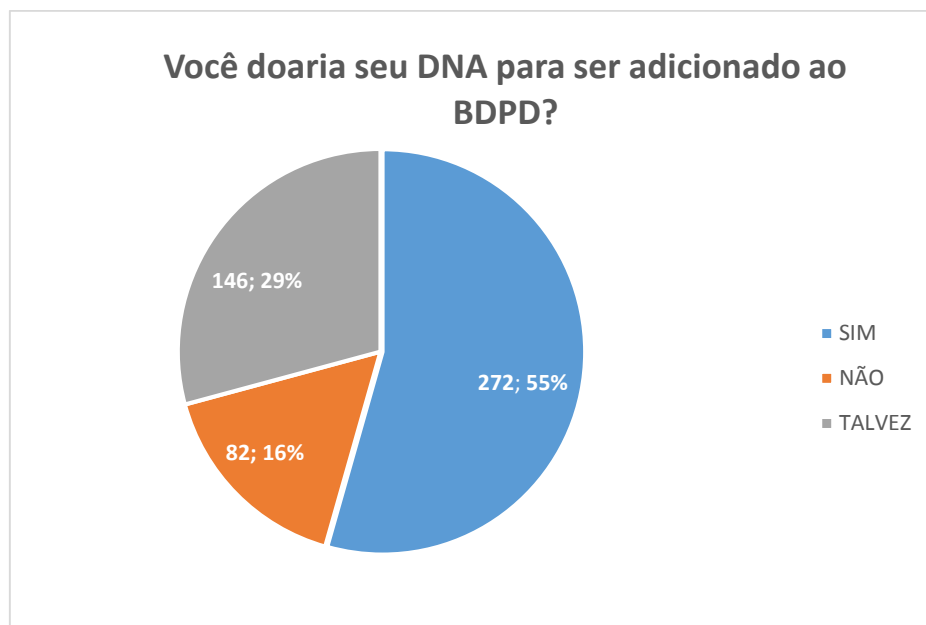


Gráfico 15: Apresentação esquemática dos resultados obtidos no questionário aplicado a população com fins estatísticos.

Há de se salientar que os casos fechados, ou seja, os quais existem amostras de referência para comparação com a amostra questionada, representaram menos de 10% de todas as solicitações que dão entrada nos laboratórios forenses (HOUCK; SIEGEL, 2010).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do observado na análise dos gráficos elaborados a partir dos casos oriundos do Laboratório de DNA, pôde-se concluir que o BPDP se torna uma ferramenta de grande ajuda para uma maior efetividade na elucidação dos casos criminais a que o estado apresenta. Com o não uso do BD em Alagoas, enfatiza-se a necessidade de divulgação do mesmo por parte dos governantes e mídias existentes, para que esse recurso venha a contribuir de forma direta na área da ciência forense, representando um sistema de fonte confiável e com eficiência mostrada nos resultados.

Deste modo, a utilização do sistema de banco de dados de pessoas desaparecidas com todo o propósito a que foi criado, colaboraria solucionando casos de desaparecimentos, crimes sexuais e homicídios no cenário local do Estado de Alagoas.

Assim, concluímos que a efetivação da rede integrada de bancos de dados de perfis genéticos certamente traria resultados positivos a sociedade, visto que o percentual acompanhado nos gráficos pela análise dos casos no laboratório, evidencia que o BDPD tem funcionalidade para o estado, uma vez que ajudou na condenação de criminosos e deu um ponto final na história dos indivíduos que se encontravam desaparecidos. Mesmo que a resposta para os familiares não fosse a que esperavam. E diante do observado na pesquisa do questionário pelas próprias respostas dadas pela população, demonstra que a maioria deles acreditam na ferramenta e o apoio que o BD daria em suas vidas e ao estado para que a sensação de tranquilidade volte a fluir no dia a dia. E pelo percentual de contribuição que eles dariam para que o BDPD fosse sempre atualizado com a doação de seus perfis genéticos. Mesmo a maioria não sabendo da existência do BD no estado no início do questionário.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

WATSON J. D.; CRICK F. H. *Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid*. Nature: 1953. pp. 25;171(4356):737-8.

SECRETARIA NACIONAL DE SEGURANÇA PÚBLICA (SENASP). *Padronização de Exames de DNA em Perícias Criminais*. Disponível em: <http://www.mj.gov.br/senasp/SUSP/pericias/Padronização_Exames.pdf>. Acesso em: 01 Março 2006.

JEFFREYS A. J.; WILSON V.; THEIN S. L. *Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA*. Nature: 1985. pp. 7-13; 314:67-73.

INTERNACIONAL SOCIETY FOR FORENSIC HAEMOGENETICS (IFSH). *Recommendations of the DNA commission of the internacional society for forensic haemogenetics relating to the use of PCR-based polymorphism*. Forensic Sci. Int.: 1992. pp. 55:1-3.

BUTLER, J. M. 2005 forensic dna typing Biology, technology, and genetics of str markers Second edition

REIS, Marta Química cidadã, uma nova abordagem para os princípios químicos. Editora FTD 2011.

PENA, A. J. 2005, *Estrutura química do DNA*, primeira edição.

CLARK, A. G et al. 2010, *Genética de Populações*, 4ª edição

PASSOS, Nicholas Soares; DA SILVA, Luiz Antonio Ferreira. DNA Forense – Coleta de Amostras Biológicas em Locais de Crime para Estudo do DNA. Alagoas: edUFAL, 2002

DAWKING, Richard. *O Gene Egoista*. Vol 7. Belo Horizonte / São Paulo: Itatiaia Editora, 2001.

PIERCE, Benjamin, A 2003 *Genética: um enfoque conceitual* 2003 1ª edição

SNUSTAD, D. Peter 2005 *fundamentos de genética*, 1ª edição

INTERPOL. Forensics. (2014). Disponível em:
<http://www.interpol.int/INTERPOLExpertise/Forensics/DNA>. Acesso em 10/05/2014.

HOUCK, Max M.; SIEGEL, Jay A. *Fundamental of Forensic Science*. 2. ed. Burlington: Elsevier, 2010.

SARDELA, Química nova, Editora Abril 2010.

MASTERS, BA. DNA Testing in old cases in disputed: lack of national policy raises fairness issue. *Washington Post*, September 10, 2000.

PLANO MAIS BRASIL PPA 2012-2015: Relatório Anual da avaliação: ano base 2012. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão/SPI. - Brasília: MP/SPI. 2013. Disponível em:
<http://www.justica.gov.br/sobre/acoes-e-programas/arquivos-anexos/2012-monitoramento-ppa-ano-2012-volume-ii-tomo-i.pdf>. Acesso dia 21/05/2014

WIEMANN S.; WEIL B.; WELLENREUTHER R. *et al. Toward a catalog of human genes and proteins: sequencing and analysis of 500 novel complete protein coding human cDNAs*. *Genome Res.*: 2001. pp. 11(3):422-35.

Alagoas - Banco de dados para desaparecidos, 2013. Disponível em:
<http://www.desaparecidosdobrasil.org>. Acesso dia 20/05/15

Número de desaparecidos cresceu 18,93%, 2014. Disponível em: <http://www.g1.globo.com>. Acesso dia 22/05/15

PEREIRA, Wilkson Eldon Vilaça, 2008 - Primeira Edição

ANEXO

QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO – BANCO DE DADOS DE PESSOAS DESAPARECIDAS

CIDADE:

BAIRRO:

ESCOLARIDADE:

FAIXA ETÁRIA: 16 A 24 ANOS () 25 A 32 ANOS 32 A 45 ANOS () 46 A 70 ANOS ()

RENDIA SALARIAL: 1 SALÁRIO MÍNIMO () 2 A 3 SALÁRIOS MÍNIMOS () ACIMA DE 4 SALÁRIOS ()

1) VOCÊ SABE O QUE É UM BANCO DE DADOS DE DNA?

() SIM () NÃO

2) VOCÊ TEM CONHECIMENTO DE QUE O ESTADO POSSUI UM BANCO DE DADOS DE DNA?

() SIM () NÃO

3) VOCÊ ACHA QUE UM BANCO DE DADOS DE PESSOAS DESAPARECIDAS CONTRIBUÍRIA PARA ELUCIDAÇÃO DE CRIMES NO ESTADO DE ALAGOAS?

() SIM () NÃO () TALVEZ

4) VOCÊ DOARIA SEU DNA PARA SER ADICIONADO AO BANCO DE DADOS DE PESSOAS DESAPARECIDAS?

() SIM () NÃO () TALVEZ