

CAMILLA FIGUEIREDO CHIANCA

**DIVERSIDADE HAPLOTÍPICA DE 23 Y-STRS EM UMA AMOSTRA DA
POPULAÇÃO DO DISTRITO FEDERAL (BRASIL) - UM TERRITÓRIO QUE
SURTIU DO NADA A REALIDADE**

Brasília – DF

2013

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

CAMILLA FIGUEIREDO CHIANCA

**DIVERSIDADE HAPLOTÍPICA DE 23 Y-STRS EM UMA AMOSTRA DA
POPULAÇÃO DO DISTRITO FEDERAL DO BRASIL - UM TERRITÓRIO QUE
SURTIU DO NADA A REALIDADE**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para à obtenção do Título de Mestre em Ciências
da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Barcelos Barra

Brasília – DF

2013

CAMILLA FIGUEIREDO CHIANCA

**DIVERSIDADE HAPLOTÍPICA DE 23 Y-STRS EM UMA AMOSTRA DA
POPULAÇÃO DO DISTRITO FEDERAL (BRASIL) - UM TERRITÓRIO QUE
SURTIU DO NADA PARA A REALIDADE**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para à obtenção do Título de Mestre em Ciências
da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovado em 17 de Dezembro de 2013

BANCA EXAMINADORA

Dr. Gustavo Barcelos Barra – (Presidente)

Universidade de Brasília – UnB

Dra. Angélica Amorim Amato

Universidade de Brasília – UnB

Dra. Lara Franciele Ribeiro Velasco

Laboratório Sabin

Dr. Rafael Henriques Jácomo – (Suplente)

Laboratório Sabin

Dedico este trabalho,

A todos que acreditaram, incentivaram e apoiaram a realização deste trabalho, em especial, aos meus pais, Mariza e Romulo, razão da minha existência, que se fizeram presentes em todos os momentos firmes e trêmulos e aos meus irmãos, Carol e Rominho, por está sempre presente e apoiando as minhas escolhas.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me conceder a vida e por tudo que realizei e conquistei nessa etapa da minha vida.

Aos meus pais, Mariza e Romulo, pelos momentos de ensinamento e alegria, incentivo, paciência, críticas, carinho e amor. Vocês são responsáveis por tudo que eu sou, obrigada por tudo. Amo vocês!

Aos meus irmãos, Carol e Rominho, pela amizade e companheirismo.

A minha avó Zilda, aos meus tios e primos pela generosidade e afeto.

Ao meu orientador Prof. Dr. Gustavo Barcelos Barra, por me orientar durante essa jornada, pelo exemplo que você é, pela paciência, pela amizade e pela contribuição imensurável a minha formação acadêmica e pessoal, esses ensinamentos levarei sempre comigo. Muito Obrigada!

Ao Sabin, principalmente a Dra. Sandra, Dra. Lídia e a Dra. Janete, pelo auxílio financeiro, pela oportunidade, confiança, apoio e assistência para a realização desse trabalho.

Ao setor de BioMol, Dra. Lara, Claudia, Ana, Ciça, Pat, Vanessa, Camila, Cidinha e a Débora por terem aberto as portas e por me acolher tão bem, por ter contribuído na realização deste trabalho e pela amizade. Em especial a Dra. Lara, coordenadora da BioMol, pela confiança, apoio, pelo modelo de profissional que é, pela oportunidade que me deu de aprender, por fazer de tudo para conseguir patrocínio para o congresso AACC e pela assistência para a realização deste trabalho, meu muito obrigado.

Ao grupo científico de todas as quartas, por aprender e contribuir para o conhecimento e por me manter atualizada sobre assuntos dos temas de mestrado e do setor de BioMol.

As minhas colegas de mestrado, Ticiane e Júlia. A Tici por ter sido minha companheira do comecinho, passando juntas por dificuldades de morar sozinha, apoiando e estimulando nos momentos de maiores dificuldades. E a Júlia que

apesar de ter chegado ao grupo mais tarde se tornou uma irmã mais velha dando apoio, fornecendo palavras amigas e encorajadoras nos momentos difíceis.

Aos amigos que fiz em Brasília e levarei para minha vida toda, obrigada pela amizade, pela troca de conhecimento e pelas boas risadas. Em especial aos amigos que fiz através do Sabin e hoje são indispensáveis na minha vida como Rodrigo, Jonas, Marina, Eduardo, Hermann, Aline, Daniella e Lessandra.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de estudo.

Aos demais, amigos e familiares, que mesmo distante torceram por mim e fazem parte desta conquista.

NOTAS DO ORIENTADOR

Agradecimentos:

Ao laboratório Sabin,

Agradeço o investimento que a empresa faz em pesquisa científica e nos sonhos de seus colaboradores.

À Camilla Figueiredo Chianca,

Agradeço o aprendizado em orientar. Pois, a mistura de um jovem aluno e um jovem orientador resultou em uma troca de conhecimentos em que ambos se beneficiaram, como cientistas e como pessoas.

RESUMO

O cromossomo Y é específico do sexo masculino e constitutivamente haplóide. É transmitido de pai para filho e, diferentemente dos outros cromossomos, 95% do seu conteúdo não sofre recombinação genética. Quando um marcador genético do tipo “short tandem repeat” (STR) se localiza no cromossomo Y é denominado Y-STR. Devido a ausência de recombinação, os Y-STRs são herdados de forma haplotípica ao longo das gerações, ou seja, os indivíduos masculinos da mesma linhagem possuem conjuntos de Y-STRs iguais. A análise de Y-STRs é uma ferramenta importante para os estudos de vínculo genético em que os STRs autossômicos não são conclusivos, como em alguns casos *post mortem* (Suposto pai falecido). Podem ser utilizados também como um controle interno de qualidade do laboratório de análises de vínculo genético para os casos com poucas exclusões, os que atingem índices de paternidade baixos, ou mesmo ser uma alternativa confirmatória para os casos de exclusão. Além disso, para se determinar a probabilidade do perfil encontrado pertencer ao indivíduo testado é necessário o uso de um banco de dados da população local para o cálculo do índice de paternidade e probabilidades forenses. O Distrito Federal foi criado em 1960 na região Centro-Oeste do Brasil em um território até então despovoado. Em 2010, este território artificial estava povoado por mais de 2.500.000 habitantes, tratando-se de uma população nova, de rápido crescimento e com poucas descrições a respeito da sua identidade genética. Neste estudo avaliou-se o polimorfismo genético e os parâmetros forenses para 23 Y-STRs (DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, Y GATA H4, DYS437, DYS438, DYS448, DYS522, DYS508, DYS632, DYS556, DYS570, DYS576 e DYS540) em uma amostra populacional de 201 homens do Distrito Federal. Apesar de existir uma quantidade relativamente grande de descrições de frequência de Y-STRs em diversas populações brasileiras, inclusive do Distrito Federal, nenhum analisou mais que 17 marcadores. Observou-se que dos 201 haplótipos incluídos, 200 eram diferentes e 199 eram únicos, pois 1 ocorreu duas vezes. A diversidade haplotípica (probabilidade de que dois indivíduos selecionados ao acaso possuam haplótipos distintos) e a capacidade de discriminação (capacidade de diferenciar um indivíduo do outro) foram 0,9999 e 0,995,

respectivamente. A diversidade gênica, as frequências haplotípicas e alélicas e a probabilidade de coincidência haplotípica também foi relatada. Ademais, a disponibilidade de haplótipos de outros 22 estados brasileiros no banco de dados *on-line* YHRD (www.YHRD.org) possibilitou a comparação da distância genética (Rst) destas populações em relação ao Distrito Federal. Assim, a população do Distrito Federal foi semelhante as populações dos estados de Goiás, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro (Europeu), Rio Grande do sul, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Amazonas, Roraima, Rondônia e Amapá.

Palavras-chave: Cromossomo Y; Y-STR; Brasília; Distrito Federal (Brasil); genética da população.

ABSTRACT

The Y chromosome is male specific and constitutively haploid. It is transmitted from father to son and, unlike other chromosomes, 95% of its content does not undergo genetic recombination. When a "short tandem repeat" (STR) genetic marker is located on the Y chromosome it is called Y-STR. Due to the absence of recombination, the Y-STRs are inherited by haplotypes across generations. The male individuals of the same family have the same sets of Y-STRs. The analysis of Y-STRs is an important tool for studying genetic relationships in which autosomal STRs are not conclusive, as in some *post mortem* cases. Moreover, it can be used as a laboratory internal quality control for cases with few exclusions, for those with low paternity index, and even be a confirmatory for the exclusion cases. Furthermore, to determine the paternity probability and other forensic index the use of a local database for Y-STR is highly recommended. The Federal District was created in 1960 in Brazil Central-West Region in a previously uninhabited territory. In 2010, this artificial territory was populated by more than 2,500,000 inhabitants. So, it is a young population, of rapid growth and with few descriptions about its genetic identity. In this study, we evaluated the genetic polymorphism and forensic parameters for 23 Y-STRs (DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, Y GATA H4, DYS437, DYS438, DYS448, DYS522, DYS508, DYS632, DYS556, DYS570, DYS576 and DYS540) in a population sample of 201 men from the Federal District. Despite a relatively large amount of frequency descriptions of Y-STRs in various Brazilian populations, including the Federal District, no more than 17 markers were analyzed. In this study, it was observed that of 201 included haplotypes, 200 were different and 199 were unique because 1 occurred twice. The haplotype diversity (probability that two randomly selected individuals have distinct haplotypes) and the discrimination capacity (ability to differentiate one individual from another) were 0.9999 and 0.995, respectively. The genetic diversity, haplotype and allele frequencies and the probability of haplotype matching was also reported. Moreover, the availability of haplotypes of 22 other states in online Y-STRs database YHRD (www.YHRD.org) enabled the comparison of genetic distances (R_{st}) of these populations in relation to the Federal District. Thus, the population of the Federal District was similar to the states of Goiás, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro

(European), Rio Grande do Sul, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Amazonas, Roraima, Rondônia and Amapá.

Keywords: Y Chromosome; Y-STR; Brasília; Federal District (Brazil); Population genetics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Localização cromossomal e unidade de repetição de mais 300 Y-STRs, os Y-STRs sublinhados são os que atendem as necessidades forenses (Adaptado por Hanson E.K. e Ballantyne J. 2006)

Figura 2 – Mapa do Brasil com os resultados do valor de P da comparação entre as populações estudadas com o Distrito Federal segundo AMOVA

Figura 3 – Gráfico da análise de coordenadas principais (PcoA) dos valores de Rst da tabela 6. Representação gráfica das distâncias genéticas entre todas as populações avaliadas neste estudo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Iniciadores utilizados nos multiplex 2 e 3, suas respectivas concentrações e marcações fluorescentes

Tabela 2 – Listagem das populações comparadas pela análise de variância molecular (AMOVA), com indicação da macrorregião a qual pertecem, estado, número de acesso no YHRD, e tamanho amostral

Tabela 3 – Distribuição do local de nascimento dos participantes e da população do Distrito Federal de acordo com o Censo de 2010

Tabela 4 - Frequência alélica para os 23 Y-STRs analisados, número de alelos encontrados (#) e diversidade gênica (DG)

Tabela 5 – Frequência haplotípica e haplótipos incluídos neste estudo considerando os 23 Y-STRs em 201 haplótipos analisados

Tabela 6 – Matriz com resultados do Rst (abaixo da diagonal) e o valor de P segundo o AMOVA (acima da diagonal) para os pares de populações incluídas na comparação (Distrito Federal e outros 22 estados brasileiros)

Tabela 7 - Resumo para os valores da probabilidade de coincidência haplotípica com a respectiva interpretação

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMOVA	Análise de variância molecular
CD	Capacidade de discriminação
Censo	Recenseamento demográfico ou socioeconômico de uma população pelo IBGE
DG	Diversidade gênica
DH	Diversidade haplotípica
GHEP/ISFG	Grupo Espanhol-Português da “International Society for Forensic Genetics”
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IP	Índice de paternidade
Mb	Megabases
PCH	Probabilidade de coincidência haplotípica
PcoA	Análise de coordenadas principais
PCR	Reação em cadeia da polimerase
STRs	Short Tandem Repeats
Rst	Razão estatística (medida de distância genética)
χ^2	Teste chi-quadrado
YHRD	Y Chromosome Haplotype Reference Database

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	BRASÍLIA E O DISTRITO FEDERAL	17
1.2	OS “SHORT TANDEM REPEATS”	17
1.3	O CROMOSSOMO Y	18
1.4	OS STRS DO CROMOSSOMO Y	19
1.5	CONJUNTOS DE Y-STRS RECOMENDADOS	21
1.5.1	Haplótipo mínimo	21
1.5.2	Haplótipo estendido	21
1.5.3	Haplótipo Y-Filer	21
1.5.4	Haplótipo 23 Y-STRs	22
1.6	MARCADORES SIMPLES E MULTICÓPIA	22
1.7	TAXAS DE MUTAÇÃO	23
1.8	PARÂMETROS FORENSES E DE PATERNIDADE RELATIVOS AOS Y-STRS	23
1.8.1	Frequência alélica e frequência haplotípica	23
1.8.2	Diversidade gênica (DG)	24
1.8.3	Diversidade haplotípica (DH)	25
1.8.4	Capacidade de discriminação (CD)	25
1.8.5	Probabilidade de coincidência haplotípica (PCH)	26
1.8.6	Índice de paternidade (IP)	26
1.9	BANCO DE DADOS DE HAPLÓTIPOS Y-STRS	27
1.10	ESTUDOS ENVOLVENDO Y-STR NO BRASIL E EM BRASÍLIA	28
1.11	ANÁLISE DE VARIÂNCIA MOLECULAR (AMOVA) – DISTÂNCIA GENÉTICA	28
1.12	SÍNTESE E CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
2	OBJETIVOS	30
2.1	OBJETIVO GERAL	30
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
3	METODOLOGIA	31
3.1	POPULAÇÃO ESTUDADA	31
3.2	AMOSTRAGEM DO BANCO DE DADOS	31
3.2.1	Critério de inclusão	31
3.2.2	Critério de exclusão	31
3.3	PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS NA ROTINA LABORATORIAL	32
3.3.1	Coleta da amostra	32
3.3.2	Extração	32
3.3.3	Amplificação por PCR	32
3.3.4	Eletroforese capilar	33
3.4	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	34
3.4.1	Teste de Chi-quadrado (χ^2)	34
3.4.2	Frequência alélica e haplotípica	34
3.4.3	Diversidade gênica (DG)	34
3.4.4	Diversidade haplotípica (DH)	34
3.4.5	Capacidade de discriminação (CD)	35

3.4.6	Probabilidade de coincidência haplotípica (PCH).....	35
3.4.7	Índice de paternidade (IP).....	35
3.4.8	Análise de Variância Molecular (AMOVA) – Distância Genética.....	36
3.5	EXIGÊNCIAS DAS REVISTAS FORENSES PARA PUBLICAÇÃO DE DADOS POPULACIONAIS..	37
3.6	ASPECTOS ÉTICOS	38
4	RESULTADOS	39
4.1	COMPARAÇÃO ENTRE A DISTRIBUIÇÃO DO LOCAL DE nascimento DA AMOSTRA POPULACIONAL EXTRAÍDA DO BANCO DE DADOS E DA POPULAÇÃO DO DISTRITO FEDERAL DE ACORDO COM O CENSO 2010.....	39
4.2	FREQUÊNCIA ALÉLICA E DIVERSIDADE GÊNICA	40
4.3	FREQUÊNCIA HAPLOTÍPICA	41
4.4	DIVERSIDADE HAPLOTÍPICA, CAPACIDADE DE DISCRIMINAÇÃO E PROBABILIDADE DE COINCIDÊNCIA HAPLOTÍPICA.....	46
4.4.1	Considerando-se o haplótipo mínimo (8 Y-STRs).....	46
4.4.2	Considerando-se o haplótipo estendido (10 Y-STRs).....	46
4.4.3	Considerando-se os 16 Y-STRs do kit Y-Filer	46
4.4.4	Considerando-se os 23 Y-STRs incluídos no estudo	46
4.4.5	Índice de paternidade (IP).....	47
4.5	DISTÂNCIA GENÉTICA DA POPULAÇÃO DO DISTRITO FEDERAL EM RELAÇÃO A OUTROS 22 ESTADOS BRASILEIROS.....	47
5	DISCUSSÃO.....	51
5.1	A AMOSTRA POPULACIONAL DO ESTUDO REPRESENTA A POPULAÇÃO DO DISTRITO FEDERAL.....	51
5.2	PARÂMETROS FORENSES	52
5.2.1	Frequência alélica e diversidade gênica.....	52
5.2.2	Diversidade e frequência haplotípica.....	53
5.2.3	Capacidade de discriminação.....	54
5.2.4	Probabilidade de coincidência haplotípica (PCH).....	55
5.2.5	Índice de paternidade (IP).....	55
5.3	DISTÂNCIA GENÉTICA.....	56
5.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
6	CONCLUSÃO	58
7	REFERÊNCIAS.....	59
	APÊNDICE I – PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA.....	66
	ANEXO I – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	73

1 INTRODUÇÃO

1.1 BRASÍLIA E O DISTRITO FEDERAL

O Brasil é um país continental dividido em cinco macrorregiões: Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul (1). O Distrito Federal e Brasília foram fundados em 21 de abril de 1960 baseado no desejo de transferir a capital federal do Rio de Janeiro para o centro do país. Ambos foram construídos em apenas 4 anos em um território anteriormente não povoado na região Centro-Oeste, como resultado dos esforços do presidente Juscelino Kubitschek em conjunto com o arquiteto Oscar Niemeyer, o urbanista Lúcio Costa, e milhares de trabalhadores civis conhecidos como "candangos" (2).

De acordo com o Censo 2010, a população do Distrito Federal é composta por 2.556.121 habitantes, 54% das pessoas nasceram localmente, e os 46% restantes são imigrantes das outras macrorregiões brasileiras: Norte (1,9%), Nordeste (23,6%), Centro-Oeste (6,4%), Sudeste (12,6%) e Sul (1,5%) (3). Segundo estas frequências e outras descrições da literatura, as principais migrações aconteceram da região Nordeste e Sudeste (4). Além disso, o Brasil foi colonizado por Portugal, e o processo de mistura entre o nativo americano, africano e europeu ocorreu em diferentes proporções nas cinco macrorregiões, o que torna a população brasileira heterogênea (1, 5-7). Assim, a população do Distrito Federal é nova, mista, formada a partir de populações heterogêneas, de rápido crescimento e instalada em um território artificial. O presente trabalho adiciona uma evidência genética às evidências históricas a respeito da formação desta população.

1.2 OS “SHORT TANDEM REPEATS”

Os “*short tandem repeats*” (STRs) ou microssatélites são sequências de DNA de 2 a 6 nucleotídeos que se repetem consecutivamente múltiplas vezes. Tais sequências representam cerca de 3% do genoma humano, são variáveis de pessoa para pessoas e transmitidas de forma mendeliana (8). Atualmente, são os marcadores de DNA mais utilizados na identificação humana e estudos de vínculo

genético. Por isso, são facilmente amplificados por PCR e apresentam ampla variabilidade genética, ou seja, são altamente polimórficos. Fato que diminui a probabilidade de que os indivíduos testados apresentem os mesmos alelos (8, 9). Por causa da sua aplicabilidade existem empresas que produzem kits para detecção de STR que possibilitam a análise simultânea de vários marcadores como especificado pelas sociedades forenses internacionais (8). Além disso, os STRs podem ser utilizados para avaliar a distância genética entre populações, fato que permite a elaboração de inferências sobre suas composições e origens (8).

1.3 O CROMOSSOMO Y

O cromossomo Y é específico do sexo masculino e constitutivamente haplóide. É transmitido de pai para filho e, diferentemente dos outros cromossomos, 95% do seu conteúdo não sofre recombinação meiótica. Dois segmentos (regiões pseudo-autossômicas) recombinam com o cromossomo X. Entretanto, estas regiões compreendem apenas 3 dos 60 Megabases (Mb) que constituem o cromossomo. Sua porção majoritária e não recombinante é chamada de região do Y específica masculina. Por escapar da recombinação, o conjunto de marcadores genéticos ao longo do cromossomo (haplótipos) é transmitido intacto de geração a geração. Eles mudam apenas por mutação, ao invés do complexo re-embaralhamento que os demais cromossomos experimentam na meiose. Assim, preservam o registro da sua história (10).

Três classes de sequências foram caracterizadas na porção não recombinante do cromossomo Y: X-transpostas, X-degeneradas e as amplicônicas (10). Dois blocos de sequências localizadas no braço curto do cromossomo Y com tamanho combinado de 3.4 Mb compõe a região X-transpostas. Estas sequências possuem 99% de homologia com outras presentes no cromossomo X, contém dois genes codificantes e não participam do “crossing-over” X-Y durante a meiose masculina. Os segmentos X-degenerados ocorrem em oito blocos localizados tanto no braço curto quanto no braço longo do cromossomo Y e juntos compreendem 8.6 Mb. Estes segmentos possuem 96% de identidade com sequências homólogas no cromossomo X, o que dificulta o desenvolvimento de ensaios específicos para o sexo masculino. As regiões amplicônicas compõe sete grandes blocos dispersos

pelo cromossomo Y e juntos compreendem 10.2 Mb (10). A maior parte destas regiões apresentam 99,9% de identidade intra-cromossomal, ou seja, são sequências repetitivas e palindrômicas (sequências idênticas, duplicadas e invertidas). Oito grandes palindromes coletivamente compõem 5.7 Mb do cromossomo e pelo menos seis delas contêm genes codificantes (10, 11).

1.4 OS STRS DO CROMOSSOMO Y

Quando o STR se localiza no cromossomo Y é denominado Y-STR. Devido a ausência de recombinação, os Y-STRs são herdados de forma haplotípica ao longo das gerações, ou seja, os indivíduos masculinos da mesma linhagem possuem conjuntos de Y-STRs iguais. Dessa forma, sua análise não identifica o indivíduo apenas aponta sua linhagem paterna (patrilinear) (8).

A tipagem de Y-STR é útil em diversas situações como análise de evidências forenses (8), investigação de vínculo genético (12), investigações históricas (13), estudo dos padrões de migrações (14), e pesquisas genealógicas (15). Resumidamente, o valor dos Y-STRs é evidenciado nas situações em que os STRs autossômicos são inconclusivos, como em alguns casos de estudo de vínculo genético *post-mortem*. E nas situações em que a amostra é uma mistura de DNA masculino e feminino, como nos vestígios de violência sexuais (8).

Inicialmente o número de Y-STRs caracterizados era limitado, apenas 20 (16). Atualmente, mais de 400 *loci* foram descritos, a maioria deles localizam-se nas regiões Yq11.221 (25,3%), Yq11.222, (16,6%), e Yq11.223 (18,4%) no braço longo e Yp11.2 (22,1%) no braço curto do cromossomo Y (Figura 1) (17), 120 deles são específicos do sexo masculino e suficientemente polimórficos para serem úteis nas análises forenses e genealógicas (18).

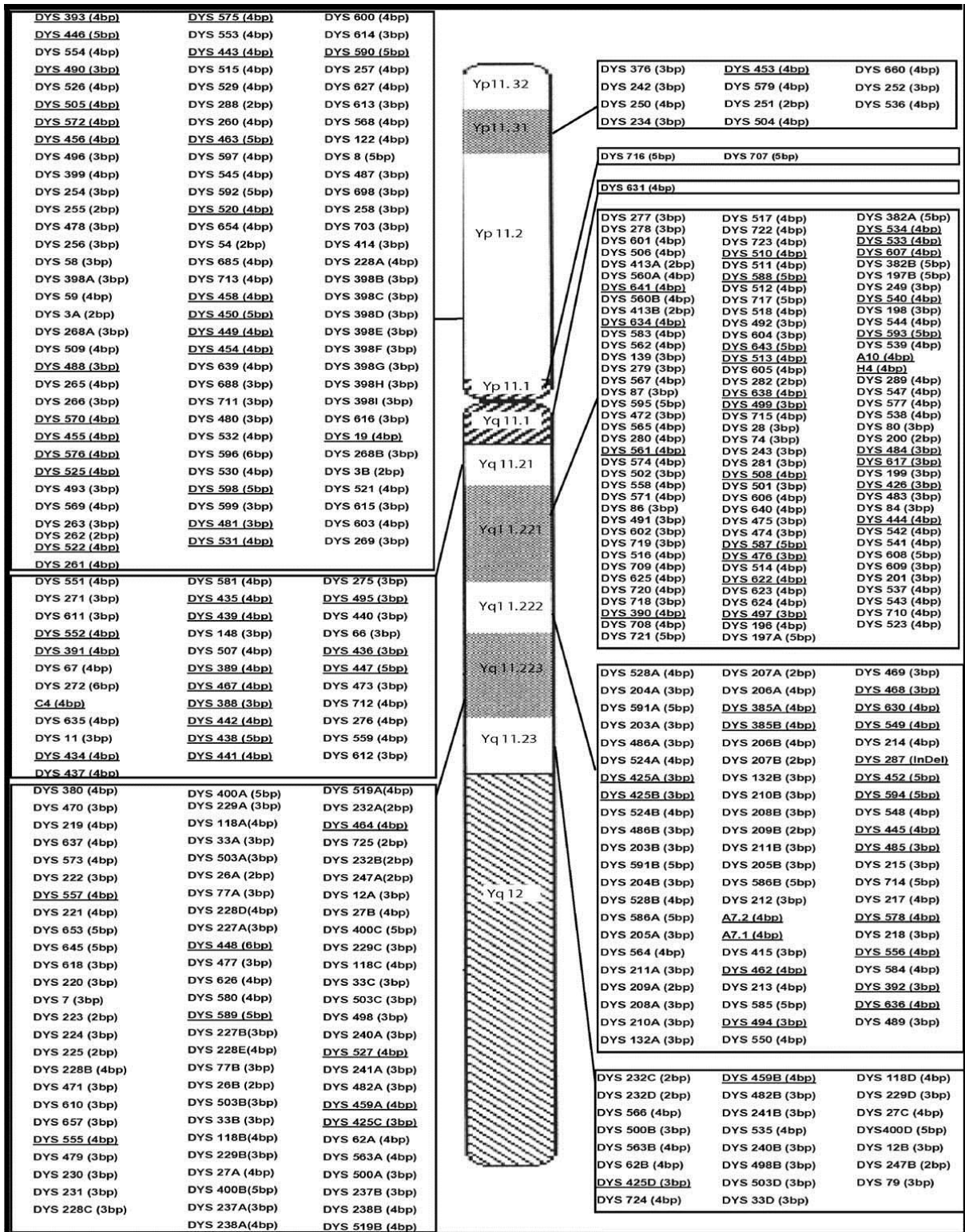


Figura 1 - Localização cromossomal e unidade de repetição de mais de 300 Y-STRs, os Y-STRs sublinhados são os que atendem as necessidades forenses (Adaptado por Hanson E. K. e Ballantyne J. 2006) - (17)

1.5 CONJUNTOS DE Y-STRS RECOMENDADOS

O uso de conjuntos padronizados de Y-STR é recomendado por facilitar a comparabilidade dos resultados entre os laboratórios e compatibilidade dos bancos de dados de haplótipos (19).

1.5.1 Haplótipo mínimo

O primeiro conjunto de Y-STR recomendado ficou conhecido como haplótipo mínimo e é constituído por 8 marcadores DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393 e DYS385 (8).

1.5.2 Haplótipo estendido

Em seguida, houve a necessidade de aumentar a capacidade de discriminação, assim, o haplótipo mínimo foi acrescido de dois marcadores (DYS438 e DYS439) (8). Este conjunto de 10 marcadores ficou conhecido com haplótipo estendido.

1.5.3 Haplótipo Y-Filer

Na década passada, com a disponibilidade dos kits comerciais o número de Y-STR genotipados simultaneamente aumentou e, conseqüentemente, a capacidade dos conjuntos em diferenciar os indivíduos. O Kit comercial Y-Filer® (Life Technologies) detecta 16 Y-STRs e existe o movimento em pró de se aumentar ainda mais o número de marcadores (20). O kit comercial Y-Filer® detecta os Y-STRs: DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, Y GATA H4, DYS437, DYS438, DYS448. Neste estudo, o haplótipo composto por estes marcadores é denominado haplótipo Y-Filer.

1.5.4 Haplótipo 23 Y-STRs

Atualmente, com a disseminação do uso dos Y-STRs, observou-se a necessidade de que haplótipos fossem compostos por uma quantidade ainda maior de Y-STRs com a finalidade de aumentar sua capacidade discriminatória e, assim, novamente, diminuir a probabilidade de coincidência haplotípica devido ao acaso (21).

Neste sentido, o kit PowerPlex Y23 (Promega), que genotipa 23 Y-STRs simultaneamente, foi lançado recentemente (22) e diversos pesquisadores descreveram conjuntos de Y-STRs complementares aos kits comerciais (20, 21, 23).

Assim, na rotina do laboratório Sabin, a fonte dos dados para o presente trabalho, os 16 Y-STRs do kit Y-Filer são suplementados com outros 7 (DYS522, DYS508, DYS632, DYS556, DYS570, DYS576 e DYS540) descritos por Asamura e colaboradores (23). No entanto, não existe descrição na literatura sobre os parâmetros forenses e de paternidade para este conjunto de Y-STRs, específico do laboratório supracitado, sendo este o principal objetivo deste trabalho. Denominou-se haplótipo 23 Y-STRs quando todos os marcadores avaliados estavam incluídos na análise. São eles: DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, Y GATA H4, DYS437, DYS438, DYS448, DYS522, DYS508, DYS632, DYS556, DYS570, DYS576 e DYS540.

1.6 MARCADORES SIMPLES E MULTICÓPIA

A maioria dos Y-STRs utilizados pelas comunidades forenses são de cópia simples e possuem apenas um alelo. No entanto, devido as regiões duplicadas e palindrômicas mencionadas anteriormente, alguns *loci* ocorrem mais de uma vez e quando amplificados com iniciadores de PCR *locus*-específicos produzem mais de um produto de PCR. Este fato pode causar confusão ao contar o número de *loci* presente em um haplótipo. Já que, um único par de “primers” podem produzir dois “amplicons” (8, 24).

Este é o caso do DYS385. Este marcador está presente em duas regiões no braço longo do cromossomo Y, que se localizam a 40.000 pares de base um do outro e sua análise pode gerar dois alelos distintos. Ambos alelos são considerados na análise, assim o resultado se assemelha a um genótipo, no entanto para a

contagem de Y-STRs que compõe o haplótipo considera-se o DYS385 como um único *locus* (8).

O *locus* DYS389 pode gerar dois produtos de PCR com um único par de “primers”, entretanto, por motivo diferente do DYS385. Neste caso, o produto de PCR DYS389 I é um subconjunto do DYS389 II porque o “primer forward” é complementar à duas regiões separadas por 120 pares de bases. O “primer reverse” possui um único sitio de ligação. Assim, são gerados dois produtos de PCR e, como ambas regiões amplificadas possuem sequencias polimórficas independentes, considera-se o DYS389 como dois Y-STRs (DYS389I e DYS389II) (8).

Ademais, alguns *locus* considerados cópia simples podem gerar resultados multicópia pelo fato do indivíduo estudado apresentar uma duplicação que não é observada para a maioria da população (24).

1.7 TAXAS DE MUTAÇÃO

A variabilidade dos Y-STRs é gerada por mutações, a expansão da sequência repetitiva é mais frequente que a contração e os alelos maiores tendem a se alterar com mais frequência que os menores. A maioria das alterações envolvem expansão ou contração de uma única repetição e ocorrem com uma taxa média de $1,998 \times 10^{-3}$ por geração, similar à taxa observada para os STRs autossômicos (25).

1.8 PARÂMETROS FORENSES E DE PATERNIDADE RELATIVOS AOS Y-STRS

1.8.1 Frequência alélica e frequência haplotípica

É a frequência relativa de um alelo ou haplótipo em uma população. São calculadas usando o método de contagem direta, dividindo o número de cópias de um alelo ou haplótipo na população estudada sobre o total de alelo ou haplótipo encontrados (8). Por exemplo, no marcador DYS448 os alelos encontrados na população foram os 18, 19, 20 e 21. O alelo 18 ocorreu 16 vezes em um total de 201. Assim, sua frequência é $16/201$ (0,0796). O mesmo é feito para os haplótipos e têm-se a frequência haplotípica. Para a frequência haplotípica pode-se considerar o haplótipo mínimo, estendido, Y-Filer ou 23 Y-STRs.

A partir das frequências alélicas e haplotípicas calculam-se os demais parâmetros forenses relativos aos Y-STRs.

1.8.2 Diversidade gênica (DG)

A diversidade gênica é a probabilidade de que dois indivíduos escolhidos ao acaso a partir da população tenham alelos distintos. É equivalente a heterozigose esperada para os STRs autossômicos (8, 26) e significa que quanto mais diverso (polimórfico) for o marcador analisado, mais informativo ele é.

É calculado da seguinte maneira:

DG = probabilidade de que dois indivíduos selecionados ao acaso tenham alelos distintos para um determinado *locus*.

Ou seja, $1 - DG$ = a probabilidade de que dois indivíduos escolhidos ao acaso tenham alelos iguais para um determinado *locus*.

A chance de encontrar ao acaso dois indivíduos com alelos iguais ($1 - DG$) é igual à frequência do alelo ao quadrado (Freq. Alélica x Freq. Alélica), pois é a chance de se encontrar um alelo (Freq. Alélica) e, em seguida, encontrar ele novamente (Freq. Alélica).

O somatório de todas as frequências alélicas ao quadrado representa a chance combinada para todos os alelos possíveis ($\sum \text{Freq. Alélicas}^2$), ou seja, para o *locus*.

$\sum \text{Freq. Alélicas}^2$ = Soma das frequências alélica ao quadrado (Freq. Alelo 1² + Freq. Alelo 2² + Freq. Alelo 3² + Freq. Alelo 4² + + Freq. Alelo N²).

E em seguida, o valor obtido é aplicado em uma fórmula de correção para o tamanho da amostra ($N / N-1$). Onde, N = Número de indivíduos analisados.

Assim, $DG = N / (N-1) \times (1 - \sum \text{Freq. Alélicas}^2)$.

1.8.3 Diversidade haplotípica (DH)

A diversidade haplotípica é o principal parâmetro analítico de um conjunto de Y-STRs, pelo fato de não haver recombinação no cromossomo Y e os marcadores serem transmitidos na forma de haplótipo. Trata-se da probabilidade de que dois indivíduos selecionados ao acaso possuam haplótipos distintos (26). O cálculo é idêntico ao da diversidade gênica descrito anteriormente. No entanto, usa-se a frequência haplotípica em substituição às frequências alélicas.

$$DH = N/(N-1) \times (1 - \sum \text{Freq. Haplotípicas}^2)$$

Nesta análise, os marcadores podem ser analisados no formato de haplótipo mínimo, estendido, Y-Filer ou 23 Y-STRs. Espera-se que a DH aumente com os números de Y-STRs incluídos no haplótipo.

1.8.4 Capacidade de discriminação (CD)

É a capacidade de discriminar um indivíduo do outro. É determinada dividindo o número total de haplótipos diferentes pelo número total de indivíduos analisados (27).

Exemplo 1. $201/201 = 1$;

Exemplo 2. $200/201 = 0,995$;

Exemplo 3. $194/201 = 0,965$;

Exemplo 4. $185/201 = 0,920$;

Este valor quanto mais próximo de “1” maior a quantidade de haplótipos distintos, conseqüentemente, maior a capacidade de diferenciar indivíduos. Espera-se obter maior CD ao aumentar o número de Y-STRs analisados, ao utilizar Y-STRs com maior diversidade gênica ou ambos (8, 27). Nesta análise, os marcadores podem ser considerados nos quatro formatos de haplótipo incluídos neste estudo.

1.8.5 Probabilidade de coincidência haplotípica (PCH)

Representa a probabilidade de encontrar haplótipos idênticos em dois homens selecionados de forma independente e aleatória. Trata-se do inverso da probabilidade de encontrar dois haplótipos diferentes ao acaso, ou seja, é a probabilidade inversa da DH descrita anteriormente. Assim, $PCH = 1 - DH$ (8, 27). Nesta análise, os marcadores podem ser considerados nos quatro formatos de haplótipo incluídos neste estudo.

1.8.6 Índice de paternidade (IP)

Em muitos laboratórios a análise de Y-STR é qualitativa devido ao conhecimento prévio que o haplótipo do Pai é idêntico ao dos seus filhos biológicos. Entretanto, é recomendado pelas comunidades forenses que seja acrescentada uma probabilidade de coincidência à evidência genética (28). Neste sentido, diante de uma inclusão (coincidência em todos os Y-STRs analisados) é necessário calcular o índice de paternidade (IP). No caso dos Y-STRs, o IP é calculado pela fórmula $IP = X/Y$, onde X é a probabilidade do indivíduo analisado seja o pai verdadeiro (100% ou 1) e Y é a probabilidade de qualquer outro homem seja o pai verdadeiro (frequência do haplótipo na população). Ademais, a frequência haplotípica é dependente do número de indivíduos incluídos na “database” e do número de Y-STRs presente em cada haplótipo. Neste trabalho, o tamanho amostral foi 201. Assim, se um haplótipo ocorreu uma vez sua frequência é 1/201 (0,005) e o IP nesta situação seria $1/0,005 = 201$, justamente o tamanho amostral. A partir do IP calcula-se a probabilidade de paternidade pela fórmula $IP/IP+1$ (29, 30), que neste caso seria $201/202 = 0,9950$ (99,50%). Assim, o cálculo do IP e da probabilidade de paternidade para Y-STRs é dependente do tamanho da base de dados disponível.

Para os STRs autossômicos o IP mínimo aceitável é 10.000 que resulta em uma probabilidade de 99,99% de chance de paternidade. Para os Y-STRs este valor ainda não foi definido, pois os Y-STRs informam apenas a linhagem patrilinear e, caso seja considerado o mesmo critério dos STRs autossômicos (99,99%), o banco de dados deve conter 10.000 haplótipos únicos da população local. Neste sentido,

seria necessário a existência de um banco de dados com um enorme volume de informações (haplótipos) da população do local onde o laboratório executa o exame e/ou de haplótipos de populações estatisticamente semelhantes a ela. Assim, determinar quais populações são estatisticamente semelhantes a do Distrito Federal nos banco de dados de haplótipos internacionais seria uma solução para o problema supracitado e os índices de paternidade para Y-STRs poderiam atingir valores de 99,99%.

Os critérios de exclusão de paternidade para Y-STRs são os mesmos dos STRs autossômicos, ou seja, três diferenças entre os haplótipos são necessárias para excluir o suposto pai da hipótese de ser o pai verdadeiro. No caso de uma ou duas diferenças o caso é considerado inconclusivo e probabilidade de mutação é investigada. Diante de uma mutação, a formula para calcular o IP é $IP = 0,5\mu/Y$ onde μ = taxa de mutação do marcador mutado e o Y é a frequência do perfil do filho na população (12).

1.9 BANCO DE DADOS DE HAPLÓTIPOS Y-STRS

O Lutz Roewer juntamente com Sascha Willuweit fundaram e mantêm desde 2000 um banco de dados mundial para haplótipos de cromossomo Y (YHRD - Y Chromosome Haplotype Reference Database) que pode ser acessado no site www.yhrd.org. Em setembro de 2013 o banco de dados possuía mais de 115.000 haplótipos de 851 regiões em 113 países, incluído o Brasil. Ele suporta os formatos de haplótipo mínimo, haplótipo estendido, PowerPlex Y (Promega), AmpFISTR Yfiler (Life Technologies) e PowerPlex Y23 (promega). O haplótipo mínimo é o formato que se encontra com maior representatividade. Além disso, no YHRD é possível pesquisar frequência de um haplótipo específico, executar a Análise de Variância Molecular (AMOVA), utilizada para investigar a distância genética entre duas ou mais populações, e outras análises específicas para Y-STRs (31).

1.10 ESTUDOS ENVOLVENDO Y-STR NO BRASIL E EM BRASÍLIA

A descrição de dados populacionais sobre Y-STRs no Brasil é relativamente frequente e diversos estados tiveram suas populações estudadas. A grande diferença entre os estudos é o número de marcadores incluídos, nenhum estudo brasileiro avaliou mais do que 16 Y-STRs (32-41). A maioria destes dados estão disponíveis para análise no YHRD, pois o envio para a “database” mundial é uma exigência das revistas forenses.

Em julho de 2013, o polimorfismo genético dos Y-STRs incluídos no kit comercial Y-Filer® (Haplótipo Y-Filer) foi descrito para a população do Distrito Federal (n=300) (42). A amostragem do estudo era de conveniência (doadores de banco de sangue) e do total 290 haplótipos eram diferentes, 280 eram únicos, pois 10 ocorreram duas vezes. Estes resultados indicaram uma DH de 0.9997. Valores similares foram obtidos para o Y-Filer em outros estudos, Brasil como um todo, n= 500, DH = 0.9998 (43), Rio Grande do Sul, n= 255, DH = 0,9998 (44), Santa Catarina, n = 109, DH = 0,9990 (45, 46).

No presente trabalho, espera-se que os parâmetros forenses para o haplótipo Y-Filer sejam semelhantes aos já descritos, inclusive para a população do Distrito Federal, e que estes sejam superados pelo haplótipo 23 Y-STRs.

1.11 ANÁLISE DE VARIÂNCIA MOLECULAR (AMOVA) – DISTÂNCIA GENÉTICA

Baseando-se na comparação de Y-STRs homólogos entre duas ou mais populações é possível estimar a distância genética entre elas. Isto é útil para esclarecer as relações evolutivas entre populações (47).

O R_{st} é uma medida de distância genética, e quanto menor o seu valor, que inclusive pode ser negativo, maior a similaridade entre as populações. Trata-se da razão entre a variância genética das duas populações comparadas e a variância genética de toda a espécie (as duas populações em conjunto). Variância é uma medida da quantidade de variação em torno de um valor médio. Essa variância genética é derivada da distância evolutiva entre os haplótipos (tempo de coalescência). O tempo de coalescência é uma estimativa de tempo desde o último ancestral comum para os dois haplótipos (48).

A análise de variância molecular (AMOVA) é uma ferramenta utilizada para comparar distâncias genéticas geradas a partir de dados haplóides, como o Rst. Sua função é avaliar a significância entre valores de Rst. Com o AMOVA é possível avaliar e quantificar a extensão da diferença entre duas ou mais amostras populacionais. O método está implantado como uma ferramenta *on-line* no YHRD sendo possível estimar tanto o Rst (distância genética) quanto o AMOVA (valor de P) (www.yhrd.org) (49).

Para facilitar a interpretação dos resultados do Rst, utiliza-se uma representação gráfica chamada de análise das coordenadas principais (PCoA), detalhes sobre o PCoA constam na seção materiais e métodos desta dissertação.

Assim, a população do Distrito Federal foi comparada com as de outros 22 estados brasileiros com a finalidade de estimar as distâncias genéticas entre elas e produzir uma evidência genética a respeito da formação da população do Distrito Federal.

1.12 SÍNTESE E CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo avalia o polimorfismo genético e os parâmetros forenses de 23 Y-STRs na população do Distrito Federal. Sua importância reside no fato de nenhum outro estudo no Brasil ter analisado mais do que 16 Y-STRs. Ademais, a população do Distrito Federal é nova, mista, formada a partir de migrações e instalada em um território artificial. Os haplótipos de Y-STRs obtidos serão utilizados para investigar a distância genética da população avaliada em relação a outros estados brasileiros.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o polimorfismo genético e os parâmetros forenses e de paternidade de 23 *loci* Y-STRs na população do Distrito Federal do Brasil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever as frequência haplotípicas e alélicas dos marcadores DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, Y GATA H4, DYS437, DYS438, DYS448, DYS522, DYS508, DYS632, DYS556, DYS570, DYS576 e DYS540 em uma amostra populacional do Distrito Federal do Brasil.
- Descrever a diversidade haplotípica, a diversidade gênica, a capacidade de discriminação, a probabilidade de coincidência haplotípica para os *loci* analisados, os índices de paternidade e a probabilidade de paternidade.
- Avaliar a distância genética da população do Distrito Federal em relação à outros estados brasileiros.

3 METODOLOGIA

3.1 POPULAÇÃO ESTUDADA

Neste estudo foram analisados indivíduos que residiam na população do Distrito Federal e realizou estudo de vínculo genético em um laboratório de análises clínicas do Distrito Federal (Laboratório Sabin) entre Maio de 2011 e Agosto de 2013 e houve a necessidade de tipagem de Y-STR para resolução do caso. Assim, trata-se de uma amostragem de conveniência. Durante o período foram realizados 2780 estudos de vínculo genético (7506 pessoas envolvidas) e a análise de Y-STR é realizada quando solicitada, nos casos envolvendo suposto pai falecido (*post-mortem*), casos convencionais com poucas exclusões e casos que necessitem de confirmação de exclusões (controles internos do laboratório).

3.2 AMOSTRAGEM DO BANCO DE DADOS

Todos os perfis de Y-STRs gerados entre Maio de 2011 e Agosto de 2013 foram recuperados do banco de dados de resultados e os critérios de inclusão e exclusão foram aplicados. Ao final, 201 haplótipos foram analisados.

3.2.1 Critério de inclusão

Residir no Distrito Federal e constar na documentação relativa ao caso o local de nascimento.

3.2.2 Critério de exclusão

Possuir parentesco comprovado com algum indivíduo já incluído no estudo (Foram excluídos os indivíduos do mesmo caso que continham perfis de Y-STRs iguais a do familiar já incluído no estudo).

3.3 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS NA ROTINA LABORATORIAL

3.3.1 Coleta da amostra

Para a análise de parentesco na rotina, amostras de sangue são coletadas a partir da punção da ponta de dedo anelar em um cartão de papel Whatman® FTA™.

3.3.2 Extração

Uma perfuração de 1,2 mm de diâmetro é feita no cartão de papel Whatman® FTA™ contendo o sangue dos participantes. O perfurador utilizado é o *Harris Micro Punch* (Whatman). Em seguida, o disco do papel retirado é depositado em tubo de PCR e lavado com FTA reagente (Whatman) e água livre de DNA/RNase seguindo o protocolo do fabricante (50). Após as lavagens, o disco de papel purificado que contém 0.5–1.0 ng de DNA é utilizado diretamente na reação de PCR.

3.3.3 Amplificação por PCR

São necessários três reações em multiplex para amplificação dos 23 Y-STRs e assim obter um haplótipo com alto poder discriminatório. O primeiro multiplex utilizado é comercial (AmpFLSTR® Yfiler® PCR - Life Technologies) e amplifica os marcadores DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, Y GATA H4, DYS437, DYS438, DYS448. Esta reação é executada como recomendado pelo fabricante (51) em um termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Life Technologies). O segundo e o terceiro multiplex foram descritos por Asamura e colaboradores (23) e amplificam os marcadores DYS522, DYS508, DYS632, DYS556, DYS570, DYS576 e DYS540. Resumidamente, consistiam em 0.5 µl da mistura de iniciadores (vide tabela 2), 6.5 µl de Maxima Probe qPCR master mix (Fermentas), um disco de 1,2 mm contendo o DNA e volume final de 10 µl ajustado com água DNase/RNase-free (Fermentas). As condições de termociclagem são: pré-incubação de 10 minutos a 95°C, 30 ciclos de 15 segundos a 95°C, 30 segundos a 60°C, uma extensão final de 20 minutos a

60°C. A reação de PCR é realizada em um termociclador TC-3000 (Techne). A sequência dos iniciadores, suas respectivas concentrações e a descrição de quais Y-STRs cada multiplex contém podem ser evidenciadas na tabela 1. Todos os iniciadores foram sintetizados pela Life Technologies.

Tabela 1 - Iniciadores utilizados nos multiplex 2 e 3, suas respectivas concentrações e marcações fluorescentes

Y-STR	Iniciador	Concentração	Marcação
Multiplex 2			
DYS522	5'-TGGATAGACATAGGTGACAGATGAT-3' 5'-GTTTCTTGGAACCTCATGGTGGACATC-3'	1.0 µM	FAM
DYS508	5'-CCCAAATTCCAGCTTATTATTCC-3' 5'-GTTTCTTAGGTGATAGATGATATGCAGAGAGT-3'	0.6 µM	VIC
DYS632	5'-TGGTTAAGGGCAAACCATT-3' 5'-GTTTCTTTCTGGGCAACAGAAGGAGA-3'	0.6 µM	NED
DYS556	5'-GCCAAAACAATACTAGGCCAAAAAT-3' 5'-GTTTCTTGTTAGTGTAATGCATCCAGCA-3'	1.4 µM	PET
Multiplex 3			
DYS570	5'-GCTGTGTCCTCCAAGTTCCT-3' 5'-GTTTCTTGCTGAAATGCAGATATTCCCTA-3'	1.0 µM	FAM
DYS576	5'-GCAAGACCTCATCTCTGAATAAAAAG-3' 5'-GTTTCTTGCGTATTTGTCTTGGCTTTTTTC-3'	1.0 µM	VIC
DYS540	5'-CCCGGGTCCTATACTCATTATT-3' 5'-GTTTCTTCAACCTGGGCTACAGAGACA-3'	1.4 µM	PET

3.3.4 Eletroforese capilar

Os produtos de PCR foram separados e detectados em um analisador genético 3500. Um microlitro da amostra amplificada foi adicionados a 8.5 µl de formamida Hi-Di e 0.5 µl de 600 LIZ GeneScan. As condições de electroforese são: 15 segundos de tempo de injeção, 1.2 Kilovolts para voltagem de injeção, 15 Kilovolts para voltagem de corrida, tempo de execução de 20 minutos a 60°C. O conjunto de fluorescências utilizado é o G5 (FAM, VIC, NED, PET e LIZ). Os dados brutos são analisados com o software GeneMapper® ID-X v.1.2 e um limite de detecção 200 Unidades Relativas de Fluorescência (RFU) é usado para identificação dos pico relativos aos Y-STRs. Todos os produtos e reagentes deste item são fabricados pela Life Technologies.

3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

3.4.1 Teste de Chi-quadrado (χ^2)

É um teste que possui o propósito de avaliar as diferenças entre as frequências de dois grupos a fim de observar se esses grupos se comportam de forma semelhante (52). Esse teste foi utilizado para verificar se a amostragem utilizada neste estudo é representativa da população estudada. Foi calculado utilizando o software GraphPad Prism (6.0) (53).

3.4.2 Frequência alélica e haplotípica

É a frequência relativa de um alelo ou haplótipo numa população. Foram calculadas usando o método de contagem direta pelo Microsoft Excel 2011 (vide introdução).

3.4.3 Diversidade gênica (DG)

É a probabilidade de que dois indivíduos escolhidos ao acaso a partir da população tenham alelos distintos (DG). Foi calculada pela fórmula $DG = N / (N-1) \times (1 - \sum \text{Freq. Alélicas}^2)$. Neste trabalho, diversidade gênica para os *loci* avaliados foi calculada utilizando o software Arlequin 3.5 (54).

3.4.4 Diversidade haplotípica (DH)

É a probabilidade de que dois indivíduos escolhidos ao acaso possuam haplótipos distintos (26). O cálculo é idêntico a diversidade gênica descrito anteriormente. No entanto, usa-se a frequência haplotípica em substituição às frequências alélicas $DH = N/(N-1) \times (1 - \sum \text{Freq. Haplotípicas}^2)$. Neste trabalho, diversidade haplotípica para os *loci* avaliados no formato mínimo, estendido, Y-Filer e 23 Y-STRs foram calculados utilizando a planilha HaPYDive (www.portugene.com) (55).

3.4.5 Capacidade de discriminação (CD)

É a capacidade do conjunto de Y-STR diferenciar um indivíduo do outro. Foi determinada dividindo o número total de haplótipos diferentes pelo número total de indivíduos na população analisada. A CD foi calculada para todos os formatos de haplótipo incluídos neste estudo (mínimo, estendido, Y-Filer e 23 Y-STRs) (27).

Ex 1. $201/201 = 1$;

Ex 2. $200/201 = 0,995$;

Ex 3. $194/201 = 0,965$;

Ex 4. $185/201 = 0,920$;

3.4.6 Probabilidade de coincidência haplotípica (PCH)

Representa a probabilidade de encontrar haplótipos idênticos em dois homens selecionados ao acaso. Foi calculado por $PCH = 1 - DH$ (8, 27). A PCH foi calculada para todos os formatos de haplótipos incluídos neste estudo.

3.4.7 Índice de paternidade (IP)

O índice de paternidade (IP) foi calculado pela fórmula $IP = X/Y$, onde X é a probabilidade do indivíduo analisado seja o pai verdadeiro (100% ou 1) e Y é a probabilidade de qualquer outro homem seja o pai verdadeiro (frequência do haplótipo na população).

A frequência haplotípica é dependente do número de indivíduos incluídos na “database” e do número de Y-STRs presente em cada haplótipo. Se o tamanho amostral for 201 e o haplótipo ocorreu uma vez sua frequência é $1/201$ (0,005) e o IP nesta situação seria $1/0,005 = 201$. Se o haplótipo ocorrer duas vezes sua frequência é $2/201 = 0,01$, $IP = 100$. A partir do IP calcula-se a probabilidade de paternidade pela fórmula $IP/IP+1$ (29). No caso do haplótipo ocorrer uma e duas

vezes a probabilidade seria $201/202 = 0,9950$ (99,50%) e $100/101 = 0,99$ (99%), respectivamente.

3.4.8 Análise de Variância Molecular (AMOVA) – Distância Genética

O cálculo do Rst e do AMOVA foram executados através da ferramenta implantada *on-line* no YHRD. A calculadora retorna os valores de Rst entre as populações e o valor de P como teste de significância baseado em 10.000 permutações (www.yhrd.org) (49).

Os valores de Rst referentes a comparação de diversas populações são de difícil interpretação, assim, utiliza-se uma ferramenta chamada de análise de coordenadas principais (PCoA) para facilitar a interpretação destes resultados. O gráfico referente ao PCoA deste estudo foi gerado a partir da matriz de resultados de Rst através do YHRD com a finalidade de traçar um mapa multidimensional dos resultados. Cada ponto neste tipo de gráfico se refere a uma população. E a interpretação é feita pela distância entre os pontos, quanto mais próximo um ponto do outro maior a proximidade genética. O gráfico possui quatro quadrantes e a intersecção entre os eixos corresponde ao ponto zero. O software GenAlEx v.6.5 foi utilizado para gerar o gráfico PCoA.

O AMOVA foi executado no formato de haplótipo mínimo para que os números de populações comparadas fossem maior devido a disponibilidade de dados no YHRD (56). Pois, nem todas as populações foram depositadas no banco com haplotipos de Y-STR extensos como os descritos neste trabalho. Por exemplo, a população do estado de Alagoas era possível ser analisada apenas no formato de haplótipo mínimo.

Assim, a população do Distrito Federal foi comparada com as de outros 22 estados brasileiros listadas na tabela 2. Duas populações do Rio de Janeiro foram consideradas, Rio de Janeiro (Europeu) e Rio de Janeiro (Africano) conforme os dados depositados no YHRD.

Tabela 2 – Listagem das populações comparadas pela análise de variância molecular (AMOVA), com indicação da macrorregião a qual pertencem, estado, número de acesso no YHRD, e tamanho amostral

Macrorregião	População, número de acesso, número de haplótipos
Norte	Amazonas – AM, YA003528, n= 77
	Acre – AC, YA003530, n= 31
	Rondônia – RO, YA003575, n= 139
	Pará – PA, YA003525, n= 400
	Roraima – RR, YA003526, n= 67
	Amapá – AP, YA003689, n= 197
	Tocantins – TO, YA003529, n= 30
Nordeste	Maranhão – MA, YA003707, n= 140
	Ceará – CE, YA003844, n= 101
	Paraíba – PB, YA003784, n= 300
	Pernambuco – PE, YA003710, n= 30
	Alagoas – AL, YA003648, n= 247
	Bahia – BA, YA003616, n= 205
Sudeste	Minas Gerais – MG, YA003708, n= 200
	Espirito Santo – ES, YA003849, n= 357
	São Paulo – SP, YA003142/ YA003128, n= 567
	Rio de Janeiro – RJ (Africano), YA003267, n= 235
	Rio de Janeiro – RJ (Europeu), YA003266, n= 245
Sul	Paraná – PR, YA003709, n= 77
	Rio Grande do Sul – RS, YA003462, n= 255
Centro-Oeste	Mato Grosso do Sul – MS, YA003706, n= 50
	Goiás – GO, YA003705, n= 93

3.5 EXIGÊNCIAS DAS REVISTAS FORENSES PARA PUBLICAÇÃO DE DADOS POPULACIONAIS

Para o aceite de dados populacionais envolvendo STR, as revistas forenses exigem que o laboratório tenha participado com sucesso dos ensaios de proficiência

externo como o oferecido pelo Grupo Espanhol-Português da “International Society for Forensic Genetics” (GHEP/ISFG). Além disso, no caso de Y-STR os haplótipos e informações relativas a população estudada devem ser depositados no “Y-Chromosome Haplotype Reference Database” (YHRD-www.yhrd.org) (49, 57). Os dados deste trabalho foram depositados no YHRD com o número de acesso YA003843.

3.6 ASPECTOS ÉTICOS

O Comitê de Ética da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília aprovou este estudo e dispensou a necessidade do termo de consentimento livre e esclarecido (protocolo 165/12) por se tratar de um estudo envolvendo análise de banco de dados (Anexo I).

4 RESULTADOS

4.1 COMPARAÇÃO ENTRE A DISTRIBUIÇÃO DO LOCAL DE NASCIMENTO DA AMOSTRA POPULACIONAL EXTRAÍDA DO BANCO DE DADOS E DA POPULAÇÃO DO DISTRITO FEDERAL DE ACORDO COM O CENSO 2010

Na amostragem deste trabalho, 50,25% (n=101) dos indivíduos eram nativos do Distrito Federal e 49,75% (n=100) imigraram das macrorregiões brasileiras. A distribuição completa do local de nascimento de todos os participantes é dada na Tabela 3, onde observou-se que não houve diferença entre a distribuição da amostragem com a distribuição de acordo com o Censo 2010 (3), $p=0,735$.

Tabela 3 - Distribuição do local do nascimento dos participantes e da população do Distrito Federal de acordo com o Censo de 2010

	Este Trabalho	%	Censo 2010	%
Centro-Oeste	17	8,46	164.215	6,4
Nordeste	50	24,88	602.104	23,6
Norte	5	2,49	47.783	1,9
Sudeste	26	12,94	321.368	12,6
Sul	2	1,00	38.634	1,5
Distrito Federal	101	50,25	1.382.017	54,0
Total	201	100	2.556.121	100

$$\chi^2 = 2,771, \text{ graus de liberdade} = 5, p=0,735$$

4.2 FREQUÊNCIA ALÉLICA E DIVERSIDADE GÊNICA

A tabela 4 descreve as frequências alélicas e a diversidade gênica para os 23 Y-STRs avaliados neste trabalho. Os cinco *loci* mais polimórficos foram o DYS385 (0,8955), DYS576 (0,7665), DYS458 (0,7648), DYS570 (0,7518) e DYS389II (0,7442). Os cinco *loci* menos polimórficos foram o DYS556 (0,4392), DYS393 (0,4750), DYS632 (0,4963), DYS540 (0,5092) e DYS391 (0,5436).

Tabela 4 – Frequência alélica para os 23 Y-STRs analisados, número de alelos encontrados (#) e diversidade gênica (DG)

Alelo	DYS456	DYS389I	DYS390	DYS389II	DYS458	DYS19	DYS393	DYS391	DYS439	DYS635	DYS392	GATA_H4	DYS437	DYS438	DYS448	DYS522	DYS508	DYS632	DYS556	DYS570	DYS576	DYS540	Genótipo	DYS385	Genótipo	DYS385	
7														0.0050									08,15	0.0050	16,16	0.0100	
8								0.0050						0.0050			0.0050	0.4229					09,16	0.0050	16,17	0.0050	
9								0.0398	0.0100					0.0846			0.0199	0.5721			0.0050		10,13	0.0050	16,18	0.0249	
10		0.0050						0.5572	0.0597			0.0299		0.2935		0.2935	0.2189	0.0050				0.0100	10,14	0.0199	16,19	0.0050	
10,11									0.0050														10,15	0.0050	17,18	0.0199	
10,12									0.0050														10,16	0.0050	18,18	0.0050	
11		0.0100					0.0050	0.3831	0.3333		0.3582	0.3433		0.0945		0.3781	0.5323		0.7065			0.3134	11,11	0.0050			
12		0.2090				0.0100	0.1294	0.0149	0.4527		0.0498	0.5423		0.4975		0.2090	0.1791		0.2488			0.6269	11,12	0.0100			
13	0.0348	0.6020				0.1393	0.6965		0.1194		0.5224	0.0846	0.0050	0.0199		0.1045	0.0199		0.0448			0.0448	11,13	0.0199			
14	0.1144	0.1692			0.0100	0.5373	0.1592		0.0100		0.0498		0.3184			0.0050	0.0199			0.0050	0.0100		11,14	0.2836			
15	0.4428	0.0050			0.0945	0.2338	0.0100		0.0050		0.0100		0.5025			0.0100	0.0050				0.0149	0.0348		11,15	0.1045		
15,16														0.0050									11,16	0.0050			
16	0.2985				0.2886	0.0547					0.0100		0.1642								0.0846	0.1393		12,12	0.0199		
17	0.0945				0.3035	0.0249							0.0050								0.3582	0.2289		12,13	0.0149		
17,2					0.0050																		12,14	0.0448			
18	0.0149				0.2289										0.0796						0.3184	0.3781		12,15	0.0348		
18,2					0.0050																		12,16	0.0199			
19					0.0448										0.5224						0.0995	0.1343		12,17	0.0100		
19,2					0.0050																		13,13	0.0100			
20					0.0100					0.0398					0.2239						0.0597	0.0547		13,13,2	0.0050		
21			0.0448		0.0050					0.2139					0.1741						0.0199	0.0149		13,14	0.0647		
22			0.1294							0.1194											0.0299	0.0050		13,15	0.0249		
23			0.2189							0.5224											0.0050			13,16	0.0249		
24			0.4975							0.0796											0.0050			13,17	0.0299		
25			0.0746							0.0249													13,18	0.0100			
26			0.0299	0.0149																			14,14	0.0498			
27				0.0299																			14,15	0.0249			
28			0.0050	0.1692																			14,16	0.0050			
29				0.3781																			14,17	0.0249			
30				0.2687																			15,15	0.0100			
31				0.1194																			15,16	0.0249			
32				0.0199																			15,18	0.0050			
#	6	6	7	7	11	6	5	5	9	6	6	4	6	7	4	6	8	3	3	11	9	5		38			
DG	0.6948	0.5680	0.6827	0.7442	0.7648	0.6367	0.4750	0.5436	0.6692	0.6618	0.5966	0.5829	0.6222	0.6530	0.6435	0.7198	0.6386	0.4963	0.4392	0.7518	0.7665	0.5092		0.8955			

4.3 FREQUÊNCIA HAPLOTÍPICA

Dos 201 haplótipos encontrados, 199 eram únicos (Freq. 0,0050) e apenas o ID 21 ocorreu duas vezes (Freq. 0,010).

Continua

Tabela 5 – Frequência haplotípica e haplótipos incluídos neste estudo considerando os 23 Y-STRs em 201 haplótipos analisados

ID	Freq.	Haplótipos																						
	Haplótipica	DYS456	DYS389I	DYS390	DYS389II	DYS458	DYS19	DYS385	DYS393	DYS391	DYS439	DYS635	DYS392	GATA_H4	DYS437	DYS438	DYS448	DYS522	DYS508	DYS632	DYS556	DYS570	DYS576	DYS540
ID 1	0,0050	17	13	25	30	16	14	12,15	13	11	12	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	18	20	12
ID 2	0,0050	15	13	24	29	16	14	11,14	13	10	12	23	13	11	15	12	19	10	11	9	11	17	18	12
ID 3	0,0050	15	13	21	30	18	15	15,16	14	10	12	23	11	10	14	11	20	11	13	8	12	19	16	12
ID 4	0,0050	14	12	22	28	15	15	13,15	13	10	11	22	11	11	16	10	20	11	10	8	12	20	17	12
ID 5	0,0050	16	13	24	29	15	14	11,16	13	11	12	23	13	12	15	11	19	12	11	9	11	17	18	12
ID 6	0,0050	13	12	24	28	16	15	14,17	12	11	11	21	11	11	16	9	19	10	12	8	11	16	16	12
ID 7	0,0050	14	12	22	28	14	14	14,14	13	10	12	21	12	11	16	10	20	11	9	8	12	20	17	13
ID 8	0,0050	16	13	23	30	16	13	16,16	14	10	11	20	11	11	14	10	21	12	12	8	12	18	17	11
ID 9	0,0050	15	13	24	30	18	14	11,14	13	11	12	24	13	12	16	12	19	10	10	9	11	18	22	12
ID 10	0,0050	15	13	23	29	17	14	11,14	13	11	11	23	13	11	14	12	19	10	11	9	11	19	18	11
ID 11	0,0050	17	13	24	29	17	14	11,15	13	10	12	23	14	11	15	12	19	10	11	9	11	17	18	12
ID 12	0,0050	16	14	23	30	18	13	13,14	13	9	10	21	11	12	14	10	20	12	10	8	12	22	18	11
ID 13	0,0050	16	13	25	29	17	14	11,14	13	10	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	12	18	18	11
ID 14	0,0050	15	13	23	30	15	16	15,16	15	10	11	21	12	11	14	10	20	12	11	8	11	17	17	11
ID 15	0,0050	15	13	22	29	18	14	11,14	13	11	13	23	13	12	15	12	19	11	8	9	11	17	18	12
ID 16	0,0050	16	12	24	30	17	13	14,17	13	10	12	22	14	12	14	11	20	12	12	9	12	17	18	11
ID 17	0,0050	16	13	25	29	17	14	11,14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	17	17	11
ID 18	0,0050	16	14	24	31	20	14	11,14	13	10	11	23	13	12	16	12	19	11	12	9	12	16	18	12
ID 19	0,0050	15	13	21	30	16	15	16,18	13	11	13	21	11	12	14	11	21	11	15	8	12	19	15	11
ID 20	0,0050	16	13	25	29	17	14	10,13	13	11	13	23	13	13	15	12	19	10	11	9	11	18	18	12
ID 21	0,0100	17	13	24	31	16	14	11,14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	18	18	12
ID 22	0,0050	15	13	21	30	18	16	8,15	14	10	12	22	11	12	14	11	21	11	14	8	12	18	14	12
ID 23	0,0050	15	14	24	30	16	14	11,14	13	10	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	17	18	12
ID 24	0,0050	15	13	24	29	18	14	12,14	13	10	12	23	13	12	15	12	18	10	11	9	11	18	20	12
ID 25	0,0050	18	13	26	30	16	14	12,15	13	11	12	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	18	20	12
ID 26	0,0050	16	13	22	29	17	14	11,14	13	10	13	23	13	11	14	12	18	10	11	9	11	17	18	12
ID 27	0,0050	15	13	24	29	17	14	11,14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	16	20	12
ID 28	0,0050	14	12	22	27	19	15	13,14	14	9	11	21	11	12	15	10	18	12	12	8	11	15	18	11
ID 29	0,0050	16	13	24	29	18	15	11,14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	18	18	13
ID 30	0,0050	15	13	23	31	16	13	10,15	13	10	12	22	14	13	14	11	19	11	12	9	12	17	16	11
ID 31	0,0050	15	12	24	28	17	14	10,14	13	11	12	23	13	11	14	12	18	10	11	9	11	19	17	12
ID 32	0,0050	14	12	23	28	16	14	11,14	13	10	11	23	11	12	16	10	20	11	10	8	12	18	17	12
ID 33	0,0050	14	13	23	30	18	14	13,16	12	10	11	23	11	11	14	10	19	13	11	8	12	18	18	12
ID 34	0,0050	17	12	24	29	15	13	17,18	13	10	14	21	11	11	14	10	20	12	12	8	12	22	18	11
ID 35	0,0050	15	13	24	30	15	13	16,19	13	10	14	21	11	12	14	10	9	12	12	8	12	20	18	11
ID 36	0,0050	15	13	24	31	19	14	13,15	14	10	13	21	11	13	16	7	19	12	10	8	12	16	16	9
ID 37	0,0050	16	13	22	30	16	13	12,16	12	8	13	21	11	12	14	10	21	12	11	8	11	24	17	11
ID 38	0,0050	14	12	22	28	16	13	10,14	13	10	11	22	11	11	16	10	20	11	10	8	12	18	16	12
ID 39	0,0050	15	14	25	31	18	13	14,17	12	10	13	22	14	11	13	9	19	12	12	9	12	17	20	12
ID 40	0,0050	15	13	23	31	18	13	10,16	13	10	12	22	11	11	14	10	21	13	14	8	12	19	19	11

Continuação

Tabela 5 – Frequência haplotípica e haplótipos incluídos neste estudo considerando os 23 Y-STRs em 201 haplótipos analisados

ID	Freq.																							
	Haplotípica	DYS456	DYS389I	DYS390	DYS389II	DYS458	DYS19	DYS385	DYS393	DYS391	DYS439	DYS635	DYS392	GATA_H4	DYS437	DYS438	DYS448	DYS522	DYS508	DYS632	DYS556	DYS570	DYS576	DYS540
ID 41	0,0050	15	13	24	28	18	14	12,15	13	11	11	23	13	12	14	12	19	10	11	9	12	14	20	11
ID 42	0,0050	16	13	24	29	18	15	11,15	13	11	12	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	17	17	11
ID 43	0,0050	15	13	24	30	18	14	10,14	14	10	12	23	13	13	15	12	19	10	11	9	11	18	18	12
ID 44	0,0050	15	13	24	29	17	14	11,14	13	11	11	23	13	11	14	12	18	10	11	9	11	16	18	12
ID 45	0,0050	16	13	24	29	17	14	11,15	13	11	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	17	20	12
ID 46	0,0050	15	13	23	29	18	14	14,14	13	11	13	23	13	13	15	12	19	10	11	9	11	19	16	12
ID 47	0,0050	16	12	22	28	17	15	15,15	14	10	12	21	16	12	15	10	21	11	11	8	11	20	16	12
ID 48	0,0050	15	14	23	31	19	14	13,16	12	10	11	20	11	11	14	10	20	13	11	8	13	17	19	12
ID 49	0,0050	17	14	24	30	17	14	11,14	13	11	13	25	13	12	15	12	19	11	11	9	11	17	18	12
ID 50	0,0050	15	13	21	31	16	15	14,17	13	10	11	21	11	12	14	11	21	11	13	8	13	20	16	12
ID 51	0,0050	16	13	24	29	18	13	13,14	13	9	10	21	12	12	14	10	20	11	11	8	12	22	18	10
ID 52	0,0050	15	12	22	29	17	15	13,14	14	10	11	21	11	11	16	10	21	11	10	8	11	19	18	11
ID 53	0,0050	15	13	22	28	15	15	12,14	12	10	11	21	11	11	14	9	21	11	10	8	11	18	18	12
ID 54	0,0050	15	12	24	28	17	14	11,14	13	11	13	23	13	12	15	12	19	10	12	9	11	16	19	11
ID 55	0,0050	15	12	24	30	17	17	11,14	13	11	13	11	13	23	13	12	15	11	10	8	11	18	18	11
ID 56	0,0050	15	14	21	31	18	15	16,18	13	10	11	21	11	12	14	8	21	11	12	8	11	17	16	12
ID 57	0,0050	14	13	23	27	15	17	12,12	13	10	11	22	11	11	15	10	21	11	14	8	11	21	17	11
ID 58	0,0050	17	12	24	29	15	15	14,15	14	11	13	21	11	12	16	10	21	11	11	8	11	19	18	11
ID 59	0,0050	16	14	24	30	18	14	11,15	13	11	12	23	14	13	15	12	19	10	11	9	11	17	17	12
ID 60	0,0050	15	13	24	29	17	14	11,14	13	11	12	25	13	11	15	12	20	11	11	9	11	17	18	12
ID 61	0,0050	16	13	22	30	15	13	17,18	13	10	11	22	11	12	14	10	21	12	12	8	12	20	18	11
ID 62	0,0050	14	13	24	32	16	15	11,12	13	11	12	23	11	12	14	10	21	11	10	8	13	15	18	11
ID 63	0,0050	17	13	23	29	19	14	11,14	13	11	12	24	13	12	15	12	19	10	11	9	11	18	19	12
ID 64	0,0050	15	13	23	29	17	14	14,15	13	11	13	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	17	19	12
ID 65	0,0050	15	12	22	29	18	15	13,14	14	10	11	21	11	11	17	10	21	11	12	8	11	19	18	11
ID 66	0,0050	15	13	23	27	18	14	11,15	13	11	11	23	13	12	15	12	19	10	11	8	11	17	17	12
ID 67	0,0050	16	13	24	29	15	14	12,14	13	11	10	24	13	12	15,16	12	20	10	11	9	11	18	17	12
ID 68	0,0050	16	14	25	30	17	14	11,14	13	11	11	24	13	12	15	12	19	11	12	9	11	18	18	12
ID 69	0,0050	15	13	23	28	18	14	11,15	13	11	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	18	16	12
ID 70	0,0050	17	13	24	31	16	13	16,18	13	10	10	22	11	13	14	10	20	12	12	8	12	20	15	11
ID 71	0,0050	16	13	23	31	18	14	11,14	13	11	11	23	13	11	15	12	19	10	11	9	11	17	17	12
ID 72	0,0050	16	13	24	28	17	14	12,14	13	10	11	23	13	12	15	12	19	10	10	9	11	17	19	13
ID 73	0,0050	15	12	24	28	16	14	11,14	12	11	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	13	17	19	12
ID 74	0,0050	15	13	22	30	19	15	14,14	13	11	12	21	11	11	16	10	21	12	10	8	11	17	17	11
ID 75	0,0050	13	12	24	28	16	16	13,17	13	10	11	21	11	11	16	9	19	11	12	8	11	18	16	12
ID 76	0,0050	15	12	23	28	17	15	13,16	11	10	12	20	25	11	15	11	20	13	12	8	12	17	18	11
ID 77	0,0050	14	12	22	28	15	14	13,14	13	10	10	22	11	11	16	10	20	11	10	8	11	18	18	12
ID 78	0,0050	16	13	24	30	17	12	11,15	13	10	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	13	17	17	12
ID 79	0,0050	15	13	24	29	15	14	11,14	12	10	11	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	17	17	12
ID 80	0,0050	16	13	24	30	17	14	11,15	13	11	12	24	13	12	14	12	19	10	10	9	11	17	17	11

Continuação

Tabela 5 – Frequência haplotípica e haplótipos incluídos neste estudo considerando os 23 Y-STRs em 201 haplótipos analisados

ID	Freq.																							
	Haplotípica	DYS456	DYS389I	DYS390	DYS389II	DYS458	DYS19	DYS385	DYS393	DYS391	DYS439	DYS635	DYS392	GATA_H4	DYS437	DYS438	DYS448	DYS522	DYS508	DYS632	DYS556	DYS570	DYS576	DYS540
ID 81	0,0050	15	12	24	28	17	14	11,14	13	11	11	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	17	18	12
ID 82	0,0050	17	13	24	29	17	14	11,14	13	11	11	24	13	11	15	12	19	10	11	9	11	17	19	12
ID 83	0,0050	14	12	23	28	18	14	13,17	12	10	12	22	11	11	14	9	21	11	10	8	12	16	19	11
ID 84	0,0050	14	12	22	28	16	14	13,17	13	10	12	21	11	11	16	9	19	11	12	8	11	18	16	12
ID 85	0,0050	14	14	24	28	16	15	12,16	12	11	12	23	13	12	14	12	18	10	12	9	11	18	21	11
ID 86	0,0050	15	14	24	30	15	14	11,14	13	10	11	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	17	19	12
ID 87	0,0050	15	15	23	31	17	13	13,14	13	9	9	21	11	12	14	10	20	11	10	8	12	21	18	11
ID 88	0,0050	16	13	25	29	16	14	11,14	12	10	11	23	13	12	15	13	19	10	11	9	11	18	17	12
ID 89	0,0050	15	13	21	30	16	16	18,18	13	10	9	21	11	11	14	11	21	11	14	8	12	18	17	12
ID 90	0,0050	16	12	26	28	17	14	11,14	13	10	12	23	13	12	15	12	18	12	11	9	11	17	18	12
ID 91	0,0050	18	13	28	29	16	15	11,15	13	11	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	17	18	12
ID 92	0,0050	15	13	23	29	17	14	11,13	13	11	13	24	13	12	15	12	19	10	11	9	11	18	17	12
ID 93	0,0050	17	12	22	29	16	15	13,15	14	10	13	22	11	12	16	10	21	12	11	8	11	20	18	11
ID 94	0,0050	13	12	24	28	16	15	13,17	13	10	11	21	11	11	16	9	19	11	13	8	11	18	16	12
ID 95	0,0050	15	13	24	29	17	15	11,15	13	10	12	23	13	12	15	12	20	10	11	9	11	18	19	12
ID 96	0,0050	15	13	24	29	17	14	12,14	13	11	11	23	13	12	15	12	20	10	11	9	11	17	17	12
ID 97	0,0050	14	12	22	28	16	14	13,15	13	10	11	22	11	11	16	10	20	11	10	8	12	19	16	12
ID 98	0,0050	13	14	23	31	16	15	14,16	14	10	12	23	12	12	14	10	20	11	10	8	11	18	18	11
ID 99	0,0050	16	13	24	29	18	14	12,15	13	11	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	17	20	11
ID 100	0,0050	15	14	23	31	15	15	14,15	14	10	11	22	12	11	14	10	20	13	12	8	11	18	18	11
ID 101	0,0050	15	13	24	30	16	15	16,16	12	11	13	22	11	11	15	9	21	11	10	8	11	16	17	12
ID 102	0,0050	16	13	24	27	17	14	11,15	12	10	12	23	13	12	15	12	18	10	11	9	11	16	17	12
ID 103	0,0050	15	13	25	29	16	14	11,14	13	11	12	23	13	11	15	12	18	10	12	9	11	16	19	12
ID 104	0,0050	15	14	24	30	18	13	13,14	13	10	10	21	11	12	14	10	20	12	10	8	12	22	18	11
ID 105	0,0050	17	13	23	29	16	16	15,15	14	11	11	20	12	11	14	11	20	13	11	8	11	20	19	11
ID 106	0,0050	15	13	23	29	17	14	11,14	13	11	13	23	12	12	15	12	19	10	10	9	11	16	16	13
ID 107	0,0050	14	12	22	28	14	14	14,14	13	10	11	21	11	11	16	10	20	12	9	8	12	20	16	13
ID 108	0,0050	15	13	24	31	18	14	11,11	13	11	12	25	13	12	15	12	18	11	11	9	11	17	18	12
ID 109	0,0050	15	13	25	29	17	12	11,12	13	11	12	23	13	13	16	12	19	10	12	9	11	17	17	12
ID 110	0,0050	17	12	22	29	17	15	12,16	14	10	12	21	11	12	16	10	21	12	11	8	11	17	17	11
ID 111	0,0050	15	13	24	29	18	14	11,15	13	10	11	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	18	18	12
ID 112	0,0050	14	13	24	29	17	14	11,14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	16	18	12
ID 113	0,0050	15	13	24	29	15	14	11,13	14	10	11	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	17	18	12
ID 114	0,0050	15	13	21	30	16	16	16,18	14	10	13	21	11	12	14	11	21	11	12	8	12	19	18	12
ID 115	0,0050	16	13	23	29	17	13	13,14	13	9	11	21	11	12	14	10	20	13	10	8	13	23	18	11
ID 116	0,0050	16	14	24	30	18	14	11,14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	18	18	12
ID 117	0,0050	15	14	24	30	19	15	10,14	12	10	11	23	14	13	15	12	19	10	11	9	11	18	17	11
ID 118	0,0050	17	14	21	31	17	17	17,18	15	10	12	21	11	11	14	11	21	10	12	8	12	17	18	12
ID 119	0,0050	16	13	24	29	18	13	12,13	13	11	12	23	13	12	15	12	19	10	11	9	11	18	17	12
ID 120	0,0050	14	13	24	29	16	14	11,13	13	11	13	23	13	11	15	12	19	11	11	9	11	17	18	12

Continuação

Tabela 5 – Frequência haplotípica e haplótipos incluídos neste estudo considerando os 23 Y-STRs em 201 haplótipos analisados

ID	Freq.																							
	Haplotípica	DYS456	DYS389I	DYS390	DYS389II	DYS458	DYS19	DYS385	DYS393	DYS391	DYS439	DYS635	DYS392	GATA_H4	DYS437	DYS438	DYS448	DYS522	DYS508	DYS632	DYS556	DYS570	DYS576	DYS540
ID 121	0,0050	15	13	22	29	16	14	13,15	12	10	11	23	11	10	15	9	21	13	10	8	11	17	15	13
ID 122	0,0050	15	14	25	30	16	14	11,14	13	10	12	23	13	11	15	12	19	10	11	9	12	17	17	12
ID 123	0,0050	15	12	24	28	16	15	11,14	13	12	11	23	13	12	15	12	19	12	11	9	11	18	17	12
ID 124	0,0050	16	12	24	29	18	13	13,14	12	10	13	23	15	12	14	11	20	12	11	9	11	17	19	11
ID 125	0,0050	16	13	24	28	18	14	12,13	13	11	11	23	13	13	15	11	19	10	11	9	11	18	18	11
ID 126	0,0050	15	13	24	30	17	13	16,18	13	10	13	23	11	11	14	10	20	10	10	9	11	17	19	12
ID 127	0,0050	16	13	24	29	16	14	11,13	13	12	12	24	13	11	15	12	19	13	12	8	13	19	17	10
ID 128	0,0050	16	13	24	29	18	14	11,15	13	10	12	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	17	17	12
ID 129	0,0050	16	13	23	31	18.2	14	13,18	12	10	12	21	11	11	14	10	20	13	11	8	12	19	16	12
ID 130	0,0050	15	13	24	29	17	14	11,14	13	11	11	23	13	12	14	12	19	11	12	9	11	17	18	13
ID 131	0,0050	13	14	22	32	19	15	13,13	14	10	13	21	11	11	16	10	21	11	11	9	13	18	18	11
ID 132	0,0050	15	13	24	28	15	15	12,12	13	11	12	24	13	11	14	11	19	11	12	10	11	18	18	12
ID 133	0,0050	15	14	23	29	18	14	14,17	13	10	11	21	13	10	14	9	20	15	10	8	12	18	17	12
ID 134	0,0050	16	13	24	29	18	14	11,15	13	10	12	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	17	18	12
ID 135	0,0050	16	13	24	29	17	14	11,15	13	10	12	23	13	11	15	12	20	12	11	9	11	17	18	12
ID 136	0,0050	17	13	24	29	17	14	11,14	14	11	11	23	13	11	14	12	18	11	11	9	11	17	19	12
ID 137	0,0050	15	13	24	30	17	14	11,15	13	11	11	24	13	12	15	12	19	11	11	9	11	18	18	12
ID 138	0,0050	15	14	24	30	19	13	15,16	13	10	12	23	14	11	14	10	20	13	12	9	12	18	20	11
ID 139	0,0050	16	13	23	29	16	14	11,14	13	10	12	25	13	12	14	12	19	11	10	9	11	18	15	12
ID 140	0,0050	15	12	23	29	17	15	14,15	14	10	12	20	11	12	16	10	21	13	10	8	11	18	15	12
ID 141	0,0050	15	13	22	30	16	14	12,16	13	10	11	23	11	11	14	9	21	12	10	8	12	16	17	12
ID 142	0,0050	15	14	26	31	16	14	11,14	13	11	13	23	13	10	15	12	19	11	11	9	11	17	16	12
ID 143	0,0050	15	13	24	29	17	14	11,14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	16	19	12
ID 144	0,0050	16	13	23	28	17	14	11,14	13	10	11	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	17	16	11
ID 145	0,0050	16	13	25	29	17	14	11,14	12	10	11	23	13	13	15	13	19	11	11	9	11	19	19	12
ID 146	0,0050	14	14	23	30	18	17	9,16	13	10	15	21	16	12	15	10	18	12	9	8	11	17	16	12
ID 147	0,0050	18	13	24	29	16	15	12,12	13	10	10,11	23	13	12	15	12	19	11	11	9	12	17	21	12
ID 148	0,0050	16	12	24	26	16	15	12,14	13	11	10	24	13	12	14	12	19	11	11	9	11	17	19	12
ID 149	0,0050	16	13	24	30	18	14	15,16	12	10	12	23	11	12	15	9	21	12	10	8	11	19	15	12
ID 150	0,0050	14	12	23	28	16	14	14,14	13	10	12	23	11	12	16	10	20	12	10	8	12	18	17	12
ID 151	0,0050	15	13	26	29	17	14	11,14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	17	17	12
ID 152	0,0050	15	12	23	28	16	16	14,14	14	10	11	22	11	13	16	10	21	12	10	8	11	17	18	11
ID 153	0,0050	16	13	23	29	17	14	12,15	12	11	12	23	13	12	15	13	19	11	11	9	11	17	19	12
ID 154	0,0050	15	14	24	30	15	14	11,14	13	10	11	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	17	16	12
ID 155	0,0050	16	13	24	30	17	14	11,15	13	11	12	24	13	12	14	12	19	11	10	9	11	17	18	12
ID 156	0,0050	15	11	22	27	15	15	12,15	13	10	12	20	11	10	16	10	21	12	11	8	12	17	17	12
ID 157	0,0050	14	13	22	30	17	15	16,17	14	10	12	22	12	11	15	10	20	12	12	8	11	18	14	12
ID 158	0,0050	13	12	23	28	16	15	13,17	13	10	11	21	11	11	16	9	19	12	12	8	11	16	18	12
ID 159	0,0050	15	11	24	27	19.2	13	12,17	12	10	11	22	11	10	14	10	20	14	10	8	11	22	18	11
ID 160	0,0050	16	10	24	26	18	14	11,14	13	11	12	23	14	12	15	12	19	11	11	9	11	19	19	11

Conclusão

Tabela 5 – Frequência haplotípica e haplótipos incluídos neste estudo considerando os 23 Y-STRs em 201 haplótipos analisados

ID	Freq.																							
	Haplotípica	DYS456	DYS389I	DYS390	DYS389II	DYS458	DYS19	DYS385	DYS393	DYS391	DYS439	DYS635	DYS392	GATA_H4	DYS437	DYS438	DYS448	DYS522	DYS508	DYS632	DYS556	DYS570	DYS576	DYS540
ID 161	0,0050	16	13	23	29	17	14	11,14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	18	18	12
ID 162	0,0050	16	13	24	30	18	15	11,14	13	10	12	23	13	11	15	12	19	11	11	9	11	19	16	12
ID 163	0,0050	16	14	24	30	17	14	11,14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	12	11	9	11	18	18	11
ID 164	0,0050	15	13	21	30	16	15	13,16	14	10	12	20	13	11	16	10	19	12	10	8	11	18	16	12
ID 165	0,0050	14	12	22	30	16	15	14,14	14	10	12	20	11	12	16	10	21	13	11	8	11	17	18	11
ID 166	0,0050	15	14	24	30	16	16	11,14	13	11	12	24	13	11	15	12	19	11	11	9	11	18	16	11
ID 167	0,0050	17	13	24	29	16	14	12,13	13	10	10,12	23	13	12	15	12	19	11	11	9	12	18	20	12
ID 168	0,0050	17	12	23	31	16	15	13,14	14	10	11	21	11	12	16	10	20	12	10	8	11	20	16	12
ID 169	0,0050	16	13	24	29	17	14	11,14	13	11	11	23	13	11	14	12	18	11	11	9	11	17	16	11
ID 170	0,0050	16	14	24	30	18	13	13,14	13	9	10	21	11	12	14	10	20	13	10	8	11	18	21	11
ID 171	0,0050	15	12	23	28	16	16	14,14	14	10	11	22	11	13	16	10	21	12	10	8	11	17	18	12
ID 172	0,0050	16	13	24	30	17	15	11,14	14	11	12	23	13	12	15	13	19	11	11	9	11	16	19	12
ID 173	0,0050	16	13	25	29	17	14	12,14	14	10	11	23	11	12	15	12	19	10	11	9	11	17	17	12
ID 174	0,0050	15	14	24	30	17	14	11,14	13	10	12	23	13	11	14	12	18	10	11	9	11	18	17	12
ID 175	0,0050	14	13	24	30	17	15	11,14	13	11	12	23	14	12	15	11	19	11	11	9	11	18	18	12
ID 176	0,0050	15	13	25	32	16	16	11,15	14	11	10	23	11	13	14	11	20	11	10	9	12	19	19	12
ID 177	0,0050	17	14	24	30	17	14	11,14	12	10	12	23	13	12	14	12	19	12	11	9	11	16	18	12
ID 178	0,0050	15	13	25	31	21	16	12,15	14	10	13	21	12	11	15	10	20	13	12	8	11	18	18	11
ID 179	0,0050	16	13	24	29	18	14	11,14	13	11	12	24	13	12	15	11	19	10	11	9	11	17	18	12
ID 180	0,0050	15	13	23	29	16	15	11,15	12	10	11	23	13	13	15	12	19	11	11	9	11	18	19	12
ID 181	0,0050	17	13	24	29	18	15	11,14	13	10	13	24	13	12	15	12	19	11	10	9	11	17	18	11
ID 182	0,0050	15	13	24	29	16	17	11,14	13	10	11	23	13	12	15	12	19	11	10	9	11	17	18	12
ID 183	0,0050	16	13	23	26	18	14	13,16	13	10	11	22	13	11	14	9	19	13	10	8	12	18	17	12
ID 184	0,0050	15	13	24	29	17	14	12,14	13	10	12	23	13	12	15	12	19	11	11	9	11	18	18	11
ID 185	0,0050	16	13	23	29	18	14	11,14	13	12	11	23	13	13	15	12	19	12	12	9	11	19	18	11
ID 186	0,0050	16	13	23	31	16	15	12,17	12	10	11	23	11	11	15	9	21	12	11	8	11	18	15	13
ID 187	0,0050	14	12	22	28	16	14	13,14	13	10	11	21	11	11	16	10	20	12	10	8	12	18	17	11
ID 188	0,0050	15	14	24	31	19	13	15,16	13	10	12	23	14	13	14	10	20	13	12	9	12	18	19	12
ID 189	0,0050	15	12	24	30	16	13	15,18	13	11	12	22	11	11	14	10	20	13	13	8	12	18	16	11
ID 190	0,0050	16	13	26	29	18	13	14,14	13	9	10	21	11	12	14	10	20	13	11	8	12	21	18	11
ID 191	0,0050	15	14	24	30	17	13	13,13,2	13	9	10	21	11	12	14	10	20	13	10	8	12	22	18	11
ID 192	0,0050	15	13	26	29	20	15	13,13	12	10	11	22	11	11	15	9	21	12	9	8	13	15	19	13
ID 193	0,0050	15	13	24	29	18	14	12,12	13	11	10	23	13	12	15	12	19	10	12	9	11	17	19	11
ID 194	0,0050	15	13	24	29	18	13	11,15	14	10	11	23	13	11	15	12	19	12	11	9	11	17	20	12
ID 195	0,0050	16	14	24	30	18	13	12,14	13	11	12	24	13	11	15	12	19	11	11	9	11	17	17	12
ID 196	0,0050	15	14	25	32	16	14	17,18	14	10	12	25	12	12	14	11	18	15	12	8	11	20	17	11
ID 197	0,0050	16	14	24	30	17	14	11,15	13	11	12	23	13	11	14	12	18	11	11	9	11	17	17	12
ID 198	0,0050	16	13	23	31	17,2	14	13,18	12	10	12	21	11	11	14	10	20	13	11	8	12	19	17	12
ID 199	0,0050	13	12	24	28	16	15	13,17	13	10	11	21	11	11	16	9	19	12	12	8	11	18	16	12
ID 200	0,0050	14	12	23	29	15	14	14,14	13	10	12	22	11	11	16	10	21	12	10	8	12	21	17	12

4.4 DIVERSIDADE HAPLOTÍPICA, CAPACIDADE DE DISCRIMINAÇÃO E PROBABILIDADE DE COINCIDÊNCIA HAPLOTÍPICA

4.4.1 Considerando-se o haplótipo mínimo (8 Y-STRs)

Dos 201 haplótipos incluídos, 170 eram diferentes e 153 eram únicos. Pois, um haplótipo ocorreu nove vezes, dois ocorreram quatro vezes, três ocorrem três vezes e onze ocorreram duas vezes. A diversidade haplotípica, a capacidade de discriminação e a probabilidade de coincidência haplotípica neste caso foram 0,9966, 0,8457 e 0,0034, respectivamente.

4.4.2 Considerando-se o haplótipo estendido (10 Y-STRs)

Dos 201 haplótipos incluídos, 180 eram diferentes e 164 eram únicos. Pois, um haplótipo ocorreu três vezes, dois ocorreram quatro vezes e treze ocorreram duas vezes. A diversidade haplotípica, a capacidade de discriminação e a probabilidade de coincidência haplotípica neste caso foram 0,9986, 0,8955 e 0,0014, respectivamente.

4.4.3 Considerando-se os 16 Y-STRs do kit Y-Filer

Dos 201 haplótipos incluídos, 194 eram diferentes e 187 eram únicos. Pois, sete haplótipos ocorreram duas vezes. A diversidade haplotípica, a capacidade de discriminação e a probabilidade de coincidência haplotípica neste caso foram 0,9997, 0,965 e 0,0003, respectivamente.

4.4.4 Considerando-se os 23 Y-STRs incluídos no estudo

Dos 201 haplótipos incluídos, 200 eram diferentes e 199 eram únicos. Pois, um haplótipo ocorreu duas vezes. A diversidade haplotípica, a capacidade de discriminação e a probabilidade de coincidência haplotípica neste caso foram 0,9999, 0,995 e 0,0001, respectivamente.

4.4.5 Índice de paternidade (IP)

O índice de paternidade para todos os haplótipos (exceto ID 21) foi o próprio tamanho amostral (IP = 201) e a probabilidade de paternidade foi de 0,9950 (99,5%). Para o ID 21, que apareceu duas vezes, o índice de paternidade foi IP = 100 e a probabilidade de paternidade foi de 0,9900 (99,00%).

4.5 DISTÂNCIA GENÉTICA DA POPULAÇÃO DO DISTRITO FEDERAL EM RELAÇÃO A OUTROS 22 ESTADOS BRASILEIROS

Os 201 haplótipos deste estudo foram comparados a outros 4043 haplótipos brasileiros presentes no YHRD e os valores do Rst e AMOVA foram calculados utilizando a ferramenta disponível no próprio “site”. A tabela 2 descreve os estados avaliados, o tamanho amostral de cada população e o respectivo número de acesso no YHRD (vide materiais e métodos). Os resultados da análise constam na tabela 6 e são apresentados na forma de matriz. Na parte inferior da diagonal estão os valores de Rst dos pares de populações comparadas e na parte superior o valor de P segundo o AMOVA. Quanto menor o valor do Rst entre os pares de populações menor a distância genética entre elas. Assim, a semelhança em relação ao Distrito Federal foi (ordem decrescente) Alagoas (Rst = -0,0001, P = 0,3658), São Paulo (Rst = -0,0001, P = 0,3799), Amazonas (Rst = -0,0004, P = 0,3866), Goiás (Rst = -0,0011, P = 0,4489), Ceará (Rst = -0,0041, P = 0,7787), Mato Grosso do Sul (Rst = -0,0042, P = 0,6057), Paraíba (Rst = 0,0000, P = 0,3615), Roraima (Rst = 0,0014, P = 0,2920), Minas Gerais (Rst = 0,0037, P = 0,1314), Rio de Janeiro (Europeu) (Rst = 0,0049, P = 0,0854), Rio Grande do Sul (Rst = 0,0055, P = 0,0762), Rondônia (Rst = 0,0064, P = 0,0808), Pernambuco (Rst = 0,0066, P = 0,2104), Amapá (Rst = 0,0073, P = 0,0507), Espírito Santo (Rst = 0,0139, P = 0,0245), Pará (Rst = 0,0141, P = 0,0032), Paraná (Rst = 0,0151, P = 0,0404), Maranhão (Rst = 0,0323, P = 0,0005), Acre (Rst = 0,0415, P = 0,0191), Bahia (Rst = 0,0468, P = 0,0000), Tocantins (Rst =

Tabela 6 – Matriz com resultados do Rst (abaixo da diagonal) e valor de P segundo o AMOVA (acima da diagonal) para os pares de populações incluídas na comparação (Distrito Federal e outros 22 estados brasileiros)

	RR	AM	AC	RO	PA	AP	TO	MA	CE	PB	PE	AL	BA	ES	MG	SP	RJ - Africano	RJ - Europeu	PR	RS	MS	GO	DF
RR	*	0,1341	0,1431	0,4266	0,1330	0,7654	0,0829	0,0773	0,6388	0,2905	0,2103	0,3706	0,0180	0,2343	0,5022	0,5441	0,0002	0,5384	0,2248	0,3506	0,6525	0,4788	0,2920
AM	0,0100	*	0,0441	0,0260	0,0027	0,0355	0,0143	0,0013	0,2408	0,0598	0,3286	0,1228	0,0006	0,0078	0,0618	0,0800	0,0000	0,0389	0,0277	0,0270	0,1915	0,1798	0,3866
AC	0,0177	0,0430	*	0,2125	0,0164	0,0737	0,8165	0,5601	0,0696	0,0543	0,1630	0,0662	0,7218	0,3911	0,2422	0,0576	0,2016	0,1291	0,3913	0,1228	0,1570	0,2024	0,0191
RO	-0,0012	0,0211	0,0082	*	0,0457	0,2425	0,1417	0,2034	0,4846	0,4628	0,1281	0,4269	0,0241	0,5595	0,7845	0,3661	0,0001	0,8978	0,8000	0,8120	0,6428	0,6021	0,0808
PA	0,0055	0,0294	0,0407	0,0077	*	0,1776	0,0143	0,0006	0,1207	0,0080	0,0101	0,0078	0,0000	0,0001	0,0056	0,0011	0,0000	0,0124	0,0266	0,0008	0,0924	0,0133	0,0032
AP	-0,0052	0,0169	0,0235	0,0017	0,0019	*	0,0392	0,0090	0,4992	0,0809	0,0386	0,1519	0,0001	0,0146	0,1280	0,1223	0,0000	0,1518	0,0805	0,0388	0,2023	0,1578	0,0507
TO	0,0274	0,0690	-0,0230	0,0133	0,0433	0,0345	*	0,7743	0,038	0,0367	0,1138	0,0346	0,9095	0,2823	0,1447	0,0288	0,5487	0,0839	0,4797	0,0958	0,1323	0,1119	0,0094
MA	0,0133	0,0492	-0,0069	0,0030	0,0270	0,0202	-0,0118	*	0,0238	0,0085	0,0723	0,0093	0,5249	0,2420	0,1036	0,0025	0,0079	0,0653	0,7450	0,0738	0,1700	0,0753	0,0005
CE	-0,0051	0,0032	0,0307	-0,0018	0,0049	-0,0017	0,0433	0,0209	*	0,8461	0,1912	0,9453	0,0029	0,0938	0,3227	0,8265	0,0000	0,5366	0,1632	0,3348	0,5382	0,5821	0,7787
PB	0,0013	0,0112	0,0273	-0,0009	0,0086	0,0046	0,0340	0,0168	-0,0043	*	0,1352	0,7997	0,0003	0,0475	0,2251	0,2582	0,0000	0,3819	0,1823	0,2906	0,6323	0,4872	0,3615
PE	0,0094	0,0008	0,0216	0,0153	0,0490	0,0324	0,0350	0,0264	0,0097	0,0130	*	0,1549	0,0602	0,1757	0,2446	0,1814	0,0045	0,1630	0,2008	0,2284	0,5347	0,4250	0,2104
AL	-0,0003	0,0068	0,0242	-0,0007	0,0095	0,0028	0,0371	0,0177	-0,0054	-0,0021	0,0116	*	0,0002	0,0432	0,3091	0,459	0,0000	0,4928	0,1244	0,2169	0,4446	0,4589	0,3658
BA	0,0275	0,0574	-0,0106	0,0149	0,0462	0,0357	-0,0145	-0,0019	0,0354	0,0310	0,0317	0,0310	*	0,027	0,0129	0,0000	0,0517	0,0035	0,2760	0,0050	0,0638	0,0185	0,0000
ES	0,0025	0,0257	-0,0013	-0,0015	0,0213	0,0103	0,0027	0,0014	0,0097	0,0102	0,0099	0,0117	0,0164	*	0,468	0,0953	0,0003	0,1295	0,7883	0,1741	0,5493	0,4455	0,0245
MG	-0,0028	0,0129	0,0052	-0,0035	0,0128	0,0041	0,0131	0,0062	0,0003	0,0014	0,0051	0,0003	0,0167	-0,0014	*	0,4451	0,0000	0,6311	0,5410	0,6179	0,7996	0,7343	0,1314
SP	-0,0025	0,0080	0,0256	0,0000	0,0102	0,0029	0,0356	0,0198	-0,0037	-0,0001	0,0085	-0,0005	0,0360	0,0059	-0,0006	*	0,0000	0,2834	0,1200	0,1711	0,7235	0,6211	0,3799
RJ - Africano	0,0745	0,1141	0,0079	0,0550	0,0954	0,0844	-0,0073	0,0219	0,0868	0,0810	0,0773	0,0831	0,0085	0,0507	0,0578	0,0886	*	0,0000	0,0126	0,0000	0,0023	0,0001	0,0000
RJ - Europeu	-0,0027	0,0159	0,0146	-0,0039	0,0092	0,0029	0,0210	0,0078	-0,0022	-0,0001	0,0110	-0,0010	0,0200	0,0052	-0,0019	0,0004	0,0642	*	0,4919	0,8238	0,7519	0,3446	0,0854
PR	0,0044	0,0298	-0,0025	-0,0059	0,0153	0,0107	-0,0059	-0,0055	0,0070	0,0040	0,0100	0,0066	0,0017	-0,0045	-0,0029	0,0059	0,0290	-0,0020	*	0,6358	0,6541	0,3649	0,0404
RS	-0,0001	0,0191	0,0154	-0,0034	0,0158	0,0080	0,0199	0,0072	0,0002	0,0005	0,0059	0,0014	0,0190	0,0036	-0,0019	0,0015	0,0621	-0,0025	-0,0037	*	0,9289	0,5561	0,0762
MS	-0,0070	0,0080	0,0171	-0,0054	0,0106	0,0050	0,0206	0,0076	-0,0046	-0,0047	-0,0081	-0,0020	0,0191	-0,0034	-0,0077	-0,0055	0,0609	-0,0065	-0,0076	-0,0089	*	0,7657	0,6057
GO	-0,0024	0,0062	0,0094	-0,0030	0,0166	0,0046	0,0194	0,0113	-0,0035	-0,0015	-0,0028	-0,0012	0,0217	-0,0012	-0,0041	-0,0024	0,0646	0,0001	-0,0003	-0,0023	-0,0080	*	0,4489
DF	0,0014	-0,0004	0,0415	0,0064	0,0141	0,0073	0,0570	0,0323	-0,0041	0,0000	0,0066	-0,0001	0,0468	0,0139	0,0037	-0,0001	0,1027	0,0049	0,0151	0,0055	-0,0042	-0,0011	*

0,0570, $P = 0,0094$), Rio de Janeiro (Africano) ($R_{st} = 0,1027$, $P = 0,0000$). Para facilitar a visualização destes resultados um mapa do Brasil foi colorido de acordo com o valor de P em relação a população do Distrito Federal (Figura 2).

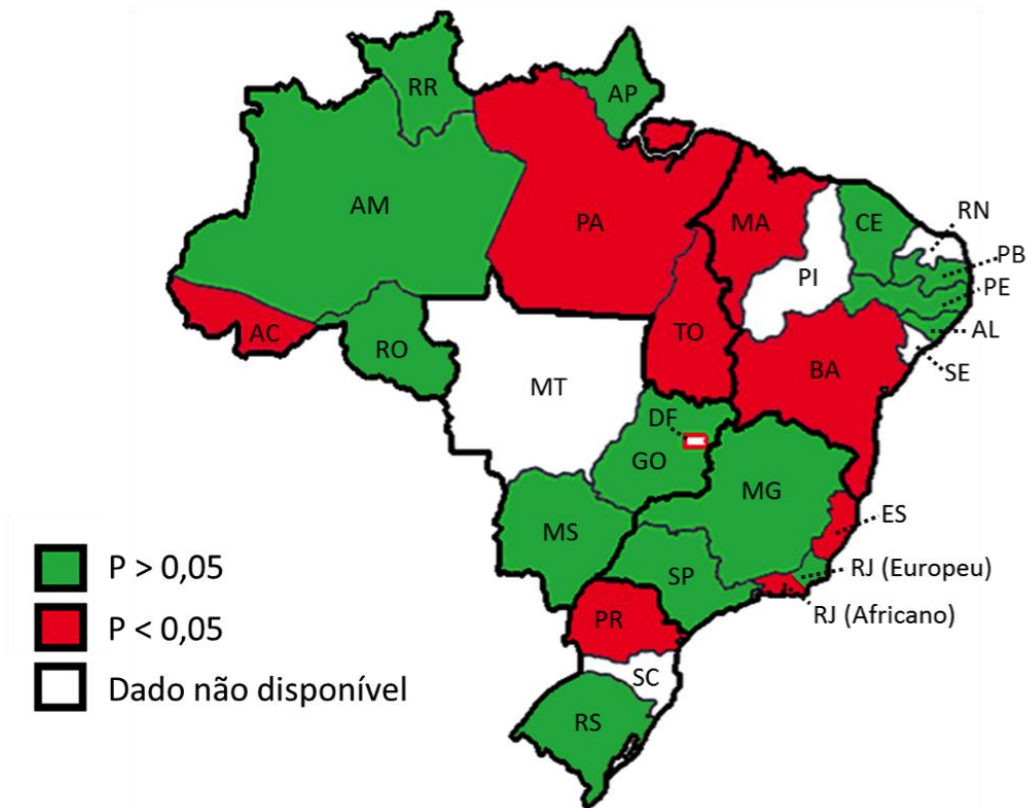


Figura 2 – Mapa do Brasil com os resultados do valor de P da comparação entre as populações estudadas com o Distrito Federal segundo o AMOVA

Em seguida, os valores do R_{st} foram analisados no gráfico de PCoA para facilitar interpretação e visualização dos resultados (Figura 3). Nesta análise a inter-relação de todas as populações são avaliadas. Os estados do Sul e Sudeste situaram-se no centro do gráfico distribuídos entre os quatro quadrantes, exceto o estado de São Paulo que se posicionou juntamente como os estados do Nordeste no quadrante superior direito.

Os estados do Norte dispersaram-se pelos diferentes quadrantes sendo que Tocantins, Acre, ficaram próximos do Rio de Janeiro (Africano), Maranhão e Bahia nos quadrantes da esquerda, e relativamente separados dos demais agrupamentos populacionais. Pará, Amapa, Roraima e Rondônia situaram-se relativamente próximos no quadrante superior direito. Entretanto, Rondônia está mais próxima do agrupamento Sul/Sudeste e Roraima de Paraíba, Alagoas e Ceará, estados

pertencentes à região Nordeste. O estado do Amazonas posicionou-se no quadrante inferior direito próximo ao Distrito Federal e Pernambuco. Os estados do Nordeste também se dispersam pelo gráfico, pois Paraíba, Alagoas e Ceará situaram-se próximos no quadrante superior direito. Pernambuco dispersou-se deste agrupamento posicionando-se no mesmo quadrante que o Amazonas e os estados do Centro-Oeste (inferior direito). Maranhão e Bahia posicionaram-se no lado esquerdo do gráfico próximo ao Rio de Janeiro (Africano).

Nota-se que os estados do Centro-Oeste e o Distrito Federal situaram-se no quadrante inferior direito. O Distrito Federal situou-se isolado no centro do quadrante inferior direito em uma posição relativamente equidistante dos agrupamentos de estados que compõe o Centro-Oeste, Nordeste e do estado de São Paulo e Amazonas.

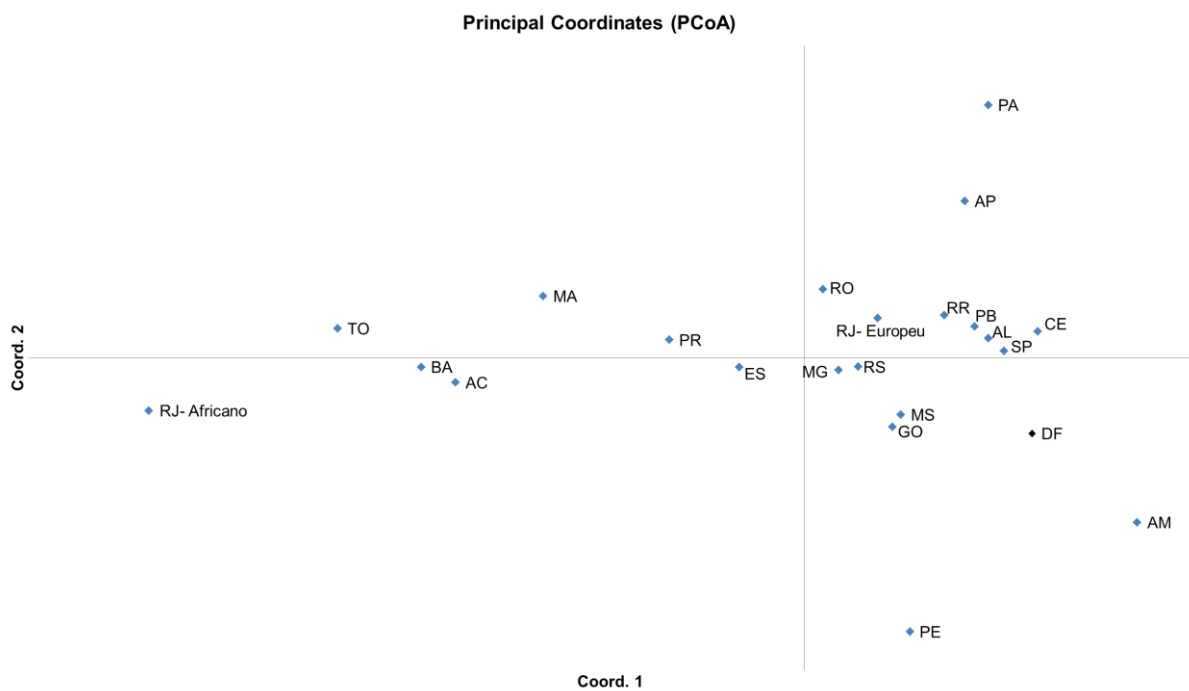


Figura 3 – Gráfico da análise de coordenadas principais (PCoA) dos valores de Rst da tabela 6. Representação gráfica das distâncias genéticas entre todas as populações avaliadas neste estudo

5 DISCUSSÃO

Este trabalho visa descrever as frequências haplotípicas e os parâmetros forenses e de paternidade de 23 marcadores Y-STRs em uma amostra populacional do Distrito Federal e, além disso, investigar a composição da população utilizando como ferramenta o cromossomo Y. Grande parte deste cromossomo não sofre recombinação durante a meiose, portanto, preserva informações históricas a respeito dos indivíduos do sexo masculino. Podendo ser alterado apenas por mutações que ocorrem a uma taxa de $1,998 \times 10^{-3}$ por geração (25).

O Distrito Federal é um território artificial inaugurado há 53 anos em um local até então despovoado. Sua população fundadora era composta apenas por imigrantes e, historicamente, as principais migrações aconteceram da região Nordeste e Sudeste (4). Atualmente, o Distrito Federal possui mais de 2.500.000 habitantes, e metade destas pessoas nasceram localmente. Isto reforça ainda mais a necessidade de se conhecer os parâmetros analíticos para Y-STRs na região.

Ademais, a composição da população é complexa (mista) e com contribuições de povos distintos (europeu, nativo americano e africano) e em diferentes proporções. Estudos recentes revelam uma maior contribuição dos nativos americanos para a região norte, africana para o nordeste e europeia para as demais (1, 5-7). Assim, o Distrito Federal é uma população mista formada a partir de populações heterogêneas.

5.1 A AMOSTRA POPULACIONAL DO ESTUDO REPRESENTA A POPULAÇÃO DO DISTRITO FEDERAL

Neste estudo, a amostra populacional do Distrito Federal foi originada a partir dos indivíduos que procuraram um laboratório clínico local para realização de exame de vínculo genético. Assim, trata-se de uma amostragem de conveniência. O banco de dados do laboratório foi analisado, os haplótipos de Y-STRs foram recuperados e os parâmetros forenses e de paternidade foram descritos em um contexto populacional conforme aprovado pelo comitê de ética. Por isto, foi necessário comparar a distribuição do local de nascimento (macrorregião) dos indivíduos incluídos neste estudo com a distribuição da naturalidade da população relatada no

Censo 2010. Não foi observado diferença significativa nesta análise e conclui-se que a amostra populacional representa a população do Distrito Federal.

5.2 PARÂMETROS FORENSES

5.2.1 Frequência alélica e diversidade gênica

Determinar as frequências alélicas para Y-STRs justifica-se apenas para a estimativa da diversidade gênica. Pois, devido à ausência de recombinação as inferências forenses devem ser feitas considerando o haplótipo. Por outro lado, justifica-se o cálculo da diversidade gênica para se conhecer quais os Y-STRs são mais informativos e, assim, compor um conjunto com maior capacidade de discriminação.

Dos 23 Y-STRs analisados neste trabalho o que apresentou maior diversidade gênica foi o DYS385 (0,8955). De certa forma este resultado já era esperado, uma vez que o DYS385 representa a amplificação simultânea de duas regiões idênticas do cromossomo Y separadas por 40.000 pares de base e que mutam de forma independente. Resultados semelhantes são observado por todos os outros estudos envolvendo este marcador (34, 36-39, 42-45).

O marcador DYS389II também está entre os mais polimórficos (0,7442). Lembrando que este marcador também é multicópia e contém o DYS389I (0,5680) (vide item 1.6 da introdução - Marcadores simples e multicópia). Assim, o DYS385 e o DYS389I/II são mantidos nos kits comerciais devido a sua elevada diversidade gênica e, conseqüentemente, maior capacidade de discriminar indivíduos. Entretanto, esta diversidade elevada é consequência do maior número de cópias apresentado por estes marcadores. Portanto, faz-se necessário destacar a diversidade gênica dos marcadores não duplicados.

Interessantemente, dois dos cinco marcadores mais polimórficos deste estudo o DYS570 (0,7518) e o DYS576 (0,7665) não estavam presentes no kit comercial Y-Filer, mas sim nas reações descritas por Asamura e colaboradores (23). Estes marcadores, mesmo sendo simples cópia, apresentam DG semelhantes aos DYS385 e o DYS389I/II. Isto é reflexo dos avanços ocorridos na área nos últimos anos e justifica a tendência de inclusão de marcadores novos recém caracterizados

nos kits comerciais. Neste sentido, o DYS570 e o DYS576 figuram entre os 23 Y-STRs contemplados pelo recém-lançado Powerplex Y23 (Promega), o kit comercial com maior número de marcadores na atualidade. Tais marcadores foram de fundamental importância para a maior capacidade de discriminação do haplótipo 23 Y-STRs em relação ao haplótipo Y-Filer neste estudo, tópico será discutido em detalhadamente no item 5.2.3 desta discussão.

Os marcadores DYS556 (0,4392), DYS393 (0,4750) e DYS632 (0,4963) foram os que apresentaram menor DG, o primeiro e o terceiro constam na reação de Asamura e colaboradores (23) e o segundo está presente no kit Y-Filer. A menor DG destes marcadores também foi observada em outros estudos (23, 34, 36, 38, 39, 42, 43, 45, 46). Um aprendizado indireto deste trabalho é que dificilmente um marcador já incluído em um kit comercial será substituído, pelo fato das bases de dados de haplótipos já o conterem. Por outro lado, é provável que um marcador com baixa DG ainda não incluído nos bancos de dados, como o DYS556 e o DYS632, não conste em um kit comercial da atualidade. Isto faz com que a decisão de genotipar este marcador em um laboratório de vínculo genético comercial seja revista, já que compartilhar os marcadores com as bases de dados internacionais e com outros laboratórios trazem vantagens para a investigação e para a qualidade do exame.

5.2.2 Diversidade e frequência haplotípica

A diversidade haplotípica é o principal parâmetro analítico de um conjunto de Y-STRs, trata-se da probabilidade de que dois indivíduos selecionados ao acaso possuam haplótipos distintos. Este parâmetro resume o desempenho analítico de um conjunto e é calculado a partir das frequências haplotípicas (vide introdução item 1.8). Neste trabalho, considerando-se o haplótipo 23 Y-STRs, dentre as 201 amostras avaliadas, 200 eram diferentes e apenas 1 haplótipo foi encontrado duas vezes. Assim, para os haplótipos únicos sua frequência foi 1/201 (0,005), para o haplótipo que ocorreu duas vezes (ID 21) sua frequência foi 0,01 (Tabela 5). A reanálise da cadeia de custódia dos casos que envolveram estes indivíduos com haplótipos idênticos não revelou evidência de parentesco, assim, a coincidência foi independente e aleatória. Entretanto, este achado indica que pertencem à mesma linhagem patrilinear. Assim, a diversidade haplotípica para o haplótipo 23 Y-STRs foi

de 0,9999, ou seja, 99,99% dos indivíduos testados serem diferenciados. Como esperado, a diversidade haplotípica foi dependente do número de Y-STRs considerados. Para o haplótipo mínimo foi de 0,9966 (99,66%), haplótipo estendido 0,9986 (99,86%) e para o haplótipo Y-Filer 0,9997 (99,97%). Embora estes valores sejam próximos, comparar haplótipos mais extensos na rotina laboratorial agrega maior qualidade aos exames e, conseqüentemente, aumenta a força da evidência genética. É importante ressaltar que nenhum outro trabalho brasileiro analisou haplótipos com tantos marcadores quanto este, sendo esta uma de suas principais relevâncias. As comparações com outros países são impossibilitadas por nenhum outro estudo incluir os mesmos conjuntos de marcadores (16 Y-STRs do Y-Filer (51) + 7 Y-STRs Asamura (23)). Entretanto, a DH obtida com o uso do kit PowerPlex Y23 (Promega) que genotipa 23 Y-STRs e compartilha 18 com este trabalho foi de 0,99999 para as populações Caucasiana, Afro-americano e Hispânico do Estados Unidos (58), e de 0,9995 para população Hispânica do Sudeste da Flórida (59).

5.2.3 Capacidade de discriminação

A capacidade de discriminação aumentou progressivamente com o número de Y-STRs incluídos na análise (0,8457, 0,8955, 0,9650, 0,9950 para 8, 10, 16, e 23 Y-STRs, respectivamente). Este resultado demonstra que o haplótipo mínimo, o haplótipo estendido e o haplótipo Y-Filer não são suficientes para individualização na população do Distrito Federal. Pois, considerando o haplótipo Y-Filer (16 Y-STRs), dentre as 201 amostras analisadas em 7 ocasiões o mesmo haplótipo foi encontrado em um outro indivíduo, ou seja, sete haplótipos foram encontrados duas vezes. Nesta situação, tais indivíduos seriam considerados da mesma linhagem paterna em uma investigação de vínculo genético (irmão, filhos, tios, primos, ou netos). No entanto, considerando os 23 Y-STRs o vínculo genético patrilinear provou ser verdadeiro em apenas uma ocasião. Pois, neste caso, 200 dos 201 haplótipos eram diferentes, apenas um haplótipo ocorreu duas vezes. A chance de esta situação ocorrer na vida real é justamente a probabilidade de coincidência haplotípica (PCH), que para o haplótipo Y-Filer resultou em 0,0003 (1 vez a cada 3333 análises), ou seja, uma chance pequena, mas existente. Este cenário torna-se cada vez mais desfavorável considerando o haplótipo mínimo (8 Y-STRs) e estendido (10 Y-STRs),

pois 170 e 180 haplótipos foram diferentes nestas situações, respectivamente, e a PCH aumentou para 0,0034 (1 vez a cada 300 análises) no caso do haplótipo mínimo e para 0,0014 (1 vez a cada 714 análises) no caso do haplótipo estendido. Assim, aumentar o número de Y-STRs na análise é bem-vinda, fato que aumenta a qualidade da investigação. Pois, a PCH com 23 Y-STRs foi apenas de 0,0001 (1 vez a cada 10.000 análises).

5.2.4 Probabilidade de coincidência haplotípica (PCH)

A probabilidade de coincidência haplotípica e a diversidade haplotípica são parâmetros correlacionados, pois $PCH + DH = 1$. Trata-se da probabilidade de se encontrar dois haplótipos idênticos ao acaso. Assim, diminui à medida que o número de Y-STRs incluídos no haplótipo aumenta. Partes das conclusões a respeito deste parâmetro foram discutidas no item 5.2.3. A tabela 7 resume os achados para este parâmetro. Assim, é três vezes menos provável encontrar dois haplótipos coincidentes utilizando 23 Y-STRs do que com o Y-Filer.

Tabela 7 - Resumo para os valores da probabilidade de coincidência haplotípica com a respectiva interpretação

Haplótipo	Número de Y-STR	PCH	Haplótipos coincidentes
Mínimo	8	0,0034	1 em 300 análises
Estendido	10	0,0014	1 em 714 análises
Y-Filer	16	0,0003	1 em 3.333 análises
23 Y-STRs	23	0,0001	1 em 10.000 análises

5.2.5 Índice de paternidade (IP)

Para os Y-STRs o índice de paternidade nada mais é do que $1/\text{frequência do haplótipo encontrado}$. As frequências haplotípicas deste trabalho foram 0,005 para os que ocorreram apenas uma vez e 0,01 para os que ocorreram duas. Caso um haplotipo inédito seja encontrado em um caso de investigação de vínculo genético seu IP será $1/201$, caso já esteja presente na amostragem deste estudo $2/201$ e se for coincidente com o que ocorreu duas vezes $3/201$. Isto resulta nas probabilidades

de paternidade de 0,9950 (99,50%), 0,9900 (99,00%) e 0,9852 (98,52%), respectivamente. Para o aumento do poder associado a evidência genética é necessário aumentar o banco de dados da população local ou encontrar nos bancos de dados internacionais populações que sejam estatisticamente semelhantes a do Distrito Federal e agrupa-las como se fossem únicas. Isto justifica a análise de distância genética que será discutida no item 5.3.

5.3 DISTÂNCIA GENÉTICA

Considerando o haplótipo mínimo, o cálculo do Rst seguido da análise de variância molecular (AMOVA) revelou que o Distrito Federal é estatisticamente semelhante as populações do estado de Goiás, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro (Europeu), Rio Grande do sul, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Amazonas, Roraima, Rondônia, Amapá. Por outro lado, foi estatisticamente diferente dos estados do Paraná, Tocantins, Bahia, Maranhão, Pará, Acre, Rio de Janeiro (Africano) e Espírito Santo. Este resultado está resumido na (Figura 2). O haplótipo mínimo foi escolhido devido a possibilidade de inclusão de um número maior de populações, o que é uma vantagem. Pois, as primeiras populações do YHRD continha apenas este formato de haplótipo. O uso do haplótipo mínimo não interfere na interpretação a respeito das populações que apresentaram diferença significativa, esta observação continuará mesmo se o haplótipo estendido, Y-Filer, ou 23 Y-STRs for considerado. No entanto, o aumento do número de Y-STRs na análise poderia tornar alguma população não diferente no formato de haplótipo mínimo diferente nos demais formatos, sendo esta a principal limitação desta análise. De fato, o haplótipo estendido e Y-Filer foram avaliados e nenhuma conclusão descrita acima foi alterada (dados não apresentados).

O gráfico da análise de coordenadas principais (PCoA) (Figura 3), a matriz de Rst e valores de P do AMOVA (Tabela 6) permitem não só fazer inferências sobre a população do Distrito Federal, mas sim, de todas as populações comparadas. De acordo com o valor de P do AMOVA, as relações genéticas entre os 22 estados brasileiros analisados ultrapassa as fronteiras determinadas pelas macrorregiões. É possível observar que Rio de Janeiro (Africano)/Bahia, Pará, e Amazonas apresentaram diferença significativa com a maioria das populações. Estas

populações situaram-se em três extremos opostos no gráfico. Além disso, houve um aglomerado central de estados sem diferença significativa entre eles (Minas Gerais, Rio de Janeiro (Europeu), Rio Grande do Sul, Espírito Santo, Rondônia, Paraná, Roraima, Paraíba, Alagoas, Ceará, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Goiás e Distrito Federal). E populações intermediárias entre o aglomerado central e cada um dos extremos considerados (Acre, Pernambuco, Maranhão, Tocantins, Amapá). Este resultado indica a presença de quatro linhagens de cromossomos Y de origens ou evoluções diferentes no Brasil, uma para cada um dos três extremos considerados e um quarto no aglomerado central. As populações intermediárias representariam misturas entre o aglomerado central e os respectivos extremos.

5.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assim, este trabalho mostra que é preciso aumentar o número de Y-STRs para elevar a capacidade de discriminação dos conjuntos, pois o haplótipo Y-Filer já se tornou pequeno. Entretanto, ao se aumentar o tamanho do haplótipo, percebeu-se que é interessante utilizar marcadores que constem nas bases de dados. Neste sentido, é mais provável que os marcadores contidos em um kit comercial como o Powerplex Y23 atendam este requisito.

6 CONCLUSÃO

O polimorfismo genético e os parâmetros forenses de 23 *loci* Y-STRs na população do Distrito Federal do Brasil foram investigados.

- As frequências haplotípicas, alélicas e diversidade gênica dos marcadores DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, Y GATA H4, DYS437, DYS438, DYS448, DYS522 DYS508, DYS632, DYS556, DYS570 DYS576 e DYS540 em uma amostra populacional do Distrito Federal do Brasil foram descritas.
- A diversidade haplotípica para este conjunto de 23 Y-STRs foi de 0,9999. A capacidade de discriminação, a probabilidade de coincidência haplotípica foram 0,995 e 0,0001, respectivamente.
- Considerando o haplótipo mínimo, a população do Distrito Federal foi semelhante a populações do estado de Goiás, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro (Europeu), Rio Grande do sul, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Amazonas, Roraima, Rondônia e Amapá.

7 REFERÊNCIAS

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) 2010 [26 de Janeiro de 2013]. Available from: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/>.
2. Habermalz U. Brasilia - eine Stadt aus dem Nichts: auf den Spuren Oscar Niemeyers: Berner Fachhochschule; 2006.
3. Censo Demográfico (2010) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) 2010 [26 de Janeiro de 2013]. Available from: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=df>.
4. Codeplan. Evolução dos movimentos migratórios para o Distrito Federal: 1959- 2010. In: Moncaio MG, editor. Demografia em Foco. Brasília2013. p. 79.
5. Godinho NMO, Gontijo CC, Diniz MECG, Falcão-Alencar G, Dalton GC, Amorim CEG, et al. Regional patterns of genetic admixture in South America. Forensic Science International: Genetics. 2008;1(1):329-230.
6. Cordeiro Q, Souza BR, Correa H, Guindalini C, Hutz MH, Vallada H, et al. A review of psychiatric genetics research in the Brazilian population. Rev Bras Psiquiatr. 2009;31(2):154-62.
7. Pena SD, Bastos-Rodrigues L, Pimenta JR, Bydlowski SP. DNA tests probe the genomic ancestry of Brazilians. Braz J Med Biol Res. 2009;42(10):870-6.
8. Butler JM. Forensic DNA typing : biology, technology, and genetics of STR markers. 2nd ed. Amsterdam ; Boston: Elsevier Academic Press; 2005. xvii, 660 p. p.
9. Butler JM. Forensic DNA testing. Cold Spring Harb Protoc. 2011;2011(12):1438-50.

10. Skaletsky H, Kuroda-Kawaguchi T, Minx PJ, Cordum HS, Hillier L, Brown LG, et al. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature*. 2003;423(6942):825-37.
11. Saxena R, Brown LG, Hawkins T, Alagappan RK, Skaletsky H, Reeve MP, et al. The DAZ gene cluster on the human Y chromosome arose from an autosomal gene that was transposed, repeatedly amplified and pruned. *Nat Genet*. 1996;14(3):292-9.
12. Rolf B, Keil W, Brinkmann B, Roewer L, Fimmers R. Paternity testing using Y-STR haplotypes: assigning a probability for paternity in cases of mutations. *Int J Legal Med*. 2001;115(1):12-5.
13. Foster EA, Jobling MA, Taylor PG, Donnelly P, de Knijff P, Mieremet R, et al. Jefferson fathered slave's last child. *Nature*. 1998;396(6706):27-8.
14. Stix G. Traces of a distant past. *Sci Am*. 2008;299(1):56-63.
15. Brown K. Tangled roots? Genetics meets genealogy. *Science*. 2002;295(5560):1634-5.
16. Butler JM, Schoske R, Vallone PM, Kline MC, Redd AJ, Hammer MF. A novel multiplex for simultaneous amplification of 20 Y chromosome STR markers. *Forensic Sci Int*. 2002;129(1):10-24.
17. Hanson EK, Ballantyne J. Comprehensive annotated STR physical map of the human Y chromosome: Forensic implications. *Leg Med (Tokyo)*. 2006;8(2):110-20.
18. Butler JMK, Margaret C. Decker, Amy E. Addressing Y-Chromosome Short Tandem Repeat(Y-STR) Allele Nomenclature. *Journal of Genetic Genealogy*. 2008;4(2):pp. 125 - 48.

19. Budowle BM, Tamyra R, Niezgoda, Stephen J, Brown, Barry L. CODIS and PCR-based short tandem repeat loci: law enforcement tools. In: Madison WPC, editor. Proceedings of the Second European Symposium on Human Identification 1998. p. 73-88.
20. Vermeulen M, Wollstein A, van der Gaag K, Lao O, Xue Y, Wang Q, et al. Improving global and regional resolution of male lineage differentiation by simple single-copy Y-chromosomal short tandem repeat polymorphisms. *Forensic Sci Int Genet.* 2009;3(4):205-13.
21. Shi M, Bai R, Yu X, Lv J, Hu B. Haplotype diversity of 22 Y-chromosomal STRs in a southeast China population sample (Chaoshan area). *Forensic Sci Int Genet.* 2009;3(2):e45-7.
22. The PowerPlex® Y23 System: A New Y-STR Multiplex for Casework and Database Applications 2012. Available from: <http://www.promega.com.br/resources/profiles-in-dna/2012/the-powerplex-y23-system-a-new-y-str-multiplex-for-casework-and-database-applications/?origUrl=http%3a%2f%2fwww.promega.com%2fresources%2fprofiles-in-dna%2f2012%2fthe-powerplex-y23-system-a-new-y-str-multiplex-for-casework-and-database-applications%2f>.
23. Asamura H, Sakai H, Ota M, Fukushima H. MiniY-STR quadruplex systems with short amplicon lengths for analysis of degraded DNA samples. *Forensic Sci Int Genet.* 2007;1(1):56-61.
24. Gusmão L, Butler JM, Carracedo A, Gill P, Kayser M, Mayr WR, et al. DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): an update of the recommendations on the use of Y-STRs in forensic analysis. *Forensic Sci Int.* 2006;157(2-3):187-97.
25. Gusmão L, Sánchez-Diz P, Calafell F, Martín P, Alonso CA, Alvarez-Fernández F, et al. Mutation rates at Y chromosome specific microsatellites. *Hum Mutat.* 2005;26(6):520-8.

26. Nei M. Molecular evolutionary genetics. New York: Columbia University Press; 1987. x, 512 p. p.
27. Piglionica M, Baldassarra SL, Giardina E, Stella A, D'Ovidio FD, Frati P, et al. Population data for 17 Y-chromosome STRs in a sample from Apulia (Southern Italy). *Forensic Sci Int Genet.* 2013;7(1):e3-4.
28. Federal Bureau of Investigation F. Standards and Guidelines - Y-chromosome Short Tandem Repeat (Y-STR) Interpretation Guidelines 2009 [24 de Novembro 2013]. Available from: http://www.fbi.gov/about-us/lab/forensic-science-communications/standards/2009_01_standards01.htm.
29. AABB. Parentage Testing Accreditation Requirements Manual. In: Bethesda MW, R.H., editor. 3 ed1998.
30. Sinha SK, Budowle B, Chakraborty R, Paunovic A, Guidry RD, Larsen C, et al. Utility of the Y-STR typing systems Y-PLEX 6 and Y-PLEX 5 in forensic casework and 11 Y-STR haplotype database for three major population groups in the United States. *J Forensic Sci.* 2004;49(4):691-700.
31. Institute of Legal Medicine and Forensic Sciences I. The Y-Chromosome Haplotype Reference Database - Directions for Use. Berlin - Germany2013.
32. Carvalho-Silva DR, Tarazona-Santos E, Rocha J, Pena SD, Santos FR. Y chromosome diversity in Brazilians: switching perspectives from slow to fast evolving markers. *Genetica.* 2006;126(1-2):251-60.
33. Santos MV, Carvalho M, Lopes V, Vide MC, Corte-Real F, Vieira DN. Haplotype frequency of the loci DYS437, DYS438, DYS439, DYS460 (Y-GATA A7.1), DYS461 (Y-GATA A7.2), Y-GATA A10, Y-GATA C4 and Y-GATA H4 in the Bahia-Brazil population. *International Congress Series - Elsevier BV.* 2004;1261:290-2.

34. Palha TeJ, Rodrigues EM, Dos Santos SE. Y-chromosomal STR haplotypes in a population from the Amazon region, Brazil. *Forensic Sci Int.* 2007;166(2-3):233-9.
35. Carvalho M, Brito P, Lopes V, Andrade L, Anjos MJ, Real FC, et al. Analysis of paternal lineages in Brazilian and African populations. *Genet Mol Biol.* 2010;33(3):422-7.
36. Grattapaglia D, Kalupniek S, Guimarães CS, Ribeiro MA, Diener PS, Soares CN. Y-chromosome STR haplotype diversity in Brazilian populations. *Forensic Sci Int.* 2005;149(1):99-107.
37. Leite FP, Callegari-Jacques SM, Carvalho BA, Kommers T, Matte CH, Raimann PE, et al. Y-STR analysis in Brazilian and South Amerindian populations. *Am J Hum Biol.* 2008;20(3):359-63.
38. Wolfgramm EeV, Silva BC, Aguiar VR, Malta FS, de Castro AM, Ferreira AC, et al. Genetic analysis of 15 autosomal and 12 Y-STR loci in the Espírito Santo State population, Brazil. *Forensic Sci Int Genet.* 2011;5(3):e41-3.
39. Góis CC, Martins JA, Pereira GA, Freschi A, Paneto GG, Alvarenga VL, et al. Genetic population data of 12 STR loci of the PowerPlex Y system in the state of São Paulo population (Southeast of Brazil). *Forensic Sci Int.* 2008;174(1):81-6.
40. de Souza Góes AC, de Carvalho EF, Gomes I, da Silva DA, Gil EH, Amorim A, et al. Population and mutation analysis of 17 Y-STR loci from Rio de Janeiro (Brazil). *Int J Legal Med.* 2005;119(2):70-6.
41. Palha T, Ribeiro-Rodrigues E, Ribeiro-dos-Santos A, Santos S. Fourteen short tandem repeat loci Y chromosome haplotypes: Genetic analysis in populations from northern Brazil. *Forensic Sci Int Genet.* 2012;6(3):413-8.
42. Chemale G, Freitas JM, Badaraco JL, Rosa LD, Martins JA, Martins AD, et al. Y-Chromosomal STR haplotypes in a sample from Brasília, Federal District, Brazil. *Forensic Sci Int Genet.* 2013.

43. Pereira RW, Monteiro EH, Hirschfeld GC, Wang AY, Grattapaglia D. Haplotype diversity of 17 Y-chromosome STRs in Brazilians. *Forensic Sci Int*. 2007;171(2-3):226-36.
44. Schwengber SP, Kommers T, Matte CH, Raimann PE, Carvalho BA, Leite FP, et al. Population data of 17 Y-STR loci from Rio Grande do Sul state (South Brazil). *Forensic Sci Int Genet*. 2009;4(1):e31-3.
45. Cainé L, Corte-Real F, Vieira DN, Carvalho M, Serra A, Lopes V, et al. Allele frequencies and haplotypes of 8 Y-chromosomal STRs in the Santa Catarina population of southern Brazil. *Forensic Sci Int*. 2005;148(1):75-9.
46. Cainé LM, de Pancorbo MM, Pinheiro F. Y-chromosomal STR haplotype diversity in males from Santa Catarina, Brazil. *J Forensic Leg Med*. 2010;17(2):92-5.
47. Takezaki N, Nei M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*. 1996;144(1):389-99.
48. Holsinger KE, Weir BS. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST} . *Nat Rev Genet*. 2009;10(9):639-50.
49. Willuweit S, Roewer L, Group IFYCU. Y chromosome haplotype reference database (YHRD): update. *Forensic Sci Int Genet*. 2007;1(2):83-7.
50. Whatman. FTA-Protocol 2013. Available from: <http://www.kirkhoustrust.org/Docs/FTAProtocolBD08.pdf>.
51. LIFE TECHNOLOGIES AB. AmpFLSTR[®] Yfiler[®] PCR Amplification Kit User Guide. 2012.
52. Callegari-Jacques SM. BIOESTATÍSTICA - PRINCÍPIOS E APLICAÇÕES. Artmed, editor. Porto Alegre 2007. 255 p.

53. graphpad.com D-. GraphPad Prism 6 2013. Available from: <http://www.graphpad.com/demos/>.
54. Excoffier L, Lischer HE. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour.* 2010;10(3):564-7.
55. Alves C. Making the most of Y-STR haplotypes: The HapYDive. 2006;1288:201–3.
56. Peakall R, Smouse PE. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research--an update. *Bioinformatics.* 2012;28(19):2537-9.
57. Parson W, Roewer L. Publication of population data of linearly inherited DNA markers in the International Journal of Legal Medicine. *Int J Legal Med.* 2010;124(5):505-9.
58. Coble MD, Hill CR, Butler JM. Haplotype data for 23 Y-chromosome markers in four U.S. population groups. *Forensic Sci Int Genet.* 2013;7(3):e66-8.
59. Calderon S, Perez-Benedico D, Mesa L, Guyton D, Rowold DJ, Herrera RJ. Phylogenetic and forensic studies of the Southeast Florida Hispanic population using the next-generation forensic PowerPlex® Y23 STR marker system. *Leg Med (Tokyo).* 2013;15(6):289-92.

APÊNDICE I – PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Totais de produção

Artigos completos publicados em periódicos = 3

Trabalhos publicados em anais de congressos = 11

Apresentação de trabalhos em eventos = 3

OS RESUMOS MAIS IMPORTANTES ENVIADOS DURANTE O MESTRADO

Paternity inclusion and exclusion in different types of genetics kinship investigations conducted in a clinical chemistry laboratory of the Federal District (Brazil) (Resumo escolhido para apresentação oral no Congresso AACC “Annual Meeting and Clinical Laboratory Exposition” em Houston-TX, 2013)

Camilla Figueiredo Chianca², Ticiane Henriques Santa Rita², Julia Almeida Vasques^{1,2}, Lídia Freire Abdalla Nery¹, Sandra Santana Soares Costas¹, Lara Franciele Ribeiro Velasco¹, Claudia Ferreira de Souza¹, Gustavo Barcelos Barra^{1,2}

Laboratório Sabin de Análises Clínicas¹, Brasília-DF
Universidade de Brasília², Brasília-DF

Background:

The paternity test is progressively becoming a clinical laboratory test. This analysis is based on comparing at least fifteen short tandem repeat (STR) DNA markers between the child and alleged father, in the presence or absence of the biological mother, which classifies the exam in trio or duo, respectively. The incompatibility in three or more STRs characterizes a paternity exclusion. The compatibility between all regions characterizes a paternity inclusion. The description of the types of cases (duo/trio) and results (inclusion/exclusion) in clinical laboratories are scarce. In this work, these parameters were evaluated retrospectively after eighteen months of implementation of this test in our laboratory.

Methods:

Through the retrospective analysis of our database, we assessed the genetic kinship investigations performed between May 2011 and October 2012. Nine hundred and fourteen investigations were conducted, all involving individuals residing in Brazil's Federal District. The type of case, the conclusion and their distribution over the months were recorded and presented as absolute and/or relative frequency and mean \pm standard deviation, when appropriate. The chi-square test was used to compare the obtained ratios. University of Brasília ethical committee approved this study.

Results:

Out of a total of 914 paternity cases, the trios occurred in a higher prevalence compared to duos, 596 (65.2%) versus 318 (34.8%). Moreover, the inclusions were more prevalent than exclusions, 610 (66.7%) versus 304 (33.3%). Besides that, the proportion of inclusion/exclusion were similar between trios and duos, 201 (33.72%) exclusions for trios and 103 (32.39%) exclusions for duos ($p=0.68$). Furthermore, the inclusion/exclusion and trio/duo proportions remained homogeneous in the eighteen-month studied period, $34.78 \pm 6.78\%$ for exclusions ($p = 0.45$) and $34.72 \pm 5.26\%$ for duos ($p = 0.97$).

Conclusion:

In paternity testing, the trios were more frequent than duo. This result can be explained by the fact that trio has lower complexity analysis than duo, because the alleles not transmitted from mother are determined with precision, making it a test cheaper than duo. Furthermore, the paternity inclusion is the most prevalent result type and the inclusion/exclusion proportion observed in this study is similar to that reported by forensic laboratories (32%). Moreover, the homogeneity in inclusion/exclusion and trio/duo proportions suggest that these parameters associated with paternity testing remain similar over time.

HCV genotype distribution and determination of others variables related to the virus by assessing a clinical laboratory results database (Congresso AACC “Annual Meeting and Clinical Laboratory Exposition” em Houston-TX, 2013)

Camilla Figueiredo Chianca², Ticiane Henriques Santa Rita², Patrícia Godoy Garcia Costa¹, Wanessa Lordêlo Pedreira Vivas³, Lara Franciele Ribeiro Velasco¹, Lidia Freira Abdlla Nery¹, Sandra Santana Soares Costa¹, Gustavo Barcelos Barra^{1,2}

Laboratório Sabin de Análises Clínicas¹, Brasília, Brasil
 Universidade de Brasília², Brasília, Brasil
 Universidade Tiradentes³, Aracaju, Brasil

Background:

In 2011, FDA announced a recall of an in vitro nucleic acid amplification test for the quantitation of HCV RNA that has been shown to under-quantitate a subset of genotype 4 in patient specimens by approximately 1.0-1.5 log₁₀ in the absence of any sequence mismatches. The distribution of these test include your country. As the HCV genotype has significant geographic variation, this recall encourage us to determine the prevalence of HCV genotypes and others variables related to the virus by assessing our clinical laboratory results database, and evaluate the possible impact of this under-quantitation in our region.

Methods:

Through retrospective analysis of our HCV genotyping database, we assessed the samples results between January 2005 and September 2011. 480 samples were analyzed, 394 (82%) genotypes were determined and 86 (17.9%) had negative results (no genotype detected). Of these, 280 (58,2%) perform quantitation of HCV RNA in the same day. The genotype prevalences and RNA quantification were identified and presented by gender and age group <50 years (n=162) and ≥50 years (n=118). HCV genotyping was performed by three different techniques in the analyzed period, PCR-RFLP, reverse hibridization, and RT-qPCR, they were also compared.

Results:

The observed genotype distribution was HCV-1 288 (73%), HCV-3 91 (23%), HCV-2 13 (3.2%), and HCV-4 2 (0.5%). The genotypes HCV-6 and HCV-5 were not found. The three techniques show related capabilities, since they result in similar genotypic distributions frequency ($p=0.98$). The average viral load was 6.11 log₁₀ copies/ml and did not differ with genotype ($p=0.48$), or gender of the patient ($p=0.54$). By separating the sample into age groups <50 and ≥ 50 years the average viral load was 6.13 and 6.41 log₁₀ copies/ml ($P=0.032$) respectively.

Conclusion:

In this study we noted that the distribution of HCV in our samples is HCV-1, HCV-3, HCV-2 and HCV-4. The genotype 4 is rare in our region, as was found in only two individuals, or 0.5% of samples in six and half years. Thus, the impact of under-quantitation in our region would be minimal. When comparing the different techniques used for molecular genotyping showed that all three techniques (RT-qPCR real-time Reverse Hybridization and PCR-RFLP) have similar capabilities to determine the genotypes. With respect to viral load, no difference was observed between genotypes, or in genotypes according to gender, nor in the genotypes according to age. However, the group aged ≥ 50 had a mean viral load significantly greater than <50.

Comparison of four commercial assays for human papillomavirus detection in consecutive clinical laboratory samples including men and women (Congresso AACCC "Annual Meeting and Clinical Laboratory Exposition" em Houston-TX, 2013)

Ticiane Henriques Santa Rita², Maria Cecília Sant'Anna Soares Borges Caixeta¹, Camilla Figueiredo Chianca², Lara Franciele Ribeiro Velasco¹, Lidia Freira Abdlla Nery¹, Sandra Santana Soares Costa¹, Gustavo Barcelos Barra^{1,2}

Laboratório Sabin de Análises Clínicas¹, Brasília, Brasil
Universidade de Brasília², Brasília, Brasil

Background:

Currently, there are several commercial assays for Human *Papillomavirus* (HPV) detection. However, there are substantial differences between their proposals, such as genotypes detected, methodology, and viral genomic target region that confer unique analytical performances for each one. Here, we compare four commercial HPV assays in consecutive samples from our HPV detection routine that's include 1/3 of men and 2/3 women.

Methods:

The assays were Hybrid Capture (HC2-Qiagen), Papillocheck (Greiner-bio-one), Clart-HPV2 (Biomerieux), and Real-Time High-Risk HPV (Abbott-PCR). Ninety two (61 women and 31 men) consecutive genital samples were included. Requesting physician performed the samples collections in Specimen Transport Medium (Qiagen). Results were shown as HPV positivity (any HPV detected) and High-Risk HPV positivity (at least one HR-HPV detected). Statistical analysis were chi-square test and Cohen' Kappa agreement coefficient. In divergence investigation, fail was characterized by a negative result in a sample classified positive in any other method, except if the genotype was not detected by the method.

Results:

The overall concordance was 78.7% for women and 45.2% for men. HPV positivity was 19.7, 24.6, 27.9 and 27.9% ($P=0.69$) in women and 29.0, 58.1, 67.7 and 32.3% in men ($P=0.0035$) for HC2, Papillocheck, Clart-HPV2 and Abbott-PCR, respectively.

HR-HPV positivity was 18.0, 19.7, 24.6 and 27.9% (P=0.58) in women and 22.6, 38.7, 48.4 and 32.3% in men (P=0.18) for HC2, Papillocheck, Clart-HPV2 and Abbott-PCR, respectively. The concordance and kappa between each method are shown in Table 1. HC2, Papillocheck, Clart-HPV2 and Abbott-PCR fail in 13.1, 9.8, 8.2 and 0% of the samples in women and in 35.5, 12.9, 3.2, and 12.9% in men, respectively. Not detected genotype account for 8.2% and 19.3% of the divergence in women and men, respectively.

Conclusion:

For women, HC2, Papillocheck, Clart-HPV2 and Abbott-PCR shown similar analytic performances. For men, Papillocheck and Clart-HPV2 shows better analytic performance than HC2 and Abbott-PCR.

Table 1. The concordance (%) and kappa between each HPV assay

			HPV Detection			HR HPV Detection		
	Method 1	Method 2	Agreement (%)	Kappa	Interpretation	Concordance (%)	Kappa	Conclusion
Women	HC2	Papillocheck	91.80	0.763	Good	93.44	0.778	Good
	HC2	Clart-HPV2	91.80	0.776	Good	93.44	0.806	Very Good
	HC2	Abbott-PCR	85.25	0.597	Moderate	90.16	0.726	Good
	Papillocheck	Clart-HPV2	86.89	0.662	Good	90.16	0.709	Good
	Papillocheck	Abbott-PCR	83.61	0.577	Moderate	88.52	0.686	Good
	Clart-HPV2	Abbott-PCR	90.16	0.755	Good	93.44	0.831	Very Good
Men	Method 1	Method 2	Concordance (%)	Kappa	Agreement	Concordance (%)	Kappa	Agreement
	HC2	Papillocheck	70.97	0.456	Moderate	83.87	0.632	Good
	HC2	Clart-HPV2	48.39	0.101	Poor	67.74	0.343	Fair
	HC2	Abbott-PCR	77.42	0.469	Moderate	83.87	0.599	Moderate
	Papillocheck	Clart-HPV2	77.42	0.521	Moderate	83.87	0.668	Good
	Papillocheck	Abbott-PCR	74.19	0.512	Moderate	90.32	0.786	Good
Clart-HPV2	Abbott-PCR	64.52	0.37	Fair	83.87	0.674	Good	

EDTA-mediated inhibition of nuclease protects cell-free DNA from ex-vivo degradation in blood samples (Premiação na divisão em excelência em pesquisa no setor de patologia molecular no congresso AACCC "Annual Meeting and Clinical Laboratory Exposition" em Houston-TX, 2013)

Julia Almeida Vasques^{1,2}, Ticiane Henriques Santa Rita², Camilla Figueiredo Chianca², Lara Franciele Ribeiro Velasco¹, Lidia Freira Abdlla Nery¹, Sandra Santana Soares Costa¹, Gustavo Barcelos Barra^{1,2}

Laboratório Sabin de Análises Clínicas¹, Brasília, Brasil
Universidade de Brasília², Brasília, Brasil

Background:

The cell-free DNA (cfDNA) in bloodstream is becoming an important analyte. Several studies have shown that its measurement is useful for monitoring patients with cancer and other health conditions. Moreover, the fetal cfDNA in the maternal circulation is currently the method of choice for non-invasive determination of fetal genetic traits. However, cfDNA is unprotected and it may be susceptible to known blood high nuclease activity. In this study, we use Y chromosome-specific sequence (DYS-14) levels in maternal serum and EDTA-plasma to investigate the ex-vivo impact of this nuclease activity on cfDNA quantity.

Methods:

This study used banked (-20°C) EDTA-plasma and serum paired samples (n=34) from women with a male fetus (gestational age, 12 ± 4 weeks). Informed consent was obtained from all participants and institutional review board approved the study. Experiments were done with sets of 9-10 paired samples, except the -20°C/4°C/24°C assay (EDTA plasma and serum sample were not paired). Nucleic acid extraction was performed by using Nuclisens easyMAG (bioMerieux). DYS-14 assays were performed on a StepOne Real-time PCR Systems (Applied Biosystems) by using of hydrolysis probe chemistry and absolute quantification. The results were shown as median (Genomic Equivalents/mL). Statistical analyses were Wilcoxon's test or Friedman's test. For exogenous nuclease assay samples were treated or not with 25U of DNase I (Fermentas) for 1 hour at 37°C before DYS-14 assay. For endogenous nuclease assay a hydrolysis probe and a passive reference (ROX) were added to the crude serum or EDTA-plasma, fluorescence increase were measured for 10 hours at 37°C in the Real-time PCR System. For serum nuclease inhibition assay a serial dilution of EDTA from 0.000005 to 50 mM was used.

Results:

DYS-14 quantity was higher in EDTA-plasma than in serum (24.77 *versus* 18.13 GE/ml, P=0.0137). This difference increased after specimen exposure to 37°C for 24 hours, 22.22 GE/ml for EDTA-plasma *versus* 5.18 GE/ml for serum, P=0.002. Next, the samples were subject to -20°C, 4°C or 24°C for 24 hours and no difference was observed on DYS-14 concentration in EDTA-plasma, 36.24, 38.02 and 37.31 GE/ml (p=0.328), respectively. In serum, DYS-14 concentration was reduced at 24°C (11.60 GE/ml) compared to -20°C (18.65 GE/ml) and 4°C (17.90 GE/ml), p = 0.0002. Furthermore, DNase-I treatment did not alter the DYS-14 amount in EDTA-plasma (untreated 16.07 *versus* treated 17.57 GE/ml, p=0.42) but completely eliminates it in serum, (untreated 9.21 *versus* treated 0.0003 GE/ml, p=0.0039). Additionally, hydrolysis probe degradation could be detected in serum (12.7-fold) but not in EDTA-plasma (0.28-fold). Finally, hydrolysis probe and DYS-14 degradation in serum was inhibited from 0.5 mM of EDTA.

Conclusions:

We found that cfDNA is subject to a temperature-triggered degradation in serum but not in EDTA-plasma. Moreover, exogenous and endogenous nucleases were active only in serum. EDTA probably by chelation of divalent ions inhibits blood nucleases conferring an *ex-vivo* protection to cfDNA. Ultimately, we developed a real-time fluorescence method to detect nuclease activity in clinical samples.

Allele frequencies for fifteen autosomal short tandem repeats a population sample from Federal District (Brazil) - a territory that arose from nothing to the reality (IV Congresso Brasileiro de Genética Forense em São Paulo-SP, 2013)

Ticiane Henriques Santa Rita², Camilla Figueiredo Chianca², Lidia Freira Abdlla Nery¹, Sandra Santana Soares Costa¹, Lara Franciele Ribeiro Velasco¹, Cláudia Ferreira de Souza¹, Gustavo Barcelos Barra^{1,2}

Laboratório Sabin de Análises Clínicas¹, Brasília, Brasil
Universidade de Brasília², Brasília, Brasil

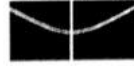
Background:

International journal of legal medicine, publicado no dia 04 de maio de 2013
DOI 10.1007/s00414-013-0866-z
PMID: 23645165

Haplotype diversity of 23 Y-chromosomal STRs in a population sample from Federal District (Brazil) – A territory that arose from nothing to the reality
(artigo aceito para publicação)

Gustavo Barcelos Barra, Camilla Figueiredo Chianca, Ticiane Henriques Santa Rita, Lara Franciele Ribeiro Velasco, Claudia Ferreira de Souza.
Camilla Chianca divide primeira autoria com o Dr. Gustavo Barra
International journal of legal medicine

ANEXO I – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/FS

PROCESSO DE ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro do Projeto no CEP: **165/12**

Título do Projeto: “Análise populacional de 22 loci microssatélites no Distrito Federal”.


Pesquisadora Responsável: Gustavo Barcelos Barra

Data de Entrada: 17/10/12

Com base na Resolução 196/96, do CNS/MS, que regulamenta a ética em pesquisa com seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, após análise dos aspectos éticos e do contexto técnico-científico, resolveu **APROVAR** o projeto **165/12** com o título: “Análise populacional de 22 loci microssatélites no Distrito Federal”, analisado na 11ª Reunião Ordinária, realizada no dia 11 de dezembro de 2012.

O pesquisador responsável fica, desde já, notificado da obrigatoriedade da apresentação de um relatório semestral e relatório final sucinto e objetivo sobre o desenvolvimento do Projeto, no prazo de 1 (um) ano a contar da presente data (item VII.13 da Resolução 196/96).

Brasília, 13 de dezembro de 2012.


Thiago Rocha da Cunha
Vice-Coordenador do CEP-FS/UnB