

Fenotipagem forense pelo DNA através de SNPs

M.B. Virmond^a, A.W. Robert^a, P.B. Brito^a, T.Y.C. Massuda^{b,*}

^a Instituto de Capacitação e Especialização, EQUILIBRA, Curitiba (PR), Brasil

^b Divisão de Laboratórios, Polícia Científica do Paraná, Curitiba (PR), Brasil

*Endereço de e-mail para correspondência: mavirmond@gmail.com. Tel.: +55-41-3511-8600.

Recebido em 28/03/2016; Revisado em 23/06/2016; Aceito em 27/06/2016

Resumo

A fenotipagem forense pelo DNA se apresenta como uma abordagem promissora para suprir lacunas na busca de pessoas desconhecidas, em investigações criminais, e na identificação de vítimas de catástrofes e de pessoas desaparecidas. Essa metodologia permite a previsão individual de características externamente visíveis (CEVs) a partir de análises com SNPs informativos de fenótipos. Entre esses SNPs, os mais bem descritos são aqueles relacionados com as características de pigmentação, como cor dos olhos, pele e cabelo. Estudos vêm demonstrando o elevado poder de predição dessas CEVs, apresentando resultados satisfatórios na predição da cor de íris castanha e azul e cabelo ruivo, enquanto para as demais ainda são necessárias mais pesquisas para prever com precisão esses fenótipos. Embora seja muito promissora, a aplicação prática da fenotipagem forense pelo DNA levanta diversas questões de ordem ética e legal. No Brasil, avanços ainda precisam acontecer, uma vez que a população brasileira é heterogênea e grande parte dos marcadores descritos é relacionada às populações europeias. Neste sentido, o Brasil já conta com a Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG), a qual visa compartilhar e comparar os perfis genéticos entre os bancos do país. Em um futuro próximo essa metodologia estará apta a integrar às rotinas forenses, com grande aplicabilidade e confiabilidade.

Palavras-Chave: SNPs Informativos de Fenótipos; Características Externamente Visíveis (CEVs); Pigmentação; Genética Forense.

Abstract

The forensic DNA phenotyping appears as a promising approach to fill gaps in finding unknown people, in criminal investigations, and the identification of disaster victims and missing people. This methodology allows the individual prevision of externally visible characteristic (EVCs) from analysis with phenotyping informative SNPs. Among these SNPs the most well described are those related to the pigmentation characteristics, such as eye, skin and hair color. Studies have demonstrated the predictive high power of these EVCs, showing great results in predicting the brown and blue iris color and red hair, but for the others still need more research to accurately predict these phenotypes. Although it is very promising, the practical application of forensic DNA phenotyping raises several questions of ethical and legal order. In Brazil, improvements need to happen, once the Brazilian population is heterogeneous and many of the described markers are related to European populations. This way, Brazil already has the Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG), which aims to share and compare the genetic profiles between all databases of the country. In a near future this method will be able to integrate the forensic routines, with wide applicability and reliability.

Keywords: Phenotype Informative SNPs; Externally Visible Characteristics (EVCs); Pigmentation; Forensic Genetics.

1. INTRODUÇÃO

Os avanços tecnológicos e as pesquisas acerca do genoma humano têm produzido significativos impulsos no ramo das ciências forenses. Atualmente, com grande sensibilidade e elevado poder de discriminação, a análise de DNA se faz uma ferramenta poderosa e necessária para a elucidação de problemas jurídicos como investigação de paternidade, perícias criminais em

amostras biológicas e identificação humana.

Ao longo das últimas décadas, o marcador molecular STR (Short Tandem Repeat) tem sido o mais utilizado em análises genéticas forenses [1]. STRs são sequências polimórficas de 1 a 6 nucleotídeos repetidos em tandem, encontradas nos genomas dos eucariontes [2]. Apesar da eficácia destes marcadores, os polimorfismos de nucleotídeo único (do inglês, Single Nucleotide Polymorphisms; SNPs), classe mais abundante de

polimorfismos humanos [3], vem despertando grande interesse na área forense, principalmente após a criação do HapMap, um mapa de haplótipos do genoma humano que permitiu a identificação e a tipagem de SNPs comuns a diferentes grupos étnicos. (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Os SNPs são alterações (substituições, deleções ou inserções) em um único nucleotídeo na sequência de DNA [4,5]. Essas modificações pontuais podem ocorrer no nosso genoma em regiões codificadoras ou com função regulatória, porém, na maioria das vezes se encontram em espaços intergênicos, sem função determinada ainda [4,6].

A característica bialélica dos SNPs, frente ao multialelismo dos STRs, faz com que sejam menos informativos para fins de identificação e que a interpretação de amostras com misturas ou contaminação seja limitada. No entanto, os SNPs apresentam algumas vantagens para aplicações forenses em relação aos STRs, como: taxa de mutação muito baixa (10⁻⁸); produtos de amplificação pequenos, o que potencializa a análise de amostras degradadas [3,7-8]; capacidade de previsão de origem biogeográfica; e provimento de informações fenotípicas [9].

Os SNPs empregados em análises de genética forense podem ser classificados em: (1) SNPs de identificação humana, os quais fornecem dados para individualização; (2) SNPs informativos de linhagem, que são marcadores de haplótipos para identificar pessoas desaparecidas através de análise de parentesco; (3) SNPs informativos de ancestralidade, os quais permitem indicar a ascendência biogeográfica de um indivíduo a fim de obter indiretamente algumas características fenotípicas; (4) SNPs informativos de fenótipos, usados para inferir a probabilidade de um indivíduo possuir característica fenotípica particular, como cor dos olhos, da pele, do cabelo, etc [8].

Na falta de um banco de dados universal de perfis de DNA, na carência das bases de dados de DNA forense e na não correspondência de um perfil de DNA com amostras de referência, qualquer informação acerca do doador de uma amostra obtida em uma cena de crime se torna útil [10,11]. A fenotipagem forense pelo DNA permite a previsão individual de características externamente visíveis (CEVs) a partir de análises com SNPs informativos de fenótipos. Essa metodologia se apresenta como uma abordagem promissora para suprir lacunas na busca de pessoas desconhecidas, em investigações criminais e na identificação de vítimas de catástrofes e de pessoas desaparecidas.

Tendo em vista o caráter promissor da predição de CEVs na área da genética forense, o objetivo deste artigo é apresentar, com base na literatura científica disponível, os aspectos teóricos, técnicos, éticos e legais relativos à fenotipagem forense pelo DNA a partir de

SNPs informativos de fenótipos, bem como perspectivas da aplicação desta metodologia nas rotinas forenses do Brasil.

2. FENOTIPAGEM FORENSE PELO DNA ATRAVÉS DE SNPS INFORMATIVOS DE FENÓTIPOS

A fenotipagem forense pelo DNA visa à previsão de CEVs de doadores de amostras coletadas a partir de materiais biológicos encontrados em uma cena de crime [12]. Tal ferramenta funciona como uma “testemunha biológica”, podendo corroborar os depoimentos das testemunhas e, principalmente, limitar o número de potenciais suspeitos, os quais estarão sujeitos à análise de perfil de DNA (usualmente com marcadores moleculares STRs) para fins de identificação [12,13]. Esse método também se apresenta útil na busca de pessoas desaparecidas ou vítimas de desastres, quando amostras de referência ante morte ou de parentes próximos estão indisponíveis [12] e em estudos de antropologia com fins de reconstrução facial de restos humanos desconhecidos [8].

A efetivação dessa metodologia se dá a partir da determinação de polimorfismos genéticos específicos, os SNPs informativos de fenótipos. Essas mutações pontuais no DNA se expressam no fenótipo de cada indivíduo. O fenótipo pode ser definido como as características morfológicas, fisiológicas e comportamentais detectáveis em um organismo, como produto da composição genética do mesmo e da influência de fatores ambientais. Assim, as proteínas que o genótipo codifica determinam, em conjunto com o ambiente, as CEVs de um indivíduo.

As características fenotípicas podem ser simples, se determinadas pela expressão de apenas um gene, ou complexas, como resultado da interação de vários fatores (diferentes genes interagindo entre si, em conjunto, ou não, com a ação do meio ambiente) [14]. As CEVs são consideradas características complexas, o que torna mais difícil a identificação dos genes envolvidos na expressão das mesmas [13]. No entanto, muitos estudos acerca de SNPs informativos de fenótipos têm se concentrado nas características de pigmentação humana [8,15], uma vez que a hereditariedade destas características é alta e um número relativamente pequeno de genes é suficiente para fornecer a maioria da informação fenotípica de interesse [9,12]. Assim, a previsão de fenótipos relacionados com a pigmentação é a mais utilizada atualmente, pois já pode ser inferida com maior grau de precisão em relação a outras CEVs, que estão ainda sob investigação genética [12], além de já se ter informações acerca de diversos SNPs associados a tais características (Tab. 1).

Tabela 1. SNPs utilizados em testes para predição de características fenotípicas relacionadas a pigmentação.
Referências utilizadas: www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/; [12, 16–21]

SNPs	Gene ¹	Cromossomo	Localização ou consequência funcional	Relacionada a pigmentação de
rs2378249	ASIP	20	Íntron ²	Cabelo
rs6119471	ASIP	20	Íntron	Olho e pele
rs6058017	ASIP	20	Variante na extremidade 3'UTR; Íntron	Olho e pele
rs4959270	EXOC2	6	Íntron	Cabelo
rs12913832	HERC2	15	Íntron	Olho, pele e cabelo
rs12203592	IRF4	6	Íntron	Olho, pele e cabelo
rs10777129	KITLG	12	Íntron	Pele
rs12821256	KITLG	12	Região intergênica ³	Olho e cabelo
N29insA	MC1R	16	Éxon	Cabelo e pele
Y152OCH	MC1R	16	Éxon	Cabelo e pele
rs11547464	MC1R	16	Missense ⁴	Cabelo e pele
rs885479	MC1R	16	Missense	Olho, pele e cabelo
rs1805008	MC1R	16	Missense	Olho, pele e cabelo
rs1805005	MC1R	16	Missense	Cabelo e pele
rs1805006	MC1R	16	Missense	Cabelo e pele
rs1805007	MC1R	16	Missense	Olho, pele e cabelo
rs1805009	MC1R	16	Missense; variante upstream do gene	Cabelo e pele
rs2228479	MC1R	16	Missense	Olho, pele e cabelo
rs1110400	MC1R	16	Missense	Cabelo e pele
rs1545397	OCA2	15	Íntron	Olho e pele
rs4778138	OCA2	15	Íntron	Olho
rs1800407	OCA2	15	Missense	Olho, pele e cabelo
rs1448484	OCA2	15	Íntron	Pele
rs12896399	SLC24A4	14	Íntron	Olho e cabelo
rs2402130	SLC24A4	14	Íntron	Cabelo e pele
rs1426654	SLC24A5	14	Missense	Olho, pele e cabelo
rs13289	SLC45A2	5	Variante upstream do gene	Pele
rs26722	SLC45A2	5	Íntron; missense; variante em gene não codificante	Olho
rs16891982	SLC45A2	5	Missense; Variante na extremidade 3'UTR; variante em gene não codificante	Olho, pele e cabelo
rs28777	SLC45A2	5	Variante downstream do gene; Íntron	Cabelo e pele
rs3829241	TPCN2	11	Íntron; missense; variante em gene não codificante	Pele
rs1393350	TYR	11	Íntron	Olho, pele e cabelo
rs1042602	TYR	11	Missense	Olho, pele e cabelo
rs1408799	TYRP1	9	Região intergênica	Olho e pele

¹ Nome dos genes (em inglês): ASIP- Agouti Signaling Protein; EXOC2 - Exocyst Complex Component 2; HERC2 - E3 ubiquitin-protein ligase; IRF4 - interferon regulatory factor 4; KITLG - KIT Ligand; MC1R - melanocortin 1 receptor; OCA2 - oculocutaneous albinism II; SLC24A4 - Solute Carrier Family 24, Member 4; SLC24A5 - Solute Carrier Family 24, Member 5; SLC45A2 - Solute carrier family 45, member 2; ou MATP, Membrane-associated transporter protein; TPCN2 - two pore segment channel 2; TYR - tyrosinase; TYRP1 - Tyrosinase-related protein 1.

² Íntron – sequência de nucleotídeos removida durante o processamento do RNA mensageiro; presente entre éxons.

³ Região intergênica – região entre genes.

⁴ Mutação missense - É uma mutação pontual onde apenas um nucleotídeo é modificado e resulta em um códon que codifica para um aminoácido diferente do normal.

3. CEVS ASSOCIADAS À PIGMENTAÇÃO

Atualmente, as CEVs associadas à pigmentação (cor dos olhos, da pele e do cabelo) são as melhores representantes da aplicação prática da fenotipagem forense pelo DNA [12].

A melanina é o principal pigmento que dá cor aos nossos olhos, pele e cabelo. Essa substância é uma mistura complexa de biopolímeros que se localizam na íris, no bulbo capilar e na camada basal da epiderme [22]. Sua síntese ocorre nos melanócitos, células especializadas que contêm no citoplasma organelas denominadas melanossomas, responsáveis pela produção e armazenamento da melanina. A melanogênese (Fig. 1) dá origem à feomelanina, que é

um pigmento vermelho/amarelo e à eumelanina, pigmento castanho/preto [9]. A tirosinase é a enzima chave desse processo, fazendo a mediação das primeiras etapas da síntese de ambos os pigmentos: a hidroxilação da tirosina em dopa e a subsequente oxidação para dopaquinona [22-24].

A pigmentação humana regula-se com base em fatores relacionados à melanina e aos melanossomas, diferindo, conseqüentemente, em cada CEV. O tipo de melanina, bem como o número, tamanho e distribuição dos melanossomas são responsáveis por regular a pigmentação da pele e do cabelo [9], já a cor dos olhos determina-se a partir do tipo, distribuição e quantidade de melanina presente na íris [23].

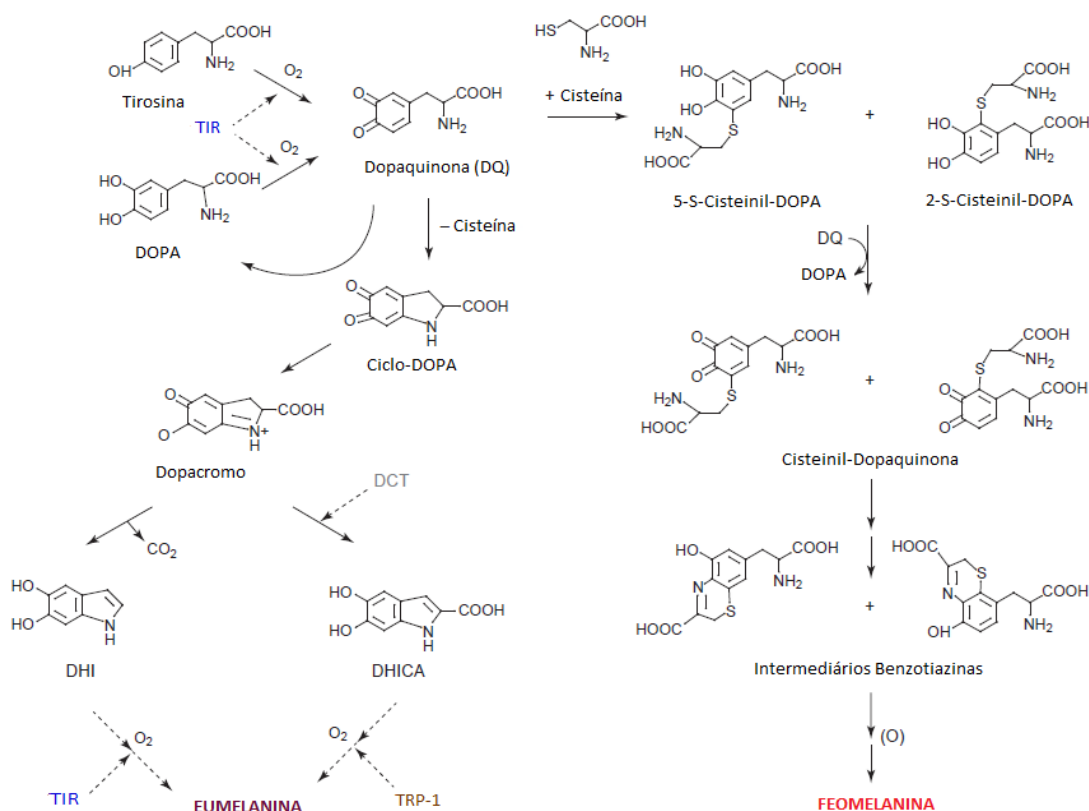


Figura 1. Síntese da melanina. TIR – tirosinase; TRP-1 – Proteína relacionada à tirosinase 1; DCT – DOPAcromo tautomerase; DHI – 5,6-Dihidroxiindol; DHICA – 5,6-Dihidroxiindol-2-Carboxílico. Adaptado de [23].

3.1. Cor dos olhos

A íris humana apresenta uma gama de cores que vai dos tons mais claros de azul ao marrom escuro ou preto [23], sendo comumente utilizadas em estudos genéticos as categorias: azul, verde ou intermediário e castanho [25]. Os olhos castanhos são encontrados na maioria da população humana ao longo do mundo, enquanto os olhos azuis e verdes são praticamente exclusivos de europeus e descendentes [25].

A cor dos nossos olhos é determinada pelo tipo, quantidade e distribuição de melanina na camada externa da íris (estroma iridal anterior) [23]. Deste modo, os olhos de tons castanhos possuem altos níveis de pigmento (principalmente eumelanina) e grande quantidade de melanossomas, os esverdeados contêm níveis moderados de melanina e de melanossomas e os azuis, baixa concentração tanto de melanina quanto de melanossomas [9,23] (Fig. 2).

Das previsões das CEVs associadas à pigmentação, aquelas relacionadas com a cor dos olhos têm sido realizadas com maior precisão [10], principalmente quando se trata de indivíduos de ancestralidade europeia, uma vez que estudos de associação genômica (do inglês, genome-wide association studies; GWAS) [25,26] identificaram, com exatidão, SNPs em diferentes genes associados à variação da cor dos olhos nos europeus.

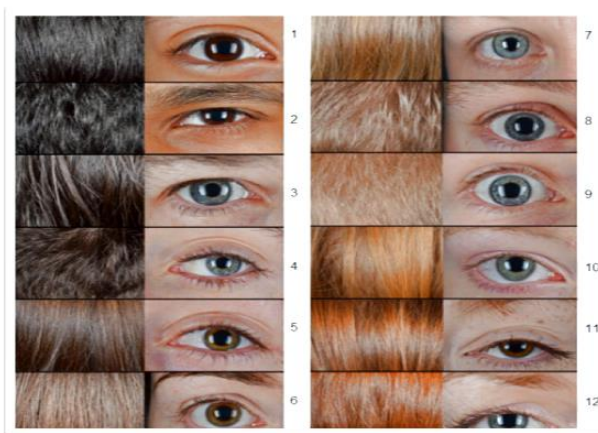


Figura 2. Exemplos ilustrativos de previsão simultânea de cor dos olhos e cabelos de 12 indivíduos no sistema HirisPlex®. 1: cabelo preto e olhos castanhos, 2: cabelo castanho escuro/preto e olhos castanhos, 3: cabelo castanho escuro/preto e olhos azuis, 4: cabelo castanho/castanho escuro e olhos azuis, 5: cabelo castanho/castanho médio e olhos castanhos, 6: cabelo castanho e olhos castanhos (provavelmente com partes não-castanhas), 7: cabelo louro/louro escuro e olhos azuis, 8: cabelo louro e olhos azuis, 9: cabelo louro/louro escuro e olhos azuis, 10: cabelo ruivo e olhos azuis, 11: cabelo ruivo e olhos castanhos (provavelmente com partes não-castanhas), e 12: cabelo ruivo e olhos azuis. Adaptado de [12].

Diversas pesquisas vêm produzindo significativos avanços acerca da compreensão genética da cor dos olhos humanos a partir de análises de ligação genética, estudos de genes candidatos e GWAS [25-29]. O gene

OCA2, localizado no cromossomo 15, é responsável por codificar a proteína P e quando sofre mutação origina uma desordem de pigmentação, o albinismo oculocutâneo tipo II [30]. Há poucos anos, acreditava-se que esse era o principal gene relacionado à pigmentação da íris humana, porém um estudo posterior demonstrou grande associação apenas no primeiro íntron, sugerindo então que a origem do sinal de associação poderia ser externa [31]. Essa hipótese foi corroborada por estudos que demonstraram que o gene *HERC2*, localizado próximo ao *OCA2*, é o mais importante gene da cor dos olhos e variações neste regulam a expressão do *OCA2* [25, 28-29].

No ano de 2008, em estudos paralelos, Eiberg et al. e Sturm et al. atribuíram ao SNP rs12913832, no gene *HERC2*, maior poder de predição da cor dos olhos [28-29]. Kayser et al. [25], por sua vez, desenvolveram um estudo utilizando 3 SNPs de previsão de cor dos olhos: rs916977 (*HERC2*), rs11855019 (*OCA2*) e rs7495174 (*OCA2*), e destacaram o SNP rs916977 como o mais informativo, sugerindo grande potencial do mesmo para aplicações forenses. A região *HERC2/OCA2* fornece maiores informações fenotípicas acerca dos olhos azuis e castanhos [13,25,28-29], assim novas pesquisas de associação genômica foram desenvolvidas, identificando outros genes contribuintes, em menor escala, para a variação da cor dos olhos: *SLC24A4*, *SLC45A2*, *TYRP1*, *TYR*, *ASIP* e *IRF4* [26-27,32].

Em experimento de previsão de cor de olhos e cabelo em diversas populações, Spichenok et al. [16], utilizaram 7 SNPs localizados próximos ou dentro de genes conhecidos pela sua importância na pigmentação. Dos 7 SNPs testados, 6 apresentaram resultados satisfatórios na predição de cor dos olhos, com taxas de erro muito baixas: rs12913832 (*HERC2*), rs1545397 (*OCA2*), rs16891982 (*SLC45A2*), rs885479 (*MC1R*), rs6119471 (*ASIP*), rs12203592 (*IRF4*) [16]. Assim, os autores inferiram que estes podem ser marcadores úteis em testes forenses, uma vez que são aplicáveis a todas as populações, independente da origem étnica, e possuem alta acurácia.

Um importante estudo foi desenvolvido por Liu et al. [33] a fim de investigar o poder de predição da cor dos olhos de mais de 6000 holandeses e para tal, foram selecionados, inicialmente, 37 SNPs de 8 genes distintos. Do total, apenas 6 SNPs de 6 genes (rs12913832, *HERC2*; rs1800407, *OCA2*; rs12896399, *SLC24A4*; rs16891982, *SLC45A2*; rs1393350, *TYR*; e rs12203592, *IRF4*) se destacaram pela alta capacidade informativa, sendo as íris castanhas previsíveis com 93%, as azuis com 91% e as de tons intermediários com 72% [33]. Com base nestes SNPs, no ano de 2010 foi desenvolvido o primeiro sistema de fenotipagem forense pelo DNA, o IrisPlex® [17].

O IrisPlex® é um sistema de genotipagem multiplex

baseado nos 6 SNPs mais informativos de cor dos olhos. Essa ferramenta permite prever, com altos índices de precisão (>90%), íris azuis e castanhas, bem como obter resultados satisfatórios a partir de amostras degradadas e/ou com pequena quantidade de DNA, devido à sua elevada sensibilidade [17]. Ainda com o intuito de aprimorar as análises e práticas forenses, um novo sistema de fenotipagem pelo DNA foi desenvolvido pelo mesmo grupo [18]. O sistema HIrisPlex® consiste na predição simultânea da cor dos olhos e do cabelo, usando um único ensaio de genotipagem multiplex, com base nos mesmos 6 SNPs do IrisPlex® somados à 22 variantes de DNA relacionadas com a cor do cabelo (sendo 4 SNPs equivalentes à ambos). Esse ensaio possui alta sensibilidade permitindo previsões adequadas de amostras degradadas (fragmentos <160pb) e muito pequenas (pelo menos 63 pg de DNA), sendo 79% a média individual aproximada da predição de cor de cabelo [18]. A fim de corroborar a aplicação desta ferramenta nas práticas forenses foram realizados testes em amostras de casos simulados, de sangue, sêmen e saliva (algumas com quantidade ínfima de DNA) e em 88% dos casos foram produzidos perfis completos de DNA [34].

Embora grandes avanços tenham sido realizados nas análises genéticas preditivas de fenótipos associados à pigmentação da íris humana, atualmente, a predição das cores intermediárias dos olhos ainda representa um grande desafio para a fenotipagem forense pelo DNA. Deste modo, se faz necessário o desenvolvimento de estudos com o intuito de descobrir se existem variantes adicionais do DNA, até então desconhecidas, que contribuem especificamente na expressão desses tons [12], para que então a aplicação dessas metodologias nas rotinas forenses seja fundamentada em análises de alta aplicabilidade e confiabilidade.

3.2. Cor do cabelo

Diferente da cor dos olhos, a cor do cabelo pode sofrer alterações ao longo dos anos, tons louros na infância podem escurecer durante a adolescência e com o passar da vida adulta há o aparecimento de fios brancos. Essas alterações podem estar relacionadas a fatores hormonais, gênero, idade, exposição solar e inflamações, mas o principal determinante da cor natural do cabelo é genético e está ligado à presença de melanossomas no bulbo capilar. A diferença nos tons naturais do cabelo (louro, ruivo, castanho e preto) dá-se pela variação da quantidade, tamanho, composição e distribuição desses melanossomas [9].

A tonalidade dos fios castanhos e pretos deve-se à presença de melanossomas com elevada densidade de eumelanina, sendo a coloração do cabelo mais escura quanto maior o tamanho do melanossoma e maior a densidade do pigmento depositado. Já o cabelo louro

caracteriza-se por melanossomas menores e com menos pigmentação. Nos cabelos ruivos há uma deposição maior de feomelanina ou, em alguns casos, de eumelanina oxidada resultando num tom amarelo/avermelhado semelhante ao produzido pela feomelanina. Por fim, nos fios brancos há uma redução dos melanócitos e os que ainda persistem apresentam significativa diminuição de melanina [9].

A origem embrionária dos melanócitos da pele e cabelo é a mesma, porém os genes que afetam a pigmentação podem se expressar de maneira independente, gerando combinações diferenciadas de cores de pele e cabelo. O gene melhor descrito como contribuinte na variação normal da pigmentação em humanos é o MC1R [35].

O gene MC1R localiza-se no braço longo do cromossomo 16 e é responsável por codificar o receptor de melanocortina 1 (MC1R) acoplado à proteína G, presente na membrana dos melanócitos [36]. É um gene altamente polimórfico e que possui efeito pleiotrópico (expressa uma multiplicidade de efeitos fenotípicos) [37]. Desempenha papel fundamental no controle da melanogênese, assim, quando há perda das funções mutantes funciona como um interruptor da produção de eumelanina, permitindo a produção excessiva de feomelanina, que se manifesta no cabelo ruivo e pele clara [38]. A associação do gene MC1R com o cabelo ruivo foi inicialmente inferida em 1995 e desde então diversos estudos vêm confirmando essa relação [26,39-41], permitindo a aplicação de tal conhecimento em análises forenses, mesmo com a limitação populacional deste fenótipo (quase exclusivo da população europeia).

No entanto, diversos GWAS foram capazes de identificar SNPs em genes associados a cores não ruivas de cabelo, como: SLC24A4, KITLG, HERC2, OCA2, TYR, MATP, TPCN2, e IRF4, sendo alguns associados também com a cor da íris e da pele [26,32,41]. Um estudo conduzido por Branicki et al. [42], em 385 indivíduos europeus revelou que o SNP rs12913832 no gene HERC2 está significativamente associado a todas as cores de cabelo, e mais intimamente com marrom e preto. SNPs em SLC45A2 (rs28777), IRF4 (rs12203592) e EXOC2 (rs4959270) se mostraram relacionados com a cor preta dos cabelos, enquanto alguns SNPs no gene ASIP com o cabelo ruivo (rs2378249), o louro escuro (rs2378249), e o louro-avermelhado (rs1015362) [42]. O gene OCA2 (rs4778138) expressa grande influência na coloração marrom do cabelo, enquanto o gene SLC24A4 está associado a cor loira (rs4904868) e loira escura (rs2402130) dos cabelos. Assim, a maioria dos genes utilizados neste estudo são capazes de prever com alta precisão a cor dos cabelos [42].

Tendo em vista então o elevado poder de predição dos SNPs já identificados e testados acerca da cor do

cabelo, pode-se aferir que essa técnica possui grande aplicabilidade nas práticas forenses. Como dito anteriormente, foi criado para tal finalidade um sistema de predição simultânea de cor de olhos e cabelo, o HirisPlex® (Fig. 2) [18]. Para a predição de cor de cabelo foram selecionados 22 SNPs dos seguintes genes: MC1R, HERC2, OCA2, SLC24A4, SLC45A2, IRF4, EXOC2, TRYP1, TYR, KITLG e PIGU/ASIP. Esse sistema apresenta, em média, uma precisão de 69,5% para cabelo louro, 78,5% para castanho, 80% para ruivo e 87,5% para preto, e atua independente da origem bio-geográfica da amostra. No entanto, ainda não é capaz de determinar quando há mudança na cor dos cabelos durante a adolescência. No caso de crianças loiras desaparecidas, por exemplo, não há como prever se seus cabelos escureceram com passar dos anos, o que conduz a uma incerteza de aproximadamente 30% sobre a predição dos cabelos louros, dentro do conjunto de dados analisado. Assim, Walsh et al. [18] ressaltam que enquanto não houver biomarcadores conhecidos para informativos de cor de cabelo em relação à idade não será possível a redução de tais erros. Os autores sugerem, ainda, uma análise complementar de idade molecular na amostra coletada na cena do crime nos seguintes casos: o suspeito possui cabelos grisalhos ou brancos (para determinar se o cabelo possuía coloração no momento em que o suspeito deixou a amostra); a amostra é muito antiga (para saber se atualmente o indivíduo possui cabelos brancos) [18].

Estudos acerca da genética de cabelos grisalhos e de biomarcadores que relacionem a coloração dos cabelos com a idade ainda precisam ser aprofundados para que os resultados de predição de cor de cabelo através de SNPs, inclusive a partir do HirisPlex®, forneçam informações precisas e confiáveis para auxiliar as investigações forenses [12,18].

3.3. Cor da pele

A pigmentação da pele humana possui forte correlação com a distribuição climática, a qual está relacionada com os níveis de radiação ultravioleta (RUV) (Fig. 3A). As diferenças de cor da pele podem ter surgido como resultado de duas adaptações necessárias: a primeira, vinculada a proteção contra a RUV e a segunda, para absorção de vitamina D. Assim, populações que vivem mais próximas à linha do Equador geralmente têm pele mais escura para se proteger da RUV (que é elevada nessa região) e para diminuir a perda de ácido fólico. Já quanto mais distante da linha do Equador menos pigmentada é a pele, pois os indivíduos que vivem ali precisam da RUV para absorção de vitamina D [21,43].

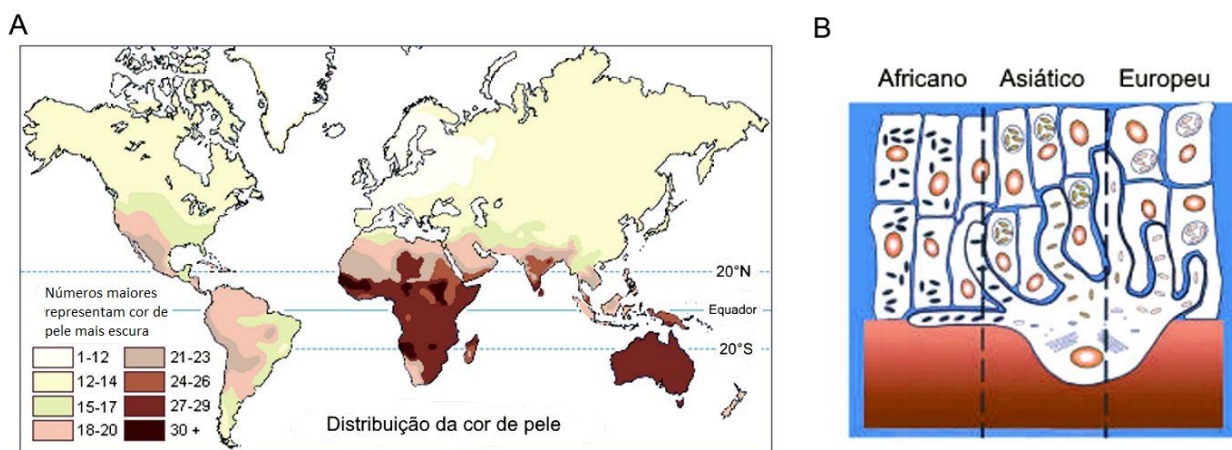


Figura 3. Pigmentação da pele em diferentes regiões do mundo. A) Distribuição geográfica da cor da pele. B) Relação do tamanho e número dos melanossomos na pele clara, intermediária e escura; comparando 3 populações diferentes: africana, asiática e europeia. Imagem adaptada de [44].

Embora a cor da pele tenha relação com a adaptação ao clima, sabe-se também que está relacionada com o processo de melanogênese. Indivíduos com pele clara ou escura tem número similar de melanócitos, mas os melanossomos são maiores, mais numerosos e mais pigmentados em indivíduos com pele escura. Aqueles com pele clara têm melanossomos menos pigmentados, ricos em eumelanina marrom-claro e feomelanina amarela/vermelha (Fig. 3B) [44].

Através de GWAS, vários genes foram relacionados à pigmentação, assim como uma série de SNPs nestes genes. Utilizando estas abordagens de larga escala, diversos grupos têm buscado caracterizar SNPs relacionados a coloração da pele em populações específicas [41,45-47].

Sabendo da complexidade do processo de pigmentação e da seleção relacionada à cor da pele, ainda existem poucos estudos na área forense utilizando SNPs capazes de prever um fenótipo de cor de pele, diferente do que acontece com cabelo e olhos. No entanto, a partir de 2011 começou-se a investir em testes preditivos de fenótipos para caracterizar cor de olhos e pele. Inicialmente desenvolveram e validaram um teste utilizando 7 SNPs para predição da cor da pele (clara, marrom-clara ou escura). Embora a taxa de erro do teste tenha sido baixa (1%), somente em 72% das amostras foi possível prever a cor da pele (398 de 554), o que foi muito similar ao obtido em um segundo trabalho para validação do teste [16,48]. Das SNPs selecionadas relacionadas a cor da pele, 4 estavam associadas à população europeia, 2 à asiática e 1 à afro-americana, o que pode explicar a impossibilidade de prever quase 30% das amostras. Apesar disso, Spichenok et al. [16] e Pneuman et al. [48], acreditavam que adicionando outros marcadores poderiam ser obtidos melhores resultados.

Então, buscando aprimorar o teste anterior, adicionaram mais um SNP ao multiplex, totalizando 8 SNPs, 5 para cor dos olhos e 6 para cor da pele, além de

terem modificado a forma de interpretar os resultados. Os marcadores utilizados para cor da pele foram: rs12913832, rs16891982, rs6119471, rs1426654, rs885479 e rs1545397. Destes 6 SNPs utilizados, 5 estavam relacionados à pele de cor clara e 1 relacionado à cor escura. Para predição da cor da pele realizou-se um processo de eliminação: primeiramente definiu-se se a pele não era escura (média ou clara), depois a pele clara foi predita com condições mais rígidas, e em seguida foram definidos aqueles indivíduos com a pele não clara (média ou escura) [20]. Apesar da adição de um novo SNP no multiplex e das alterações na interpretação dos resultados, apenas 75% das amostras conseguiram ser preditas para cor da pele, embora todas tenham predito a cor dos olhos (taxa de erro de 2%), resultado muito similar ao trabalho anterior [20].

Deste modo, considerando os bons resultados, o teste 8-multiplex foi validado com todos os critérios descritos pelo Grupo de Trabalho Científico sobre Métodos de Análise de DNA (do inglês, Scientific Working Group on DNA Analysis Methods - SWGDAM). Seguindo os parâmetros estabelecidos, o 8-multiplex se mostrou um método robusto, reprodutível e confiável, sendo testado com DNA obtido a partir de diferentes tipos de extração, de diferentes amostras (incluindo osso), pouco material e em amostras degradadas, confirmando que esta é uma metodologia adequada para prever a cor dos olhos e da pele em análises forenses, auxiliando na identificação de pessoas desaparecidas e/ou restos humanos [49].

Em 2014, Maroñas et al. [21] analisaram 59 SNPs buscando avaliar as diferenças na coloração da pele entre populações da África, Europa e a mistura das duas, ou seja, indivíduos europeus e não europeus. Do total, 29 SNPs mostraram maior relação com a variação da cor da pele, sendo 10 mais relevantes: rs16891982 (SLC45A2), rs1426654 (SLC24A5), rs10777129 (KITLG), rs6058017 (ASIP), rs1408799 (TYRP1), rs1448484 (OCA2), rs3829241 (TPCN2), rs13289

(SLC45A2), rs2402130 (SLC24A4) e rs6119471 (ASIP), os quais apresentaram predições bem-sucedidas de 99,9% para pele branca, 80,3% para pele clara e 96,6% para escura (através da AUC – Area Under the Curve). Este seria outro possível teste preditivo de pigmentação da pele. Ainda foi possível reduzir o número de SNPs para 6 e obter bons resultados, porém os autores comentam que com os 10 SNPs conseguem melhorar a classificação da pele de cor intermediária [21].

Apesar dos esforços realizados, ainda não foram definidos com precisão os melhores marcadores para prever cor de pele. Isso, em conjunto com a necessidade de se realizarem mais testes em diferentes populações para validar aqueles previamente descritos, representa atualmente um desafio para fenotipagem forense pelo DNA associada à cor da pele.

4. QUESTÕES ÉTICAS E LEGAIS NO BRASIL

Embora seja muito promissora, a aplicação prática da fenotipagem forense pelo DNA levanta diversas questões de ordem ética e legal. Alguns países, como Holanda e Estados Unidos, já permitem a utilização dessa metodologia para auxiliar nas investigações forenses em alguns tipos de casos. Porém, no Brasil a situação é nova e ainda há muito que se discutir.

Apesar do intuito deste método ser a previsão da aparência de doadores desconhecidos de amostras oriundas de locais de crime, ou seja, finalidade exclusivamente forense, um dos principais impasses legais é a questão da violação do direito à privacidade (Art. 5, inc. X da Constituição Federal de 1988). Além disso, as leis e princípios que regem os direitos do cidadão brasileiro não permitem o conhecimento e divulgação de suas características físicas através de seu DNA. Segundo a lei 12.654/2012 “..informações genéticas contidas nos bancos de dados de perfis genéticos não poderão revelar traços somáticos ou comportamentais das pessoas, exceto determinação genética de gênero...” [50].

No entanto, o principal ponto a favor da predição de CEVs é que esta ferramenta permite inferir apenas características que não necessitam de confidencialidade, ou seja, a cor dos olhos, pele e cabelo pode ser observada por qualquer pessoa. Além disso, essa tecnologia, a princípio, não será empregada quando a análise convencional por STRs for suficiente para elucidar o crime, sendo a fenotipagem através de SNPs útil como fator de auxílio na investigação e não como prova de incriminação do indivíduo. Neste sentido, Kayser e Schneider (2009) argumentam que a informação obtida a partir de SNPs informativos de fenótipos permite somente prever a probabilidade de determinada característica se manifestar no indivíduo,

assim a análise estatística dos dados serve para reduzir o número de potenciais suspeitos e não identificar o doador da amostra em questão, sendo essa função dos marcadores típicos de identificação, os STRs [13].

Em contrapartida, Toom et al. [51] acreditam que mesmo a fenotipagem forense pelo DNA predizendo apenas CEVs, o armazenamento destas informações pode dar vazão a aplicações futuras para fins diversos ao permitido. Estes autores afirmam ainda que essas questões precisam ser discutidas à luz de outros princípios éticos, legais e democráticos de interesse público, como: autonomia, confidencialidade, devido processo legal, proporcionalidade, igualdade, transparência, etc. [51]. No entanto MacLean e Lamparello [52], pontuam que esse não é um novo dilema, devendo os atores envolvidos, em todos os aspectos do processo de investigação, exercer discricção e bom senso.

Para que se torne possível prever fenótipos por meio da análise do DNA no Brasil, faz-se necessária a devida regulamentação desse procedimento no país e a firmamento de leis que aprovem tal uso, o qual representaria um importante avanço no campo jurídico/forense.

5. PERSPECTIVAS

Apesar da série de estudos e ensaios mostrados nesta revisão ainda há muito a ser explorado na área de fenotipagem forense através do DNA. Embora existam vários relatos de SNPs relacionados à pigmentação em diferentes populações, a maior parte se concentra na europeia, ressaltando a carência de informações a respeito de uma grande variedade de indivíduos. Além disso, com os estudos mais aprofundados de associação do genoma e sequenciamento de larga escala podemos obter mais informações a respeito de outras características fenotípicas (peso, altura, formato de face, entre outros), as quais podem complementar as análises já descritas e permitir a formação de um perfil ainda mais completo.

Um possível desafio a ser enfrentado quando essa metodologia passar a integrar as rotinas forenses é a alteração voluntária da aparência pelo criminoso. Algumas CEVs podem ser modificadas ou mascaradas muito facilmente, por exemplo, o cabelo pode ser tingido, a pele pode ser bronzeada e a cor dos olhos pode ser dissimulada por lentes de contato coloridas. No entanto, embora isso seja possível na prática e na teoria, parece improvável que venha a ser um fardo para a fenotipagem forense pelo DNA [12].

Para que essa metodologia seja inserida nas rotinas forenses do Brasil, grandes avanços ainda precisam acontecer. A população brasileira descende principalmente de ameríndios, africanos e europeus,

porém o casamento entre estes indivíduos de origens étnicas diferentes deu origem a uma grande variação genética [53-55], tornando a população do Brasil altamente heterogênea. Com relação ao uso de DNA para determinação de características fenotípicas na população brasileira, os estudos ainda são muito iniciais. Grupos de diferentes regiões do país tem buscado relacionar SNPs previamente descritos e associados com a pigmentação do cabelo, pele e olhos na população brasileira e, embora alguns desses marcadores tenham se mostrado tão eficiente aqui como em outros lugares, outros já não possuem alto poder preditivo em uma população tão miscigenada [55,56]. Assim, ainda há muito o que pesquisar e investir para podermos utilizar testes preditivos de fenótipo. Acrescenta-se também o fato de que ainda será necessário investimento em capacitação dos peritos e em equipamentos necessários para os ensaios de PCR multiplex utilizados para análises de SNPs.

No entanto, desde 2009 o Brasil tem uma Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG), a qual visa compartilhar e comparar o material genético (perfil genético) entre os bancos da União, dos Estados e do Distrito Federal. A RIBPG foi oficializada por meio do Decreto nº 7.950 (12 de março de 2013) e tem como objetivos, além do já descrito, a auxiliar na apuração criminal e na identificação de pessoas desaparecidas [57]. Nesta rede estão presentes dados de perfis genéticos de condenados, de vestígios de crimes, de identificações criminais, além de amostras para identificar pessoas desaparecidas como perfis de familiares, restos mortais e referência da própria pessoa desaparecida [58-60]. Essa rede vai permitir tanto avanços na elucidação de crimes como auxiliar na implementação das tecnologias de caracterização fenotípica pelo DNA, quando e se ocorrer.

6. CONCLUSÕES

Os avanços tecnológicos e científicos permitem, atualmente, que a previsão de CEVs a partir do DNA seja realizada com grau satisfatório de precisão para a maioria dos fenótipos associados à pigmentação. Assim, a fenotipagem forense pelo DNA vem se destacando como uma poderosa ferramenta de auxílio nas investigações criminais. Porém, ainda são necessários estudos complementares em outras populações, não europeias, e pesquisas por novos SNPs que predigam fenótipos com a maior fidelidade possível, além de leis específicas que regulamentem tal atividade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] J. Butler, Forensic DNA typing: Biology, technology and genetics of STR markers, New York, ed. 2, 2005.
- [2] M. Litt, J. a Luty, A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.* **44**, 397-401, 1989.
- [3] B. Sobrino, M. Brión, A. Carracedo, SNPs in forensic genetics, A review on SNP typing methodologies. *Forensic Sci. Int.* **154**, 181-194 2005.
- [4] A. J. Brookes, The essence of SNPs. *Gene.* **234**, 177-186, 1999.
- [5] B. Budowle, SNP Typing Strategies. *Forensic Sci. Int.* **146**, S139-S142, 2004.
- [6] M. Javed R, Current research status, databases and application of single nucleotide polymorphism. *Pakistan J. Biol. Sci.* **13**, 657-663, 2010.
- [7] J. M. Butler, M. D. Coble, P. M. Vallone, STRs vs. SNPs, thoughts on the future of forensic DNA testing. *Forensic Sci. Med. Pathol.* **3**, 200-205, 2007.
- [8] B. Budowle, A. Van Daal, Forensically relevant SNP classes. *Biotechniques* **44**, 603-610, 2008.
- [9] T. N. Frudakis, Molecular photofitting, Predicting Ancestry and Phenotype Using DNA Elsevier, 2008.
- [10] M. Kayser, P. de Knijff, Improving human forensics through advances in genetics, genomics and molecular biology. *Nat. Rev. Genet.* **12**, 179-192, 2011.
- [11] M. A. Jobling, P. Gill, Encoded evidence, DNA in forensic analysis. *Nat. Rev. Genet.* **5**, 739-751, 2004.
- [12] M. Kayser, Forensic DNA Phenotyping, Predicting human appearance from crime scene material for investigative purposes. *Forensic Sci. Int. Genet.* **18**, 33-48, 2015.
- [13] M. Kayser, P. M. Schneider, DNA-based prediction of human externally visible characteristics in forensics, Motivations, scientific challenges, and ethical considerations. *Forensic Sci. Int. Genet.* **3**, 154-161, 2009.
- [14] H. Pulker, M. V. Lareu, C. Phillips, A. Carracedo, Finding genes that underlie physical traits of forensic interest using genetic tools. *Forensic Sci. Int. Genet.* **1**, 100-104, 2007.
- [15] E. a M. Graham, DNA reviews, predicting phenotype. *Forensic Sci. Med. Pathol.* **4**, 196-199, 2008.
- [16] O. Spichenok et al., Prediction of eye and skin color in diverse populations using seven SNPs. *Forensic Sci. Int. Genet.* **5**, 472-478, 2011.
- [17] S. Walsh et al., IrisPlex, A sensitive DNA tool for accurate prediction of blue and brown eye colour in the absence of ancestry information. *Forensic Sci. Int. Genet.* **5**, 170-180, 2011.
- [18] S. Walsh et al., The HIrisPlex system for simultaneous prediction of hair and eye colour from DNA. *Forensic Sci. Int. Genet.* **7**, 98-115, 2013.
- [19] Y. Ruiz et al., Further development of forensic eye color predictive tests. *Forensic Sci. Int. Genet.* **7**, 28-40, 2013.
- [20] K. L. Hart et al., Improved eye- and skin-color prediction based on 8 SNPs. *Croat. Med. J.* **54**, 248-256, 2013.
- [21] O. Maroñas et al., Development of a forensic skin colour predictive test. *Forensic Sci. Int. Genet.* **13**, 34-44, 2014.
- [22] H.J. Edgar, Microevolution of African American dental morphology. *Am. J. Phys. Anthropol.* **132(4)**,

- 535-544, 2007.
- [23] R. a. Sturm, T. N. Frudakis, Eye colour, Portals into pigmentation genes and ancestry. *Trends Genet.* **20**, 327-332, 2004.
- [24] J. M. Akey et al., Interaction between the melanocortin-1 receptor and P genes contributes to inter-individual variation in skin pigmentation phenotypes in a Tibetan population. *Hum. Genet.* **108**, 516-520, 2001.
- [25] M. Kayser et al., Three Genome-wide Association Studies and a Linkage Analysis Identify HERC2 as a Human Iris Color Gene. *Am. J. Hum. Genet.* **82**, 411-423, 2008.
- [26] P. Sulem et al., Genetic determinants of hair, eye and skin pigmentation in Europeans. *Nat. Genet.* **39**, 1443-1452, 2007.
- [27] T. Frudakis et al., Sequences associated with human iris pigmentation. *Genetics* **165**, 2071-2083, 2003.
- [28] H. Eiberg et al., Blue eye color in humans may be caused by a perfectly associated founder mutation in a regulatory element located within the HERC2 gene inhibiting OCA2 expression. *Hum. Genet.* **123**, 177-187, 2008.
- [29] R. a. Sturm et al., A Single SNP in an Evolutionary Conserved Region within Intron 86 of the HERC2 Gene Determines Human Blue-Brown Eye Color. *Am. J. Hum. Genet.* **82**, 424-431, 2008.
- [30] M. H. Brilliant, The mouse p pink-eyed dilution and human P genes, oculocutaneous albinism type 2 OCA2, and melanosomal pH. *Pigment Cell Res.* **14**, 86-93, 2001.
- [31] D. L. Duffy et al., A three-single-nucleotide polymorphism haplotype in intron 1 of OCA2 explains most human eye-color variation. *Am. J. Hum. Genet.* **80**, 241-252, 2007.
- [32] P. Sulem et al., Two newly identified genetic determinants of pigmentation in Europeans. *Nat. Genet.* **40**, 835-837, 2008.
- [33] F. Liu et al., Eye color and the prediction of complex phenotypes from genotypes. *Curr. Biol.* **19**, 192-193, 2009.
- [34] S. Walsh et al., Developmental validation of the HIrisPlex system, DNA-based eye and hair colour prediction for forensic and anthropological usage. *Forensic Sci. Int. Genet.* **9**, 150-161, 2014.
- [35] M. Gerstenblith, A. Goldstein, M. Fagnoli, K. Peris, M. Landi, Mutational Spectrum and Genotype - Phenotype Correlations in Mevalonate Kinase Deficiency. *Hum. Mutat.* **27**, 796-802, 2006.
- [36] W. Branicki, U. Brudnik, T. Kupiec, P. Wolańska-Nowak, A. Wojas-Pelc, Determination of phenotype associated SNPs in the MC1R gene. *J. Forensic Sci.* **52**, 349-354, 2007.
- [37] N. Flanagan et al., Pleiotropic effects of the melanocortin 1 receptor MC1R gene on human pigmentation. *Hum Mol Genet.* **9**, 2531-2537, 2000.
- [38] J. L. Rees, The melanocortin 1 receptor MC1R, more than just red hair. *Pigment Cell Res.* **13**, 135-140, 2000.
- [39] P. Valverde, E. Healy, I. Jackson, J. L. Rees, a J. Thody, Variants of the melanocyte-stimulating hormone receptor gene are associated with red hair and fair skin in humans. *Nat. Genet.* **11**, 328-330, 1995.
- [40] N. F. Box, J. R. Wyeth, L. E. O’Gorman, N. G. Martin, R. A. Sturm, Characterization of melanocyte stimulating hormone receptor variant alleles in twins with red hair. *Hum Mol Genet.* **6**, 1891-1897, 1997.
- [41] J. Han et al., A Genome-Wide Association Study Identifies Novel Alleles Associated with Hair Color and Skin Pigmentation. *PLoS Genet.* **4**, e1000074, 2008.
- [42] W. Branicki et al., Model-based prediction of human hair color using DNA variants. *Hum. Genet.* **129**, 443-454, 2011.
- [43] N. G. Jablonski, G. Chaplin, Human skin pigmentation as an adaptation to UV radiation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **107**, 8962-8968, 2010.
- [44] G. S. Barsh, What Controls Variation in Human Skin Color? *PLoS Biol.* **1**, e7, 2003.
- [45] R. P. Stokowski et al., A Genomewide Association Study of Skin Pigmentation in a South Asian Population. *Am. J. Hum. Genet.* **81**, 1119-1132, 2007.
- [46] S. I. Candille et al., Genome-Wide Association Studies of Quantitatively Measured Skin, Hair, and Eye Pigmentation in Four European Populations. *PLoS One* **7**, e48294, 2012.
- [47] J. D. Andersen et al., Genetic variants and skin colour in Danes. *Forensic Sci. Int. Genet.* **3**, e153-e154, 2011.
- [48] A. Pneuman, Z. M. Budimlija, T. Caragine, M. Prinz, E. Wurmbach, Verification of eye and skin color predictors in various populations. *Leg. Med.* **14**, 78-83, 2012.
- [49] V. Mushailov, S. a. Rodriguez, Z. M. Budimlija, M. Prinz, E. Wurmbach, Assay Development and Validation of an 8-SNP Multiplex Test to Predict Eye and Skin Coloration, *J. Forensic Sci.* **60(4)**, 990-1000, 2015.
- [50] BRASIL, Lei no 12.654, de 28 de maio de 2012. Diário da República Federativa do Brasil, 2012.
- [51] V. Toom et al., Approaching ethical, legal and social issues of emerging forensic DNA phenotyping FDP technologies comprehensively, Reply to “Forensic DNA phenotyping, Predicting human appearance from crime scene material for investigative purposes” by Manfred Kayser. *Forensic Sci. Int. Genet.* **22**, e1-e4, 2016.
- [52] C. E. Maclean, A. Lamparello, Forensic DNA Phenotyping in Criminal Investigations and Criminal Courts, Assessing and Mitigating the Dilemmas Inherent in the Science, *Recent Adv. DNA Gene Seq.* **8(2)**, 104-112, 2015.
- [53] T. C. Lins, R. G. Vieira, B. S. Abreu, D. Grattapaglia, R. W. Pereira, Genetic composition of Brazilian population samples based on a set of twenty-eight ancestry informative SNPs, *Am. J. Hum. Biol.* **22(2)**, 187-192, 2010.
- [54] S. R. Giolo et al., Brazilian urban population genetic structure reveals a high degree of admixture. *Eur. J. Hum. Genet.* **20**, 111-116, 2012.
- [55] D. a. de Azevedo, L. A. F. da Silva, L. Gusmão, E. F. de Carvalho, Analysis of Y chromosome SNPs in Alagoas, Northeastern Brazil. *Forensic Sci. Int. Genet.* **2**, 421-422, 2009.
- [56] A. Freire-Aradas et al., Exploring iris colour prediction and ancestry inference in admixed

populations of South America. *Forensic Sci. Int. Genet.* **13**, 3-9, 2014.

[57] F. de Araújo Lima, F. de Toledo Gonçalves, C. Fridman, SLC24A5 and ASIP as phenotypic predictors in Brazilian population for forensic purposes. *Leg. Med.* **17**, 261-266, 2015.

[58] BRASIL, Decreto no 7.950, de 12 de março de 2013. Diário da República Federativa do Brasil.

[59] P. Brasil, Banco de perfis genéticos reúne mais de 2.500 amostras 2015, available at <http://www.brasil.gov.br/cidadania-e-justica/2015/03/banco-de-perfis-geneticos-reune-mais-de-2-500-amostras>.

[60] BRASIL, Relatório Da Rede Integrada De Bancos De Perfis Genéticos. Ministério da Justiça 2015, pp. 1-12.