

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica**

**ANCESTRALIDADE GENÉTICA COMO PREDITOR DE FENÓTIPO NA POPULAÇÃO  
BRASILEIRA**

**Bettina Stingelin Forlenza**

Trabalho de Conclusão do Curso de Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Orientador(a): Profa. Dra. Cintia Fridman Rave

São Paulo  
2023

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho à minha família, minha base para tudo na vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer primeiramente meus pais, Andrea e Orestes, por todo o apoio que me foi dado nesses seis longos anos de graduação, por sempre acreditarem em mim e nas minhas escolhas, e pelos puxões de orelha, sempre muito necessários para me colocar no caminho certo. Serei eternamente grata por tudo o que vocês me proporcionaram, com certeza foi fundamental para eu ter me tornado quem eu sou hoje.

Agradeço também aos meus avós, Vera, Frederico, Carmem e Orestes, à minha irmã Sabrina e ao meu namorado Alexandre, por serem meu porto seguro sempre que precisei de conselhos ou para dar risadas sinceras.

Agradeço aos amigos que fiz nesses últimos anos, muitos já não são mais tão próximos quanto eram no início e outros entraram recentemente na minha vida, mas mesmo assim levarei lembranças muito boas de todos, cada um de vocês foi fundamental para que eu chegassem aonde estou hoje. Um agradecimento especial à Fernanda, que até hoje é mais do que uma amiga de graduação. Foram seis anos de companheirismo nos estudos, nas duplas de laboratório, de Farmatique e de uma amizade sincera e gostosa, que pretendo levar para a vida toda.

Agradeço ao Prof. Dr. Marcelo Alves Ferreira, por todo suporte e ensinamentos em estatística, que sempre me auxilia com prontidão e paciência, desde a minha iniciação científica.

Por fim, agradeço à minha orientadora, Profa. Dra. Cintia Fridman, que em 2019 abriu as portas de seu laboratório para mim, me apresentando ao mundo encantador das ciências forenses. Agradeço-a imensamente pela confiança, pela paciência, pela parceria e pelos ensinamentos ao longo dos anos. Sou muito grata em poder desenvolver este e outros trabalhos sob sua orientação.

## SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE ABREVIATURAS.....	1
RELAÇÃO DE TABELAS.....	2
RELAÇÃO DE FIGURAS.....	3
RESUMO.....	4
1. INTRODUÇÃO.....	6
1.1. Identificação humana no âmbito forense.....	6
1.2. Principais marcadores genéticos empregados na identificação humana.....	6
1.3. Marcadores Informativos de Ancestralidade (AIMs).....	8
1.4. Ancestralidade como marcador de fenótipo.....	9
1.5. Estudos de ancestralidade na população brasileira.....	11
2. OBJETIVOS.....	12
2.1. Objetivo Geral.....	12
2.2. Objetivos Específicos.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. Casuística.....	12
3.2. Análise de ancestralidade e predição de cor de pele.....	13
3.3. Análise dos dados e análise estatística.....	15
4. RESULTADOS.....	16

5. DISCUSSÃO.....	21
6. CONCLUSÕES.....	25
7. REFERÊNCIAS.....	25
8. ANEXOS.....	30
8.1. Anexo I.....	30
8.2. Anexo II.....	33
8.3. Anexo III.....	36

## LISTA DE ABREVIATURAS

AIM	Marcador Informativo de Ancestralidade
INDEL	<i>Insertion/deletion Polymorphism</i> (Polimorfismo de Inserção/deleção)
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (Polimorfismo de Nucleotídeo Único)
INTERPOL	<i>International Criminal Police Organisation</i> (Organização Internacional de Polícia Criminal)
STR	<i>Short Tandem Repeat</i> (Repetições Curtas em Tandem)
EVCs	Características externamente visíveis
NIH	<i>National Human Genome Institute</i> (Instituto Nacional do Genoma Humano)
mtDNA	DNA mitocondrial
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
EUR	Europeia
AMER	Ameríndia
AFR	Africana

## RELAÇÃO DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	INDELs estudados neste projeto.	Página 14
<b>Tabela 2</b>	Comparação entre os dados de cor de pele autodeclarada e respectivas predições realizadas pelo sistema de predição fenotípica HlrisPlex-S.	Página 16
<b>Tabela 3</b>	Cálculos da média e desvio padrão para as ancestralidades de acordo com a cor de pele autodeclarada.	Página 17
<b>Tabela 4</b>	Comparação entre os dados de cor de pele autodeclarada e ancestralidade.	Página 19
<b>Tabela 5</b>	Comparação dos resultados de cor de pele calculada pelo sistema de predição fenotípica HlrisPlex-S e de ancestralidade genética.	Página 20

## RELAÇÃO DE FIGURAS

- Figura 1** Gráfico triangular das proporções das ancestralidades para cada indivíduo, de acordo com a sua cor de pele autodeclarada. Em laranja = cor de pele clara; em verde = cor de pele intermediária; em azul = cor de pele escura Página 18
- Figura 2** Gráfico em barras para a quantidade de indivíduos presentes em cada categoria de cor de pele autodeclarada e ancestralidade calculada. Em laranja = ancestralidade europeia; em verde = ancestralidade ameríndia; em azul = ancestralidade africana Página 19
- Figura 3** Gráfico em barras para a quantidade de indivíduos presentes em cada categoria de cor de pele calculada pelo sistema de predição fenotípica HlrisPlex-S e ancestralidade calculada. Em laranja = ancestralidade europeia; em verde = ancestralidade ameríndia; em azul = ancestralidade africana Página 21

## RESUMO

Forlenza, BS. **ANCESTRALIDADE GENÉTICA COMO PREDITOR DE FENÓTIPO NA POPULAÇÃO BRASILEIRA.** 2023. 42p. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

**Palavras-chave:** Ancestralidade biogeográfica, INDEL, identificação humana, genética forense

**INTRODUÇÃO:** A utilização de marcadores informativos de ancestralidade (AIMs) possui grande relevância para as ciências forenses como ferramenta auxiliar na identificação humana, permitindo inferir a ancestralidade biogeográfica e/ou, em alguns casos, quando analisado em conjunto a outras características externamente visíveis (como cor de pele, por exemplo), para completar o perfil fenotípico de um indivíduo desconhecido. Os polimorfismos de inserção/deleção, ou INDELS, são marcadores genéticos frequentemente usados como AIMs, principalmente por expressarem frequências alélicas distintas entre diferentes populações do mundo. No entanto, em populações miscigenadas, como a brasileira, utilizar apenas dados de ancestralidade para auxiliar na identificação pode trazer resultados imprecisos para a investigação, pois nem sempre ela reflete diretamente características fenotípicas, como cor de pele, de cabelo e de olhos. **OBJETIVO:** O presente estudo teve como objetivo avaliar a relação entre dados de ancestralidade biogeográfica e o fenótipo em relação à cor de pele autodeclarada e inferida pelo sistema de predição fenotípica HlrisPlex-S de uma amostra da população brasileira, para uso como marcador de predição fenotípica na área forense. **MATERIAL E MÉTODOS:** A casuística desse trabalho foi constituída por 537 indivíduos brasileiros, de ambos os sexos, não aparentados, maiores de 18 anos, cujo DNA foi extraído de amostras de sangue periférico previamente coletadas. Os polimorfismos, para análise de ancestralidade (46 INDELS) e predição da cor de pele (41 SNPs), foram genotipados através da técnica PCR multiplex seguida de eletroforese capilar, e os dados de ancestralidade foram obtidos com o auxílio do software STRUCTURE v2.2, dentro do contexto de um projeto maior. As análises estatísticas deste projeto foram realizadas com o software estatístico R v4.3.0. **RESULTADOS:** Os indivíduos apresentaram majoritariamente ancestralidade biogeográfica europeia nas três categorias de cor de pele (clara, intermediária e escura, nomeadas anteriormente branca, parda e preta, respectivamente). Dos 537 indivíduos analisados, 63,1% se autodeclararam como brancos, 38,3% pardos e apenas 8,6% como pretos. Os dados de cor de pele obtidos pelo sistema de predição HlrisPlex-S apresentaram semelhanças aos autodeclarados; no entanto, mais indivíduos foram classificados com cor de pele clara e escura, e menos para intermediária, e a ancestralidade europeia permaneceu sendo majoritária nas três categorias de cor de pele. Além disso, houve mais predições discordantes (57,7%) nos indivíduos de pele escura

do que concordantes (42,3%). As análises de alguns resultados de ancestralidade e cor de pele a nível individual nos mostram que muitas vezes a ancestralidade calculada não reflete o fenótipo do indivíduo em relação à cor de pele, fato que levaria uma possível investigação criminal com base nos resultados observados à busca de um indivíduo com aparência diferente do que seria esperada.

**CONCLUSÃO:** Os resultados obtidos nos indicam que a utilização da ancestralidade biogeográfica como preditor de fenótipo não é uma prática adequada em populações com alto grau de miscigenação e diversidade, como a população brasileira, necessitando que novas pesquisas sejam realizadas e que técnicas sejam aprimoradas para serem aplicadas na população com êxito, trazendo assim resultados confiáveis e precisos para as investigações nas quais a identificação humana a partir de perfis fenotípicos seja necessária.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Identificação humana no âmbito forense

Diversas situações em nossa sociedade exigem a identificação humana, como, por exemplo, a identificação de restos mortais em catástrofes naturais, guerras e acidentes envolvendo veículos terrestres, aéreos e aquáticos; e, principalmente, em casos de homicídios onde há a desfiguração do corpo da vítima ou para a identificação de suspeitos envolvidos em crimes. Segundo diretrizes da *INTERPOL (International Criminal Police Organisation)*, são adotadas duas formas de identificação humana: a primária e a secundária. A identificação secundária é realizada a partir da verificação de características visuais do indivíduo, como a presença de cicatrizes, tatuagens, porte físico, aparência etc., enquanto a identificação primária consiste na análise de impressões papilares (digitais das mãos e pés), exame médico-legal, odontológico e de DNA em materiais biológicos, tais como sangue, saliva, dentes, ossos, sêmen e outros tecidos, coletados em cena de crime ou diretamente do corpo da vítima/suspeito. A análise de DNA tem por objetivo a obtenção de perfis genéticos que permitem a individualização e diferenciação de seres humanos e que são únicos, exclusivos para cada indivíduo (com exceção dos gêmeos monozigóticos) e que não se repetem na população (Corte-Real & Vieira, 2015).

### 1.2. Principais marcadores genéticos empregados na identificação humana

Na genética forense, a identificação humana é feita com base na análise de marcadores polimórficos presentes no DNA por apresentarem ampla variabilidade na população e, para que sejam considerados polimorfismos, os marcadores devem possuir uma frequência alélica de, no mínimo, 1% na população estudada (Brookes, 1999; Decanine, 2016). Os polimorfismos empregados tradicionalmente pelas ciências forenses são os *Short Tandem Repeats* (STRs). Em casos específicos, análises adicionais podem ser realizadas com o uso dos polimorfismos de nucleotídeo único (*Single Nucleotide Polymorphisms*, SNPs) e dos polimorfismos de inserção/deleção

(*Insertion/deletion polymorphisms*, INDELs) (Braganholi, 2016).

Os STRs consistem em repetições de curtas sequências de DNA, aproximadamente 2 a 7 pares de base e, por apresentarem alta variabilidade de repetição entre indivíduos, são frequentemente empregados na identificação forense, pois, cada indivíduo pode apresentar um número de repetições diferente quando analisado um conjunto desses marcadores. Isso permite a formação de um perfil individual, geralmente composto por 24 STRs, e que pode ser diferenciado a partir da sua comparação com um perfil de outro indivíduo (Butler, 2009; Corte-Real & Vieira, 2015).

A variação genética mais comum no genoma humano é o SNP, ocorrendo uma vez a cada 1000 bases, tanto nas regiões codificantes como não codificantes do genoma (Brookes, 1999; Butler, 2011). Este polimorfismo consiste na mutação pontual de um nucleotídeo, com alternância entre as bases A, T, G e C, sendo, na maioria das vezes, bialélico, e apresentando seis possíveis associações nucleotídicas, A/G, C/T, A/T, C/G, T/G e A/C. Os SNPs, para serem empregados com a finalidade de diferenciar indivíduos, devem ser analisados em conjunto e em maior quantidade que os marcadores STR, uma vez que, por serem bialélicos, portam individualmente menos informação de caráter discriminatório (Brookes, 1999). Na genética forense, o SNP possui amplo emprego em análises adicionais que podem auxiliar para a identificação pois estão potencialmente associados à predição de fenótipos, sendo possível inferir a ancestralidade e algumas características externamente visíveis (EVCs), como por exemplo a altura e a cor de olhos, de cabelo e de pele, a partir da análise conjunta dos polimorfismos associados a esses aspectos (Pneuman *et al.*, 2012).

Os INDELs são polimorfismos de comprimento, podendo ser multialélicos ou bialélicos, caracterizados pela inserção ou deleção de uma ou mais bases em uma determinada sequência de DNA (Weber *et al.*, 2002), e compõem aproximadamente 16 a 25% de todos os polimorfismos de sequência do genoma (Mills *et al.*, 2006). Os INDELs bialélicos recentemente têm ganhado espaço nos estudos de identificação humana, principalmente na genética populacional (Wei *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2009), por estarem amplamente distribuídos através do genoma, compondo cerca de um terço de todos os INDELs; por apresentarem baixa taxa de mutação, e portanto,

maior estabilidade (quando comparados aos STRs); e também por expressarem grande variação nas frequências alélicas entre populações geograficamente distintas, fortalecendo o potencial de serem empregados como marcadores informativos de ancestralidade (AIMs) (Mullaney, et al., 2010, Yang et al., 2005, Pereira et al., 2009).

### **1.3. Marcadores Informativos de Ancestralidade (AIMs)**

De acordo com o *National Human Genome Institute (NIH, 2023)*, os marcadores informativos de ancestralidade (AIMs) são, por definição, conjuntos de polimorfismos que apresentam frequências diferentes entre populações de diferentes regiões geográficas. Os AIMs apresentam grande importância, tanto na identificação humana, permitindo inferir a ancestralidade de um indivíduo e a sua origem geográfica, quanto em estudos epidemiológicos, para associar predisposições de algumas doenças genéticas à ancestralidade biogeográfica, além de fornecer informações sobre a dinâmica migratória das populações e de padrões de miscigenação (Ambers et al., 2020; Latham & Miller, 2019; Durães et al., 2020; Pérez-Mayoral et al., 2019; Manta et al., 2012).

Os marcadores mais empregados atualmente como AIMs nas ciências forenses são os SNPs autossômicos, por serem capazes de distinguir diferentes populações eficientemente e, os INDELs que têm sido empregados nos estudos de ancestralidade, (Romanini et al., 2015). Por serem variações pontuais, estes tipos de marcadores são eficientes mesmo em amostras degradadas ou quando há a presença de inibidores de PCR provenientes do ambiente da coleta do material biológico, como por exemplo em restos mortais (Romanini et al., 2015). Marcadores de linhagem, tais como DNA mitocondrial (mtDNA) e do cromossomo Y, fornecem informações acerca da ancestralidade maternal e paternal, respectivamente, e são normalmente empregados em conjunto com os marcadores de ancestralidade autossômicos, fornecendo informações adicionais e mais detalhadas ao estudo de predição de ancestralidade (Romanini et al., 2015; Phillips et al., 2021).

Com relação à predição de ancestralidade, esta prática se baseia na análise das variações genéticas encontradas entre indivíduos de diferentes regiões geográficas,

permitindo assim inferir a sua origem a partir dos AIMs, uma vez que populações geograficamente distantes umas das outras possuem frequências alélicas diferentes (Cheung *et al.*, 2017; Phillips *et al.*, 2021) em alguns marcadores genéticos. Essa abordagem consiste na comparação da amostra de DNA a ser analisada com um painel de AIMs de referência e este, por sua vez, deve idealmente apresentar frequências alélicas distintas entre as diferentes populações parentais (Krimsky, 2021; Cheung *et al.*, 2017).

Nos últimos anos, diversos trabalhos vêm estudando o emprego de conjuntos de AIMs compostos por diferentes tipos de polimorfismos, números de loci e estratégias de genotipagem, variando desde o uso de PCR combinada à eletroforese capilar (ex. conjuntos de INDELs) até estratégias que utilizam ensaios e equipamentos específicos (ex. ensaios *SNaPshot* e *TaqMan*) (Pereira *et al.*, 2012). Como exemplo temos Philips e colaboradores (2021), que estudaram um painel composto por 34 SNPs, nomeado SNPforID 34-plex, capaz de diferenciar a ancestralidade de Africanos, Europeus e Asiáticos Orientais. Outro exemplo é o estudo de Pereira e colaboradores (2012), que utilizaram um conjunto de 46 AIM de INDELs capaz de inferir eficientemente a ancestralidade de quatro diferentes regiões, Africana, Europeia, Ásia Oriental e Ameríndia (Pereira *et al.*, 2012). Diversos outros trabalhos utilizando INDELs como marcadores de ancestralidade para uso forense têm sido realizados e apresentado resultados importantes (Bastos-Rodrigues *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2009; Ribeiro-Rodrigues *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2010).

#### **1.4. Ancestralidade como marcador de fenótipo**

A predição fenotípica forense tem sido considerada por alguns grupos como sendo uma abordagem composta pela inferência da ancestralidade, de características externamente visíveis (EVCs) e da estimativa de idade cronológica. Estas análises servem como auxílio nas investigações criminais em casos em que não há testemunha presente, ou um suspeito, ou quando se faz necessário identificar a aparência física do autor de um crime ou de uma vítima que se encontra em estado desfigurado, além de serem empregadas quando não há correspondência dos perfis genéticos nos bancos

de perfis oficiais (Xavier *et al.*, 2020).

A ancestralidade como marcador de fenótipo é geralmente empregada em conjunto a outras características externamente visíveis (EVCs), como cor de cabelo, pele e olhos, para completar o perfil fenotípico de um indivíduo desconhecido. A predição destas EVCs é, em geral, realizada a partir da análise conjunta de SNPs mapeados em genes envolvidos na melanogênese, uma vez que estes são marcadores frequentemente associados a traços de pigmentação (Young *et al.*, 2021; Pneuman *et al.*, 2012).

As ferramentas utilizadas atualmente para a predição fenotípica com finalidade forense, para que possam ser empregadas em uma dada população para a obtenção de resultados confiáveis, devem ter sido validadas anteriormente a partir de um conjunto de marcadores genéticos adequados e indicados para a predição fenotípica e que também permita a sua análise a partir de pouca quantidade e baixa qualidade de DNA obtido na cena de crime. Além disso, essas ferramentas também devem ter passado por validação estatística, a partir de modelagem para a obtenção da acurácia de predição dos marcadores estudados na população alvo (Kayser, 2023).

Testes de predição fenotípica estão em constante desenvolvimento e aprimoramento pela comunidade forense; o mais utilizado, atualmente, é o sistema de predição HIrisPlex-S, desenvolvido para inferir simultaneamente a cor de cabelo, pele e olhos a partir da análise de 41 SNPs, sendo empregado nas ciências forenses com o propósito de auxiliar nas investigações criminais por meio da construção de um perfil fenotípico dos suspeitos e/ou de cadáveres (Chaitanya *et al.*, 2018). Podemos citar também uma ferramenta de predição fenotípica, denominada *Snapshot Forensic DNA Phenotyping System*, desenvolvida por uma empresa privada, a Parabon NanoLabs, que afirma inferir de forma precisa a ancestralidade genética, cor de cabelo, olhos e pele, a presença ou ausência de sardas e o formato da cabeça de indivíduos a partir de amostras de DNA (Parabon NanoLabs, 2023). Estas ferramentas são comumente utilizadas em outros países com a finalidade de auxiliar no rumo das investigações policiais, reduzindo o rol de suspeitos criminosos ou para inferir a aparência de vítimas das quais não seja possível realizar a sua identificação a olho nu.

Com relação à regulamentação da prática da predição fenotípica com finalidade

forense, poucos países apresentam legislação específica para aplicação destas ferramentas nas investigações policiais, como por exemplo alguns estados dos Estados Unidos, a Eslováquia e a Holanda, ou em observância de outras legislações existentes, como a Polônia, República Tcheca, Suécia, Hungria, Áustria, Espanha e Reino Unido. Diversos outros países, incluindo o Brasil, não possuem nenhum tipo de legislação para a aplicação real destes métodos nas investigações criminais e, portanto, os estudos de predição fenotípica realizados nestes locais são destinados apenas para a pesquisa e validação destes marcadores na população de interesse (Schneider *et al.*, 2019; Kayser & de Knijff, 2011).

### **1.5. Estudos de ancestralidade na população brasileira**

Em populações miscigenadas há uma considerável variação dos fenótipos entre os indivíduos, decorrente das diversas ondas imigratórias que ocorreram ao longo dos séculos, apresentando um grau forte, fraco ou inexistente de correlação entre cor de pele e ancestralidade genética (Parra *et al.*, 2004). A população brasileira é um exemplo de população bastante heterogênea e miscigenada.

Existem diversos estudos de marcadores de ancestralidade em indivíduos da população brasileira, como por exemplo o trabalho de Bastos-Rodrigues e colaboradores (2006), utilizando 40 marcadores INDELs, que identificou cinco grupos de marcadores populacionais principais com alto valor discriminatório a nível global (Bastos-Rodrigues *et al.*, 2006). Podemos citar também o trabalho de Pena e colaboradores (2011), que avaliou o padrão de manifestação entre as ancestralidades em quatro regiões do Brasil (norte, nordeste, sul e sudeste) (Pena *et al.*, 2011), e o trabalho de Cardena e colaboradores (2013), que avaliou a relação entre etnias autodeclaradas e ancestralidade genômica de 492 indivíduos da região sudeste brasileira, a partir de 48 polimorfismos INDEL autossômicos (Cardena *et al.*, 2013). No entanto, nota-se uma necessidade de aprimorar os estudos de ancestralidade com finalidade forense, principalmente em populações com alto grau de miscigenação, como a população brasileira, uma vez que nesta população a utilização da ancestralidade genética como marcador de fenótipo não é comum, diferentemente do que se é

observado pelas comunidades forenses em populações com menor grau de miscigenação.

Tendo isso em vista, a realização de estudos que avaliam a utilização de AIMs em associação com o fenótipo em populações miscigenadas, com a finalidade de auxiliar em casos nos quais a identificação humana é necessária, é de suma importância para aumentar a confiabilidade dos resultados obtidos e para verificar se esta prática é realmente recomendada para este tipo de população.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

O objetivo geral deste projeto é avaliar a relação entre os dados de ancestralidade biogeográfica e o fenótipo em relação à cor de pele, de uma amostra da população brasileira, para uso como marcador de predição fenotípica na área forense.

### **2.2. Objetivos Específicos**

Mais especificamente, este estudo pretende:

- Avaliar a relação entre os dados de ancestralidade genética, obtidos a partir de 46 polimorfismos do tipo INDEL, com a autodeclaração de cor de pele de uma amostra da população brasileira;
- Analisar a relação entre os dados de ancestralidade genética e os dados de predição de cor de pele realizada pelo Sistema HIrisPlex-S;
- Discutir a viabilidade de usar os dados de ancestralidade genética como marcador de predição fenotípica na população brasileira.

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1. Casuística**

A casuística desse estudo é composta por 611 indivíduos da população

brasileira, residentes na cidade de São Paulo, sadios, não aparentados, de ambos os sexos e maiores de 18 anos. Estes indivíduos participaram do projeto FAPESP 2012/02043-6 e suas amostras biológicas estão armazenadas no Laboratório de Imuno-Hematologia e Hematologia Forense (LIM40) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, assim como os dados gerados da referida pesquisa.

Todos os voluntários foram entrevistados por um pesquisador treinado para esta finalidade e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAEE: 00973512.7.0000.0068), para o projeto citado acima, garantindo o sigilo e o anonimato dos dados coletados (Anexo I). Os participantes preencheram um formulário (Anexo II) com questões sobre aspectos sociodemográficos (sexo, idade, renda, grau de escolaridade, local de nascimento, profissão, estado civil), sobre traços de pigmentação autodeclarada (cor de pele, de cabelo e de olhos), informações do fototipo (sensibilidade da pele à luz solar), do uso de filtro solar e do uso de medicamentos. Quanto à cor de pele, os participantes foram classificados por autodeclaração seguindo as categorias utilizadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) para classificar a população brasileira, sendo elas branco, pardo, preto, amarelo e indígena. Para a análise dos dados deste projeto foram consideradas apenas as informações sociodemográficas e de traços de pigmentação de cor de pele autodeclarada, e todos os dados já estavam anonimizados.

### **3.2. Análise de ancestralidade e predição de cor de pele**

Os 46 polimorfismos do tipo INDEL estudados neste projeto (tabela 1) para inferência de três ancestralidades biogeográficas, sendo elas a europeia (EUR), ameríndia (AMER) e africana (AFR), foram previamente genotipados pela técnica PCR multiplex seguida de eletroforese capilar, e os dados de ancestralidade foram obtidos com o auxílio do software *STRUCTURE*, versão 2.2 (<http://pritch.bsd.uchicago.edu/software.html>). Ressaltamos que, nos estudos de ancestralidade biogeográfica com finalidade forense, a denominação “ameríndia” se refere à população dos indígenas nativos da América do Norte (Rauf *et al.*, 2022).

**Tabela 1.** INDELs estudados neste projeto.

MID-1470 (rs2307666)	MID-777 (rs1610863)	MID-196 (rs16635)	MID-881 (rs1610965)
MID-3122 (rs35451359)	MID-548 (rs140837)	MID-659 (rs160893)	MID-2011 (rs2308203)
MID-2929 (rs33974167)	MID-593 (rs1160852)	MID-798 (rs1610884)	MID-1193 (rs2067280)
MID-1871 (rs2308067)	MID-17 (rs4183)	MID-2538 (rs3054057)	MID-1644 (rs2307840)
MID-3854 (rs60612424)	MID-2275 (rs3033053)	MID-94 (rs16384)	MID-3072 (rs34611875)
MID-772 (rs1610859)	MID-2313 (rs3045215)	MID-397 (rs25621)	MID-1636 (rs2307832)
MID-51 (rs16343)	MID-2431 (rs3031979)	MID-2264 (rs34122827)	MID-2256 (rs133052)
MID-128 (rs6490)	MID-15 (rs4181)	MID-2241 (rs3030826)	MID-419 (rs140708)
MID-943 (rs1611026)	MID-159 (rs16438)	MID-2005 (rs2308161)	MID-250 (rs16687)
MID-1802 (rs2307998)	MID-1607 (rs2307803)	MID-1734 (rs2307930)	MID-406 (rs25630)
MID-1386 (rs2307582)	MID-1726 (rs2307922)	MID-3626 (rs11267926)	MID-360 (rs25584)
MID-1603 (rs2307799)	MID-2719 (rs34541393)		

As amostras citadas acima foram também genotipadas para os 41 marcadores do tipo SNP que compõem o Sistema HiIrisPlex-S (<https://hirisplex.erasmusmc.nl/>), com a técnica *TaqMan® OpenArray® Real-Time PCR System* (ThermoFischer Scientific), e as respectivas predições de cor de pele foram realizadas no referido sistema.

Salientamos que, para este projeto, foram utilizados os dados de ancestralidade e de predição fenotípica (a partir do Sistema HlrisPlex-S) que foram obtidos anteriormente, e que se encontram registrados no banco de dados do projeto original. Ressaltamos que estes dados foram analisados de forma anônima.

### **3.3. Análise dos dados e análise estatística**

As associações entre cor de pele autodeclarada, a predição da cor de pele calculada pelo sistema HlrisPlex-S e ancestralidade biogeográfica foram avaliadas individualmente para cada participante. Para a execução das análises e visualização dos dados foi utilizado o software estatístico R (versão 4.3.0, <https://www.r-project.org/>) com os pacotes estatísticos *base*, *graphics*, *ggtern* e *stats* (R Core Team, 2021). A ancestralidade predominante (europeia, ameríndia ou africana) para cada indivíduo foi considerada quando esta apresentava valores maiores que 50% entre as três ancestralidades calculadas. Os indivíduos que apresentaram contribuições similares (próximas de 50%) de duas ancestralidades não tiveram sua ancestralidade predominante definida, portanto foram descartados da casuística final para posterior análise mais detalhada em outro projeto.

A fim de verificar se há diferença significativa entre as frequências observadas e as frequências que seriam esperadas na casuística estudada nos dados para cor de pele e ancestralidade biogeográfica, empregou-se o Teste G. Neste caso, a hipótese nula considera que as frequências observadas em cada variável analisada são iguais às frequências esperadas para uma dada população, enquanto a hipótese alternativa considera que os valores são diferentes entre os esperados e observados. Utilizou-se o teste G em preferência ao Qui-Quadrado de Pearson pois as suposições para a realização do teste Qui-Quadrado não foram atendidas (frequências esperadas nas células das tabelas devem ser superiores a 5). No entanto, estes dois testes são similares e o teste G é considerado uma alternativa ao teste Qui-Quadrado quando a amostra estudada é pequena (Adalardo, 2008, McDonald, 2014, McHugh, 2013). Valores de  $p$  inferiores a 5% ( $p < 0,05$ ) foram considerados estatisticamente significantes e rejeitaram a hipótese nula.

#### 4. RESULTADOS

Inicialmente, realizou-se um tratamento dos dados para remoção daqueles faltantes, totalizando 537 indivíduos dos 611 da casuística inicial com informações disponíveis. Os dados de cor de pele foram renomeados para se assemelharem ao sistema de classificação do IrisPlex-S, permitindo a comparação entre eles. Deste modo, os dados de cor de pele branca, parda e preta foram renomeados para clara, intermediária e escura, respectivamente. Além disso, houve a remoção dos indivíduos com cor de pele amarela, uma vez que o sistema de predição de ancestralidade biogeográfica utilizado anteriormente não contabiliza ancestralidade oriental. Nota-se que nesta casuística, não houve indivíduos que se autodeclararam indígenas. Além disso, 20 indivíduos apresentaram contribuições similares (próximas de 50%) de duas ancestralidades e, portanto, foram descartados das análises pois não tiveram sua ancestralidade predominante definida.

**Tabela 2.** Comparaçao entre os dados de cor de pele autodeclarada e respectivas predições realizadas pelo sistema de predição fenotípica IrisPlex-S.

	Cor de pele autodeclarada (%)	Cor de pele calculada (%)	Predições Concordantes (%)	Predições Discordantes (%)
<b>Clara</b>	339 (63,1%)	393 (73,2%)	303 (77,1%)	90 (22,9%)
<b>Intermediária</b>	152 (28,3%)	92 (17,1%)	47 (51,1%)	45 (48,9%)
<b>Escura</b>	46 (8,6%)	52 (9,7%)	22 (42,3%)	30 (57,7%)

Em seguida, montou-se uma tabela (tabela 2) com os dados de cor de pele autodeclarada e com aqueles calculados pelo sistema de predição fenotípica IrisPlex-S, com a finalidade de se comparar a proporção de predições concordantes e discordantes, realizadas pelo sistema para cada cor de pele. Observamos que a maior proporção de predições corretas ocorreu na cor de pele clara, com 77,1% dos resultados concordantes e apenas 22,9% discordantes, enquanto a maior proporção de predições discordantes ocorre na cor de pele escura, com 57,7% das predições obtidas

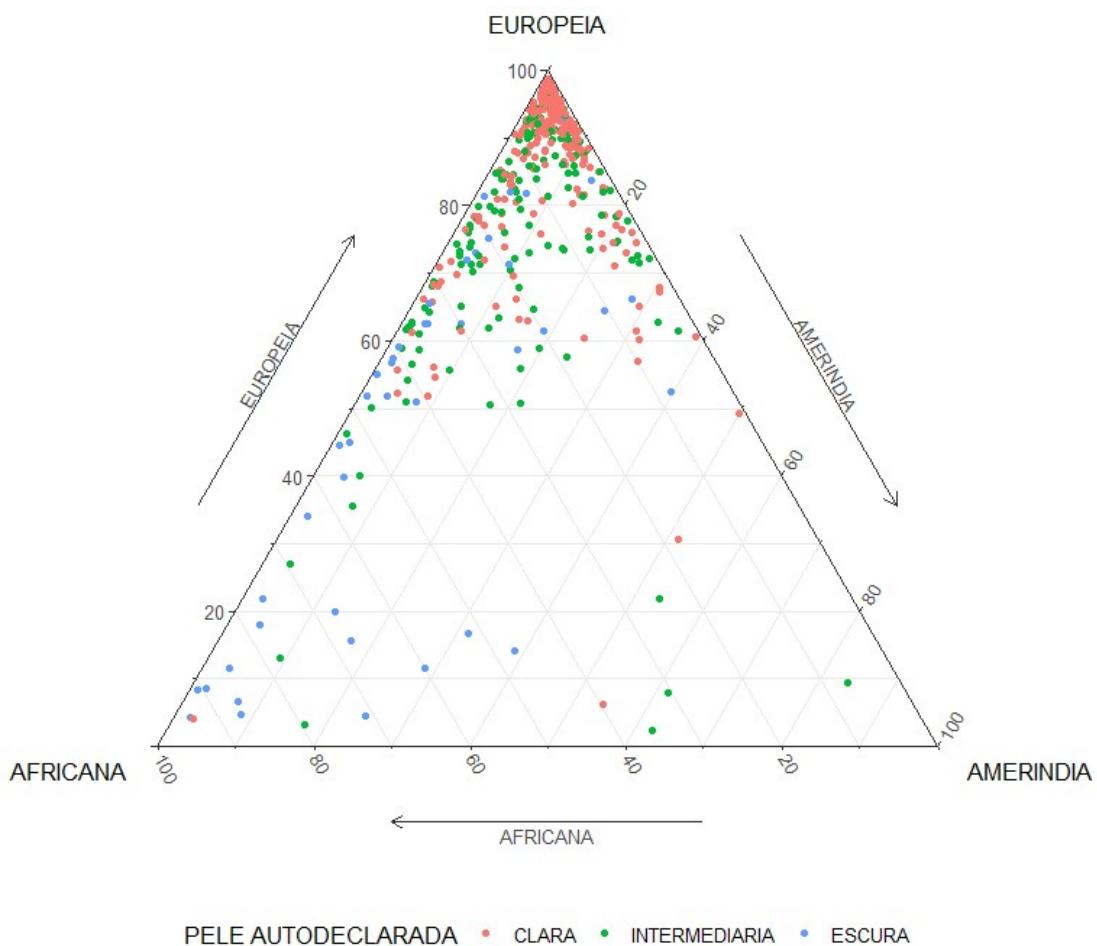
de forma discordante e 42,3% de forma concordante. Além disso, é possível observar a distribuição dos indivíduos segundo a cor de pele autodeclarada e calculada, sendo 63,1% indivíduos de pele clara, 28,3% de pele intermediária e 8,6% de pele escura autodeclarados, e 73,2%, 17,1% e 9,7% calculados pelo HIrisPlex-S, respectivamente.

Para cada categoria de cor de pele autodeclarada, foi calculada a contribuição de cada ancestralidade (tabela 3). Nota-se que para os indivíduos de cor de pele clara e intermediária, a média da ancestralidade europeias é relativamente maior, 0,865 ( $\pm$  0,163) e 0,756 ( $\pm$  0,194), do que para a cor de pele escura, 0,491 ( $\pm$  0,284), respectivamente. Além disso, na cor de pele escura, a ancestralidade africana apresenta uma média de 0,417 ( $\pm$  0,280), valor próximo ao da ancestralidade europeia. Para uma melhor visualização da contribuição de cada ancestralidade para cada indivíduo, montou-se um gráfico triangular (figura 1), no qual cada indivíduo está representado por um ponto colorido de acordo com a sua cor de pele autodeclarada e que a porcentagem da contribuição de cada ancestralidade está representada por valores que variam entre 0 (nenhuma contribuição) a 100 (100% de contribuição) em cada eixo do gráfico.

**Tabela 3.** Cálculos da média e desvio padrão para as ancestralidades de acordo com a cor de pele autodeclarada.

<b>Cor de pele autodeclarada</b>	<b>Média da ancestralidade biogeográfica e desvio padrão</b>		
	<b>Europeia</b>	<b>Ameríndia</b>	<b>Africana</b>
<b>Clara</b>	<b>0,865 <math>\pm</math> 0,163</b>	0,065 $\pm$ 0,093	0,070 $\pm$ 0,116
<b>Intermediária</b>	<b>0,756 <math>\pm</math> 0,194</b>	0,089 $\pm$ 0,118	0,115 $\pm$ 0,156
<b>Escura</b>	<b>0,491 <math>\pm</math> 0,284</b>	0,092 $\pm$ 0,105	0,417 $\pm$ 0,280

**Figura 1.** Gráfico triangular das proporções das ancestralidades para cada indivíduo, de acordo com a sua cor de pele autodeclarada. Em laranja = cor de pele clara; em verde = cor de pele intermediária; em azul = cor de pele escura



Fonte: Autoria própria.

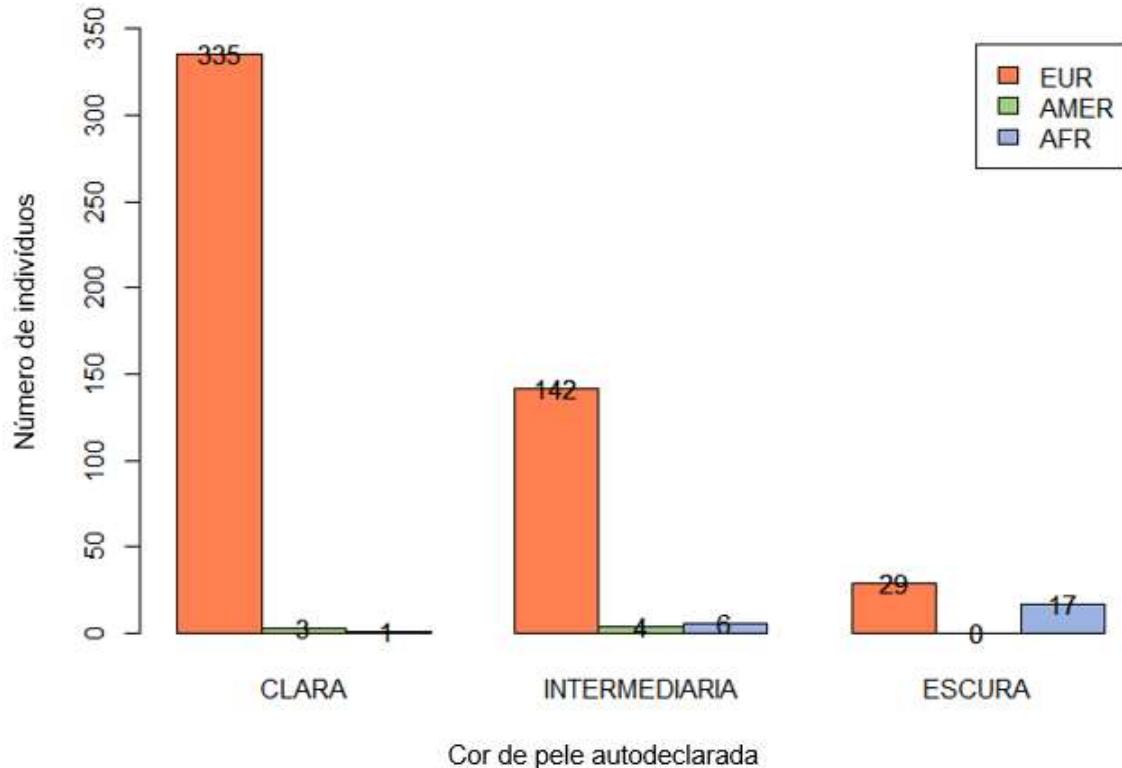
Em seguida, compilaram-se os dados de cor de pele autodeclarada e de ancestralidade biogeográfica na tabela 4. A partir dela, nota-se que, para todas as três categorias de cores de pele, a ancestralidade europeia foi a mais predominante (98,8% nos indivíduos de cor de pele clara, 93,4% nos intermediários e 63% nos escuros). Para uma melhor visualização dos dados, montou-se um gráfico em barras que ilustra a dispersão dos indivíduos de acordo com a sua ancestralidade calculada nas três cores de pele autodeclaradas (figura 2). O valor de  $p$  obtido no teste G é de  $2,7 \times 10^{-15}$ , ou seja, apresenta alta significância estatística.

**Tabela 4.** Comparação entre os dados de cor de pele autodeclarada e ancestralidade.

Cor de pele autodeclarada	Ancestralidade calculada			N	Valor de p <sup>a</sup>
	Europeia	Ameríndia	Africana		
Clara	335 (98,8%)	3 (0,9%)	1 (0,3%)	339	
Intermediária	142 (93,4%)	4 (2,6%)	6 (3,9%)	152	2,7x10 <sup>-15</sup>
Escura	29 (63%)	0 (0)	17 (37%)	46	
Total	506	7	24	537	

a – resultado obtido no teste G

**Figura 2.** Gráfico em barras para a quantidade de indivíduos presentes em cada categoria de cor de pele autodeclarada e ancestralidade calculada. Em laranja = ancestralidade europeia; em verde = ancestralidade ameríndia; em azul = ancestralidade africana



Fonte: Autoria própria.

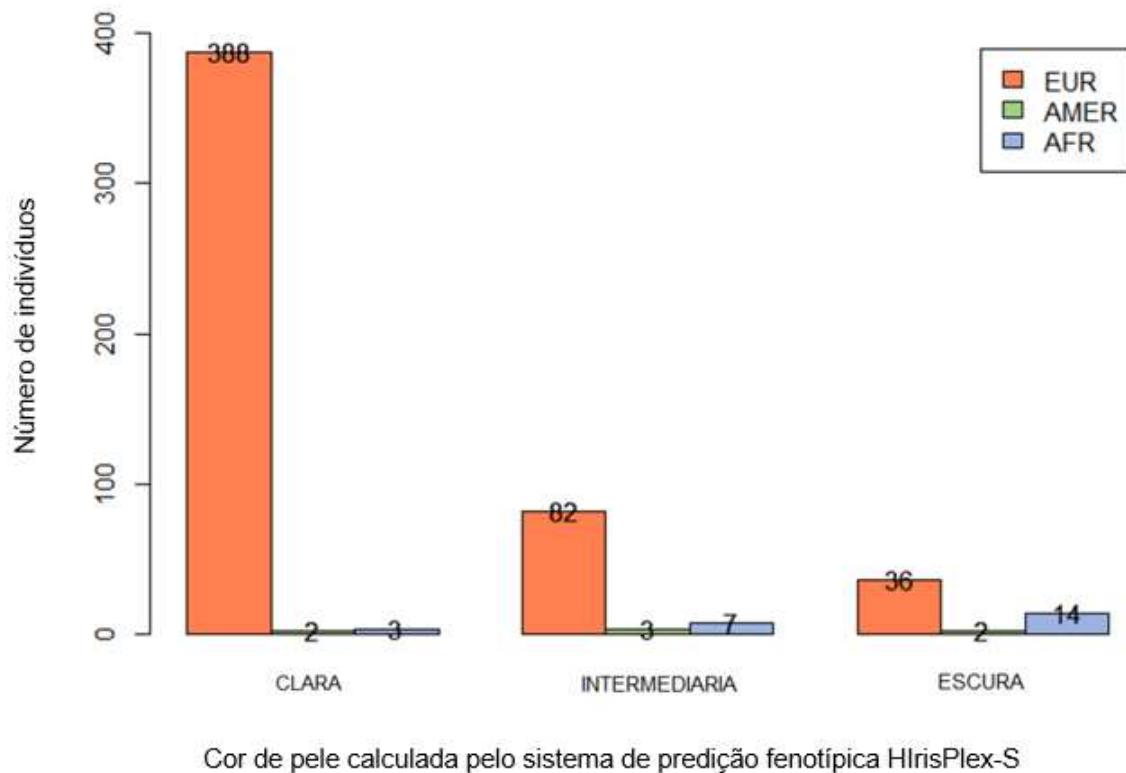
Quanto aos dados para cor de pele calculada pelo sistema de predição fenotípica HIrisPlex-S e de ancestralidade biogeográfica, estes se encontram compilados na tabela 5 e podem ser visualizados no gráfico de barras abaixo (figura 3). É possível observar que, assim como na tabela 4, a ancestralidade europeia é o componente majoritário nas três categorias de cores de pele (98,7% nos indivíduos de cor de pele clara, 89,1% nos intermediários e 69,2% nos escuros), e que o valor de  $p$  obtido no teste G é de  $7,3 \times 10^{-12}$ , sendo considerado, portanto, estatisticamente significante.

**Tabela 5.** Comparação dos resultados de cor de pele calculada pelo sistema de predição fenotípica HIrisPlex-S e de ancestralidade genética.

Cor de pele calculada	Ancestralidade calculada			N	Valor de $p^b$
	Europeia	Ameríndia	Africana		
Clara	<b>388 (98,7%)</b>	2 (0,5%)	3 (0,8%)	393	
Intermediária	<b>82 (89,1%)</b>	3 (3,3%)	7 (7,6%)	92	$7,3 \times 10^{-12}$
Escura	<b>36 (69,2%)</b>	2 (3,8%)	14 (26,9%)	52	
Total	506	7	24	537	

b – resultado obtido no teste G

**Figura 3.** Gráfico em barras para a quantidade de indivíduos presentes em cada categoria de cor de pele calculada pelo sistema de predição fenotípica HlrisPlex-S e ancestralidade calculada. Em laranja = ancestralidade europeia; em verde = ancestralidade ameríndia; em azul = ancestralidade africana



Fonte: Autoria própria.

## 5. DISCUSSÃO

Observamos, a partir dos resultados acima, que os indivíduos da nossa amostra de cor de pele clara, intermediária e escura apresentam contribuição majoritária da ancestralidade europeia (tabela 3). Podemos verificar isso de forma individual no gráfico triangular apresentado (figura 1) que, de fato, há uma maior concentração de indivíduos com maior proporção de ancestralidade europeia para as três categorias de cores de pele, e que apenas alguns outros apresentam maior contribuição da ancestralidade ameríndia ou africana. Podemos relacionar essa grande diferença encontrada entre as ancestralidades com a história da composição da população brasileira, que é

influenciada geneticamente pelos europeus desde 1500, com a colonização pelos Portugueses, até a imigração pelos povos europeus, principalmente italianos, nas regiões sul e sudeste do país, nos séculos 19 e 20 (Pena *et al.*, 2011).

Um estudo realizado por Pena e colaboradores em 2011, com a finalidade de estimar as ancestralidades genômicas de 934 indivíduos brasileiros das quatro regiões brasileiras (norte, nordeste, sudeste e sul) também encontrou que a ancestralidade europeia se apresentou como predominante em sua amostra, variando de 60,6% na região nordeste a 77,7% na região sul. A maior proporção observada para ancestralidade europeia na região sul decorre da vinda dos seis milhões de europeus para o Brasil, fenômeno denominado de “embranquecimento” da população brasileira (Pena *et al.*, 2011). Por este motivo, observa-se também uma maior porcentagem de indivíduos que se autodeclararam como brancos nas regiões sul e sudeste, variando de 72,8% a 50,1%, respectivamente (IBGE, 2022).

Com relação aos dados de cor de pele autodeclarada na casuística deste projeto, observamos que, dos 537 indivíduos estudados, 63,1% se autodeclararam como brancos (cor de pele clara), 28,3% como pardos (cor de pele intermediária) e apenas 8,6% como pretos (cor de pele escura). Além disso, a frequência de distribuição dos dados nesta casuística indicou valores estatisticamente significantes ( $p < 5\%$ ) para o Teste G.

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a região sudeste é caracterizada por 50,1% de indivíduos autodeclarados como brancos, 37,3% como pardos e 11,2% como pretos e comparando esses dados com os obtidos neste projeto, nota-se que os dados de cor de pele autodeclarada dos 537 indivíduos se assemelham com os do IBGE (63,1%, 28,3% e 8,6% respectivamente), apresentando uma variação de apenas 10% nos dados. Desta forma, podemos inferir que a população da nossa amostra se assemelha com a da população real. No entanto, é importante ressaltar que os nossos dados representam apenas uma pequena parcela da população brasileira residente no sudeste do país e, para que seja possível discutir o emprego dos dados de ancestralidade biogeográfica como predição fenotípica, devemos comparar os dados da nossa amostra com dados que sejam representativos da população do país, como por exemplo os do Censo de 2022 (IBGE, 2022). O Brasil apresenta, atualmente, 203

milhões de habitantes distribuídos nas cinco regiões brasileiras. Cada uma das regiões apresenta uma distribuição diferente entre população branca, parda e preta. A região norte, por exemplo, possui 19,7% de indivíduos autodeclarados brancos, 8,3% pretos e 70,1% pardos, enquanto a região sul apresenta o inverso, 72,8% de indivíduos brancos, 5,4% pretos e 20,9% pardos (IBGE, 2022), ou seja, proporções totalmente distintas das observadas para a região sudeste.

Além disso, a existência do racismo estrutural em nossa sociedade também faz com que indivíduos pretos e/ou pardos que apresentem cor de pele mais clara se autodeclarem como brancos (Cardena *et al.*, 2013). Podemos citar também a percepção dos indivíduos quanto à sua cor de pele nas diferentes regiões do país. Osório (2003) discute um caso hipotético no qual dois gêmeos apresentam proporções idênticas de ancestralidade e fenótipo cuja cor de pele beira o branco e o pardo. Caso um gêmeo fosse criado na região Nordeste do país e outro no Sudeste, o primeiro seria retratado pela população local como branco e o segundo, como pardo (Osório, 2003).

Quanto aos dados de cor de pele obtidos a partir do sistema HIrisPlex-S, estes são estatisticamente significantes ( $p < 5\%$  no teste G) na casuística estudada, além de se assemelharem com os dados de cor de pele autodeclarada. No entanto, houve mais indivíduos classificados com cor de pele clara ( $n = 393$ ) e escura ( $n = 52$ ) e menos para intermediária ( $n = 92$ ). Além disso, a ancestralidade europeia permaneceu sendo majoritária nas três categorias de cor de pele. Quanto às porcentagens das predições concordantes e discordantes, houve mais predições discordantes nos indivíduos de cor de pele escura (57,7%) do que concordantes (42,3%), enquanto as proporções foram similares para a cor de pele intermediária (51,1% concordantes e 48,9% discordantes) e maiores para a cor de pele clara, com 77,1% de predições concordantes. Estas discrepâncias nos resultados observados nos indicam que o emprego deste sistema de predição fenotípica para inferir traços de pigmentação deve ser utilizado com cautela em amostras latino-americanas, uma vez que as amostras utilizadas para criar e validar esta ferramenta não são representativas de diversidade, pois são majoritariamente de ancestralidade europeia (Chaitanya *et al.*, 2018).

Tendo em vista que os indivíduos da casuística deste projeto apresentaram majoritariamente ancestralidade biogeográfica europeia nas três categorias de cor de

pele e do histórico do país ser fortemente marcado por um extenso período de colonização portuguesa, escravidão e, posteriormente, da vinda de milhões de europeus, a utilização da ancestralidade biogeográfica como marcador de fenótipo não fornecerá resultados precisos, uma vez que ela não necessariamente resultará na aparência física esperada (por exemplo, indivíduos com ancestralidade europeia terem pele, cabelos e olhos claros), fato este demonstrado também por outros estudos de ancestralidade na população brasileira (Pena *et al.*, 2011, Cardena *et al.*, 2013, Parra *et al.*, 2004, Leite *et al.*, 2011, Lins *et al.*, 2010, Lins *et al.*, 2011).

Para reforçar isso, podemos olhar individualmente para alguns dos resultados obtidos neste projeto. Pela tabela 4 podemos verificar a presença de um único indivíduo que apresenta cor de pele clara, mas que foi classificado com ancestralidade africana. Analisando os dados deste indivíduo, temos que ele apresentou 93% de ancestralidade africana, 4% europeia e 3% ameríndia, além do sistema de predição HIrisPlex-S também ter inferido sua cor de pele como clara. Outro exemplo é um outro indivíduo que se autodeclarou com cor de pele escura (também inferida como cor de pele escura pelo sistema HIrisPlex-S), mas que apresentou 94% de ancestralidade europeia, 3% africana e 3% ameríndia. Estes indivíduos são representações reais de uma amostra representativa da população brasileira, e que, se fosse utilizada a ancestralidade como preditor de seus respectivos fenótipos em uma investigação criminal real, os resultados observados levariam à busca de um indivíduo de aparência diferente daquela que seria esperada. Kayser e colaboradores (2023) reforçam que a ancestralidade biogeográfica com finalidade de predição fenotípica deve ser utilizada com cautela e apenas em casos nos quais os indivíduos e seus ancestrais são oriundos de regiões que não são caracterizadas por populações altamente miscigenadas, e que, nestes casos, a análise da ancestralidade pode de fato refletir na sua aparência física (Kayser *et al.*, 2013).

Frente a estas questões, nota-se a necessidade de desenvolver, validar e aprimorar técnicas e estudos sobre a utilização da ancestralidade como preditor de fenótipo, específicas para a população na qual se deseja aplicar os testes, principalmente naquelas com alto grau de miscigenação, como a população brasileira. Devemos também avaliar a utilização conjunta aos marcadores de ancestralidade autossômica, os marcadores de linhagem, como o DNA mitocondrial e do cromossomo

Y, para a obtenção de ancestralidade maternal ou paternal, respectivamente, avaliando-se a sua utilização conjunta fornece um perfil de ancestralidade que pode ser utilizado como preditor de fenótipo na população brasileira.

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos indicam que a utilização da ancestralidade biogeográfica como preditor de fenótipo não é uma prática adequada em populações com alto grau de miscigenação e diversidade, como a população brasileira, necessitando que novas pesquisas sejam realizadas e que técnicas sejam aprimoradas para serem aplicadas na população com êxito. Esses avanços proporcionarão resultados mais confiáveis e precisos para as investigações nas quais a investigação para a realização de identificação humana, a partir de perfis fenotípicos, seja necessária futuramente.

## 7. REFERÊNCIAS

- ADALARDO, A. **Análise de Dados Categóricos**. Disponível em: <[http://labtrop.ib.usp.br/doku.php?id=dicas\\_mat\\_apoio:analises\\_dados:anal\\_cat](http://labtrop.ib.usp.br/doku.php?id=dicas_mat_apoio:analises_dados:anal_cat)>. Acesso em: 16 out. 2023.
- AMBERS, A. et al. Forensic genetic investigation of human skeletal remains recovered from the La Belle shipwreck. **Forensic Science International**, v.306, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.110050>
- BASTOS-RODRIGUES, L.; PIMENTA, J. R.; PENA, S. D. The genetic structure of human populations studied through short insertion-deletion polymorphisms. **Annals of Human Genetics**, v. 70, n. 5, p. 658-665, set. 2006. DOI: 10.1111/j.1469-1809.2006.00287.x. PMID: 16907710.
- BRAGANHOLI, D. F. **Análise de polimorfismos INDELs na identificação humana**. 2016. 142p. Dissertação (Doutorado em Biologia Molecular) – Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, São Paulo, Brasil, 2016.
- BUTLER, J. M. **Fundamentals of Forensic DNA Typing**. 1 ed. Londres: Academic Press, 2009. 520 p. ISBN: 9780123749994.

BUTLER, J. M. **Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology**. 1 ed. Londres: Academic Press, 2011. 708 p. ISBN: 9780123745132.

BROOKES, A. J. The essence of SNPs. **Gene**, v. 234, n. 2, p. 177-186, 1999. DOI: 10.1016/S0378-1119(99)00219-X.

CARDENA, M. M. S. G. et al. "Assessment of the relationship between self-declared ethnicity, mitochondrial haplogroups and genomic ancestry in Brazilian individuals." **PLOS ONE**. v. 8, n.4 e62005. 24 abr. 2013. doi:10.1371/journal.pone.0062005

CHAITANYA L. et al. The HlrisPlex-S system for eye, hair and skin colour prediction from DNA: Introduction and forensic developmental validation. **Forensic Science International: Genetics**, v.35, p.123-135, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.04.004>

CORTE-REAL F., VIEIRA D.N. **Princípios de genética forense**. Imprensa da Universidade de Coimbra, 2015, p.43-80, <http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0957-7>.

CHEUNG, E.Y.Y. et al. Prediction of biogeographical ancestry from genotype: a comparison of classifiers. **Int J Legal Med**, v.131, p.901–912, 2017. <https://doi.org/10.1007/s00414-016-1504-3>

DECANINE, D. O papel de marcadores moleculares na genética forense. **Revista Brasileira de Criminalística**, v.5, n.2, p. 18-27, 2016. <http://dx.doi.org/10.15260/rbc.v5i2.123>

DURÃES, R. O. et al. Role of Genetic Ancestry in 1,002 Brazilian Colorectal Cancer Patients From Barretos Cancer Hospital. **Frontiers in Oncology**, v. 10, 2020. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00145>

**HIRISPLEX-S. HlrisPlex-S Eye, Hair and Skin Colour DNA Phenotyping Webtool**. 2023. Disponível em: <https://hirisplex.erasmusmc.nl/>. Acesso em: 16 out. 2023.

IBGE. **Conheça o Brasil, Cor ou Raça**. Disponível em: <https://educa.ibge.gov.br/jovens/conheca-o-brasil/populacao/18319-cor-ou-raca.html#:~:text=O%20IBGE%20pesquisa%20a%20cor,10%2C6%25%20como%20pretos>. Acesso em: 21 set. 2023.

**INTERPOL DISASTER VICTIM IDENTIFICATION GUIDE, Interpol Working Group on Disaster Victim Identification**, 2018. Disponível em: <https://www.interpol.int/INTERPOL-expertise/Forensics/DVI-Pages/DVI-guide>. Acesso em: 9 nov. 2022.

KAYSER, M., DE KNIJFF, P. Improving human forensics through advances in genetics, genomics and molecular biology. **Nat Rev Genet**. v.12, p.179–192, 2011. <https://doi.org/10.1038/nrg2952>

KAYSER, M. et al. Recent advances in Forensic DNA Phenotyping of appearance, ancestry and age. **Forensic Science International: Genetics**, v. 65, 2023. DOI: 10.1016/j.fsigen.2023.102870.

KRIMSKY, S. 2021. **Ancestry DNA Population Reference Panels**. In: Krimsky, S. Understanding DNA Ancestry. Cambridge University Press, p.50-59. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/9781108895651.007>.

LATHAM, K. E.; MILLER, J. J. DNA recovery and analysis from skeletal material in modern forensic contexts. **Forensic Sciences Research**, v.4, p. 51–59, 2019. <https://doi.org/10.1080/20961790.2018.1515594>

LEITE, T. K. et al. Genomic ancestry, self-reported "color" and quantitative measures of skin pigmentation in Brazilian admixed siblings. **PLoS One**. v.6, 11 ed. 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0027162.

LINS, T. C. et al. Genetic composition of Brazilian population samples based on a set of twenty-eight ancestry informative SNPs. **American Journal of Human Biology**, v.22, 2 ed., p.187-192, 2010. DOI: 10.1002/ajhb.20976.

LINS, T. C. et al. Genetic heterogeneity of self-reported ancestry groups in an admixed Brazilian population. **Journal of Epidemiology**. v.21, 4 ed., p.240-245. 2011 DOI: 10.2188/jea.je20100164.

MANTA S. N. et al. Revisiting the Genetic Ancestry of Brazilians Using Autosomal AIM-Indels. **PLOS ONE**, v. 8, 9 ed., 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075145>

MCDONALD, J. H. 2014. **Handbook of Biological Statistics**. 1 ed. Sparky House Publishing, Baltimore, Maryland.

MCHUGH M.L. The chi-square test of independence. **Biochem Med**, v.23, 2 ed, p.143-149, 2013. doi: 10.11613/bm.2013.018.

MILLS R.E. et al. An initial map of insertion and deletion (INDEL) variation in the human genome. **Genome Res**, v. 16, p. 1182-1190, 2006.

MULLANEY, J. M et al. Small insertions and deletions (INDELS) in human genomes. **Human Molecular Genetics**, v. 19, p. 131-136, 2010.

NIH. **Ancestry-Informative Markers**. Disponível em: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Ancestry-informative-Markers>. Acesso em: 21 set. 2023.

OSÓRIO, R. G. 2003. **O Sistema Classificatório de "Cor ou Raça" do IBGE** (Texto para Discussão No. 996). Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA). 2003. Disponível em: <<https://repositorio.ipea.gov.br/handle/11058/2958>>. Acesso em: 16 out. 2023.

PARABON NANOLABS. **Parabon® Snapshot® Advanced DNA Analysis.** Disponível em: <https://snapshot.parabon-nanolabs.com>. Acesso: 6 out 2023.

PARRA, E., KITTLES, R., SHRIVER, M. Implications of correlations between skin color and genetic ancestry for biomedical research. **Nat Genet**, v.36, 11 ed., p. 54-60. 2004. <https://doi.org/10.1038/ng1440>

PEREIRA, R. et al. A new multiplex for human identification using insertion/deletion polymorphisms. **ELECTROPHORESIS**, v.30, p. 3682-3690, 2009. <https://doi.org/10.1002/elps.200900274>

PEREIRA R. et al. Straightforward Inference of Ancestry and Admixture Proportions through Ancestry-Informative Insertion Deletion Multiplexing. **PLOS ONE**. V.7, 1 ed. 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029684>

PENA S.D.J. et al. The Genomic Ancestry of Individuals from Different Geographical Regions of Brazil Is More Uniform Than Expected. **PLOS ONE**, v.6, 2 ed, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017063>

PÉREZ-MAYORAL, J. et al. Association of genetic ancestry with colorectal tumor location in Puerto Rican Latinos. **Human Genomics**, v. 13(1), p. 12, 2019. <https://doi.org/10.1186/s40246-019-0196-4>

PHILLIPS C., DE LA PUENTE M. The analysis of ancestry with small-scale forensic panels of genetic markers. **Emerg Top Life Sci**, v.24, p. 443–453, 2021 doi: <https://doi.org/10.1042/ETLS20200327>

PNEUMAN A. et al. Verification of eye and skin color predictors in various populations. **Legal Medicine**, v.14, n.2, p. 78-83, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2011.12.005>

RAUF S. et al. Unveiling forensically relevant biogeographic, phenotype and Y-chromosome SNP variation in Pakistani ethnic groups using a customized hybridisation enrichment forensic intelligence panel. **PLoS ONE** v.17, n.2, 2022. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264125>

R CORE TEAM, “R: A language and environment for statistical computing.” 2021. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria.. Disponível em: <https://www.r-project.org/>. Acesso em: 16 out. 2023

RIBEIRO-RODRIGUES, E. M. et al. Assessing interethnic admixture using an X-linked insertion-deletion multiplex. **American Journal of Human Biology**, v. 21, p. 707-709, 2009.

ROMANINI C. et al. Ancestry informative markers: Inference of ancestry in aged bone samples using an autosomal AIM-Indel multiplex. **Forensic Science International: Genetics**, v. 16, p. 58-63, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.11.025>.

SANTOS, N. P. et al. Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48-insertion-deletion (INDEL) ancestry-informative marker (AIM) panel. **Human Mutation**, v. 31, p. 184-190, 2010.

SCHNEIDER P.M., PRAINSACK B., KAYSER M.: The use of forensic DNA phenotyping in predicting appearance and biogeographic ancestry. **Dtsch Arztebl Int**, v. 116, p. 873-880, 2019. DOI: 10.3238/ärztebl.2019.0873

PRITCHARD J. K, Wen W. **Documentation for structure software: Version 2**. 2002. Disponível em:  
<https://web.stanford.edu/group/pritchardlab/software/readme/readme.html>. Acesso em: 16 out. 2023.

WEI, Y.L. et al. A validation study of a multiplex INDEL assay for forensic use in four Chinese populations. **FSInternational: Genetics**, v.9, p. 22-25, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.09.002>.

WEBER J.L. et al. Human diallelic insertion/deletion polymorphisms. **Am J Hum Genet**, v. 71, p.854–862, 2002.

XAVIER C. et al. Development and validation of the VISAGE AmpliSeq basic tool to predict appearance and ancestry from DNA. **Forensic Science International: Genetics**, v. 48, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102336>.

YANG, N. et al. Examination of ancestry and ethnic affiliation using highly informative diallelic DNA markers: application to diverse and admixed populations and implications for clinical epidemiology and forensic medicine. **Human Genetics**, v. 118, p. 382-392, 2005.

YOUNG, J.M. et al. Ancestry and phenotype predictions from touch DNA using massively parallel sequencing. **Int J Legal Med**, v.135, p.81–89, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00414-020-02398-7>

## 8. ANEXOS

### 8.1. Anexo I



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
FACULDADE DE MEDICINA DA  
USP - HCFMUSP



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Predição de fenótipos complexos, como cor de pele, de olhos e de cabelo, a partir de análises genotípicas para fins forenses

**Pesquisador:** Cintia Fridman

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 00973512.7.0000.0068

**Instituição Proponente:** HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

**Patrocinador Principal:** FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO  
HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.463.153

##### Apresentação do Projeto:

Cuida-se de emenda a projeto anteriormente apresentado ao CAPPEQ e aprovado. A pesquisadora, além de dar ciência do seu relatório final de pesquisa, solicita: (i) prorrogação do prazo por mais 3 anos, em razão justamente da ampliação de escopo adiante explicitada; (ii) inclusão de um subprojeto para "ampliar as análises para o restante dos marcadores usados nos sistemas Hirisplex e Hirisplex-S, já validados para predição fenotípica de cor de pele, olho e cabelo na comunidade científica e avaliar também a ancestralidade genômica dos indivíduos, por meio da análise de INDELs (cromossomos autossônicos do tipo inserção-deleção)"; (iii) inclusão da Dra. Nathalia Z. Bessa na equipe de pesquisadores, já que seu trabalho de mestrado se enquadra perfeitamente dentro desse mesmo sub-projeto ora apresentado à apreciação do CAPPEQ.

Desde logo esclareça-se que a inclusão do subprojeto pressupõe: (a) a utilização das mesmas 600 amostras já coletadas, propondo por isso a pesquisadora a dispensa de TCLE; e (b) a inclusão de um pool de 400 novas amostras cedidas pela Prof. Dra. Leonor Gusmão, da UERJ.

##### Objetivo da Pesquisa:

Objetivo da pesquisa agora é, em continuidade ao projeto anterior, avançar na importante questão da fenotipagem forense, aplicando os dados coligidos na última pesquisa, que focaram na relação

Endereço:	Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar				
Bairro:	Cerqueira Cesar				
UF:	SP	Município:	SAO PAULO	CEP:	05.403-010
Telefone:	(11)2661-7585	Fax:	(11)2661-7585	E-mail:	cappesq.adm@hc.fm.usp.br



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
FACULDADE DE MEDICINA DA  
USP - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 1.463.153

fenótipo-genótipo e na análise comparativa das bases genéticas que determinam as cores de cabelo, olho e pele nos indivíduos, aos sistemas Hirisplex e Hirisplex-S, consagrados na Holanda, a fim de estabelecer, com base neles, um padrão de predição das cores de íris e cabelo, auxiliando nas investigações forenses. Além disso, agregar-se-á a essa análise o estudo de ancestralidade genômica autossômica, para determinação da proporção ameríndia, europeia e africana de cada indivíduo, com a ajuda de um software (Structure 2.2).

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Benefício à sociedade e à investigação forense. Projeto de importância jurídica e social. Nenhum risco à saúde daqueles que cederam amostras ao estudo.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa muito interessante e importante para a investigação policial e forense. Sub-projeto intitulado "Fenotipagem Forense do DNA para inferência de características de cor de pele, olhos e cabelo em amostra Brasileira", parece mesmo uma extensão ou complemento da pesquisa original, não se revelando novo estudo completamente novo a justificar a submissão de novo projeto desvinculado do anterior.

#### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Nenhum

#### Recomendações:

#### Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências. Emenda aprovada.

#### Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_673747_E1.pdf	07/03/2016 11:12:46		Aceito
Outros	parecer_Dpto.pdf	07/03/2016 10:56:24	Cintia Fridman	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_LEONOR.pdf	07/03/2016 10:55:55	Cintia Fridman	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Carta_encaminhamento_CAPPesq.pdf	07/03/2016 10:55:36	Cintia Fridman	Aceito
Outros	Relatorio_FINAL.docx	04/03/2016 12:20:45	Cintia Fridman	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
FACULDADE DE MEDICINA DA  
USP - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 1.463.153

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_CAPPESq.docx	04/03/2016 12:16:22	Cintia Friedman	Aceito
Outros	Carta sub-projeto.pdf	21/11/2013 11:34:03		Aceito
Outros	Projeto de Pesquisa_FELÍCIA.pdf	21/11/2013 11:18:42		Aceito
Outros	Projeto_31 01 2012 - FINAL - CAPPESQ.doc	19/03/2012 15:31:58		Aceito
Outros	Protocolo de pesquisa Cintia.pdf	01/03/2012 15:49:09		Aceito
Folha de Rosto	Folha de rosto Cintia.jpg	01/03/2012 15:48:22		Aceito
Outros	Parecer Depto.jpg	01/03/2012 15:48:02		Aceito
Outros	Questionário.docx	14/02/2012 14:38:12		Aceito
Outros	PROJETO FINAL - CAPPESQ.doc	14/02/2012 14:37:36		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Final.doc	14/02/2012 14:36:12		Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO PAULO, 23 de Março de 2016

---

Assinado por:  
**ALFREDO JOSE MANSUR**  
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar	CEP: 05.403-010
Bairro: Cerqueira Cesar	
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585	Fax: (11)2661-7585
	E-mail: cappesq.adm@hc.fmn.usp.br

## 8.2. Anexo II

**Predição de fenótipos complexos, como cor de pele, de olhos e de cabelo, a partir de análises genotípicas.**

ID: \_\_\_\_\_

Data da Entrevista: \_\_\_\_\_

### IDENTIFICAÇÃO

Nome: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Telefone : \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

### DADOS DEMOGRÁFICOS

1. Sexo: (1) Feminino (2) Masculino
2. Idade (em anos completos): \_\_\_\_\_

3. Data de Nascimento: \_\_\_\_\_

—

4. Local de Nascimento (Cidade/Estado): \_\_\_\_\_

5. Local de Nascimento dos seus Pais:

Mãe (Cidade/Estado/País): \_\_\_\_\_

Pai (Cidade/Estado/País): \_\_\_\_\_

6. Local de Nascimento dos seus Avós Maternos:

Avô (Cidade/Estado/País): \_\_\_\_\_

Avô (Cidade/Estado/País): \_\_\_\_\_

7. Local de Nascimento dos seus Avós Paternos:

Avô (Cidade/Estado/País):

---

Avô (Cidade/Estado/País):

---

8. Escolaridade: (1) Nenhuma

(2) Ensino Fundamental 1 (Primário)    ( ) Completo    ( ) Incompleto

(3) Ensino Fundamental 2 (Ginásio)    ( ) Completo    ( ) Incompleto

(4) Ensino Médio (Colegial)                ( ) Completo    ( )

Incompleto

(5) Ensino Superior                              ( ) Completo    ( )

Incompleto

(6) Pós-Graduação

9. Profissão:

---

10. Renda: ( ) até R\$ 610,00

( ) de R\$ 610,00 a R\$ 1.830,00

( ) de R\$ 1.830,00 a R\$ 3.050,00    ( ) acima

R\$ 3.050,00

#### HÁBITOS DE VIDA

11. O Sr.(a) fuma? ( ) Sim    ( ) Não

Quanto (cigarros/dia)?

---

Há quanto tempo (anos)?

---

12. O Sr.(a) ingere bebida alcoólica? ( ) Sim    ( ) Não

Quanto?

---

Com que frequência?

---

13. O Sr.(a) tem algum tipo de doença crônica? ( ) Sim ( ) Não  
Qual?

---

14. Toma algum medicamento de uso contínuo ( ) Sim ( ) Não  
Qual?

---

#### CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS

15. Como o Sr.(a) definiria sua cor de pele? ( ) Branco ( ) Pardo ( ) Negro ( ) Amarelo

16. Medição da cor de pele pelo espectrofotômetro :

17. Em relação à sensibilidade da sua pele quando exposta ao sol, sem proteção, durante 1 dia, o Sr.(a) poderia me dizer que:

- (1) Sempre queima, nunca bronzeia
- (2) Sempre queima e depois bronzeia levemente e com dificuldade
- (3) Queima moderadamente e bronzeia gradual e uniformemente
- (4) Queima pouco, bronzeia bastante
- (5) Raramente queima, bronzeia intensamente
- (6) Nunca queima, bronzeia intensamente

18. O Sr.(a) está utilizando diariamente algum tipo de:

-Protetor solar? ( ) Sim ( ) Não  
Qual?

---

Fator de Proteção:

---

- Bronzeador? ( ) Sim ( ) Não  
Qual?

---

19. Quando o Sr.(a) era criança (dos 5 aos 15 anos) apresentava sardas no seu rosto? ( )

Sim ( ) Não

Se SIM, o Sr.(a) poderia dizer que tinha sardas:

- (1) Grande quantidade, que era notada pela maioria das pessoas que conhecia
- (2) Em quantidade moderada, não muito diferente das outras pessoas
- (3) Em pouquíssima quantidade

20. Como o Sr.(a) definiria sua cor de olho de acordo com a grade anexa?

---

21. Como o Sr.(a) definiria a cor natural do seu cabelo aos 15 anos?

- (1) Loiro claro
- (2) Loiro escuro
- (3) Ruivo
- (4) Castanho avermelhado
- (5) Castanho claro
- (6) Castanho médio
- (7) Castanho escuro
- (8) Preto

22. Como o Sr.(a) definiria a cor natural do seu cabelo aos 15 anos de acordo com a grade anexa?

---

### 8.3. Anexo III



Documento assinado digitalmente  
BETTINA STINGELIN FORLENZA  
Data: 06/12/2023 18:02:06-0300  
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>



Documento assinado digitalmente  
CINTIA FRIDMAN RAVE  
Data: 07/12/2023 14:16:10-0300  
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

---

Data e assinatura do aluno

Data e assinatura do orientador