

DNA MITOCONDRIAL

1. O DNA mitocondrial (mtDNA)

O DNA mitocondrial (mtDNA) é um marcador genético de interesse nos estudos forenses, especialmente pelo fato de uma única célula possuir mais de 5.000 cópias de mtDNA, associado à resistência do mtDNA com estrutura circular, à digestão enzimática. Sendo assim, a análise desse tipo de DNA é excepcional no estudo de tecidos antigos e até arqueológicos, como ossos, dentes e cabelos.

A maioria do DNA humano encontra-se no núcleo das células, mais especificamente nos cromossomos. O mtDNA é de origem extranuclear, e seu genoma circular é encontrado dentro das mitocôndrias (fornecedoras de energia) que estão localizadas no citoplasma das células (Fig. 1 e 2). Devido à sua localização está presente em grande quantidade nas células (bem mais do que o DNA do núcleo celular, fonte dos STRs).

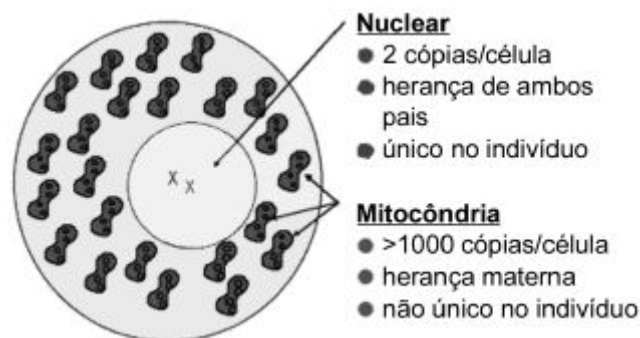


Figura 1 – Célula com mitocôndrias.

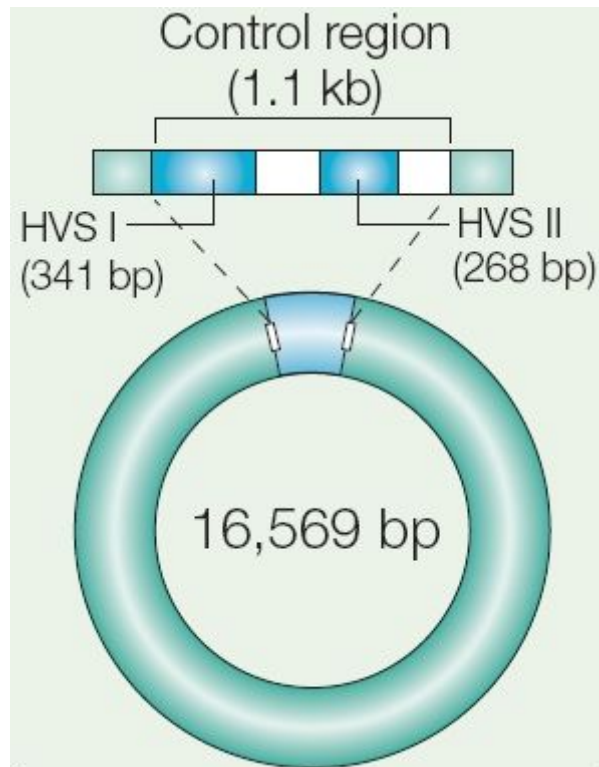


Figura 2 – DNA mitocondrial em forma circular.

Esse DNA foi completamente seqüenciado, e a região que possui variações de seqüência é chamada de região controle. Uma das características de interesse é o seu caráter monoclonal, sendo que praticamente todo o mtDNA de um indivíduo apresenta a mesma seqüência. Entretanto, uma condição chamada de heteroplasmia pode existir, quando uma mesma pessoa apresentar mais de um tipo de mtDNA. Dessa maneira, a análise de fios de cabelo pode demonstrar resultados diferentes ou ambíguos.

O mtDNA é um padrão de herança materna, ou seja, a seqüência é idêntica para todos os familiares por parte de mãe (herança matrilinear), sendo assim temos identidade com nossos irmãos e parentes próximos pela linhagem materna.

A metodologia utilizada na análise do DNA mitocondrial é a amplificação do DNA mitocondrial (região controle) pela PCR, seguida de seqüenciamento automático (Fig. 3) das regiões HV1 e HV2 que são as regiões que variam de uma pessoa para outra, permitindo a identificação do indivíduo.

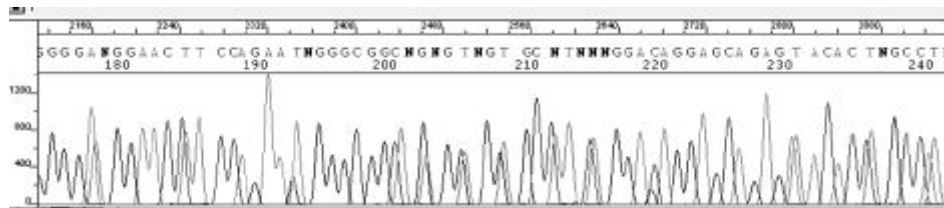


Figura 3 – Seqüenciamento do DNA mitocondrial permite conhecer o genótipo do indivíduo pela leitura de cada base do DNA nas regiões HV1 e HV2.

O interesse de análise do mtDNA está na identificação de pessoas, quando o sangue de parentes pode ajudar na pesquisa laboratorial, como nos casos de identificação de pessoas desaparecidas por comparação com parentes.

É utilizado para identificação humana em casos forenses quando o material biológico encontra-se degradado (incêndios, desastres aéreos), não apresenta ou há pequena quantidade de DNA nuclear (fragmentos de cabelo sem bulbo), é muito antigo ou está em avançado grau de decomposição. Já a investigação de paternidade não é auxiliada por essa metodologia.

A análise do mtDNA tem ajudado a solucionar diversos casos na genética forense, sendo utilizada com sucesso por laboratórios dos EUA e Europa. Além disso permitiu o esclarecimento de casos considerados de impossível solução.

2. Família Romanov

A identificação dos restos mortais do Tsar Nicolau II (Fig.4) e de toda a família Romanov foi feita por intermédio dos testes de mtDNA. A história da identificação da Família Romanov é descrita a seguir.



Fig.4 - Tzar Nicolau II.

Um confronto entre Tzars e Bolcheviques em julho de 1918 finaliza a história de onze herdeiros do trono dos Romanov. Os corpos do Tzar Nicolau II, da Tzarina Alexandra; de seus filhos Alexis, Olga, Tatiana, Marie e Anastácia e de quatro acompanhantes, foram jogados no fosso de uma mina e somente foram encontrados em 1979 graças ao trabalho investigativo de Alexander Avdonin (geólogo) e Geli Riabov (cineasta), dois obcecados em desvendar a verdadeira história dos Romanov.

Os restos exumados (Fig.5) - um total de mais de mil pedaços de crânios e ossos - foram encaminhados a um necrotério em Moscou, onde teve início o lento e demorado processo de montagem e identificação dos esqueletos. na montagem, uma surpresa, faltavam os corpos de Alexis e Anastácia.



Fig.5 - Restos mortais dos Romanov.

Em 1992 nove amostras de ossos foram levados ao laboratório de Peter Gill, do Serviço de Ciência Forense da Grã-Bretanha, o primeiro laboratório do reino Unido especializado em identificação genômica. No laboratório, Peter Gill iniciou o delicado trabalho de extrair DNA nuclear e DNAm das amostras de ossos. A amostra mostrou que cinco corpos eram aparentados e que três deles pertenciam a três irmãs. Mas seriam ossos dos Romanov? No caso da Tzarina Alexandra foi possível encontrar uma resposta comparando o mtDNA de seus ossos com os de seu sobrinho-neto, o príncipe Philip. As impressões eram idênticas.

Difícil foi encontrar um parente do Tzar Nicolau II. Peter Gill tentou fazer testes com um lenço, mas por haver tanta contaminação com DNA estranho, não obteve sucesso. Apenas quando dois parentes distantes puderam enfim ser localizados é que se confirmou que o mtDNA era realmente do Tzar.

E quanto à Anastácia? Pretendentes não faltaram à linhagem Romanov, inclusive Anne Anderson, que durante a vida inteira sempre insistiu ser a grã-duquesa desaparecida. Anne Anderson tornou-se assunto de muitos livros e também do filme Anastácia (Fig.6). Quando morreu em 1984, sua identidade ainda era contestada. Enquanto os argumentos de seus partidários e críticos se prolongavam, surgia, enfim, o meio de resolver a questão.



Fig.6 - Filme Anastásia.

Anne Manaham (seu nome de casada) foi cremada, tornando impossível recuperar qualquer tecido de seus restos. Mas descobriu-se uma fonte alternativa do seu DNA: em agosto de 1970, ela sofrera uma cirurgia abdominal no Hospital Martha Jefferson, em Charlottesville. O tecido removido durante a operação havia sido enviado a um laboratório de patologia, onde foi preparado para microscopia e onde, 24 anos depois, ainda permanecia intacto e arquivado. Peter Gill viajou para Charlottesville em 1994, de onde partiu com a valiosa amostra de Anna Manaham.

Os resultados foram claríssimos, Anne Anderson não era aparentada da família Romanov. Mesmo após a revelação, alguns críticos preferiram acreditar no conto de fadas de Anne Anderson, e o mito da sobrevivente Anastácia permanece.

3. Identificação dos soldados da Segunda Guerra Mundial

Exames forenses antropológicos e análise de DNA foram utilizados para resolver os casos de soldados mortos na Segunda Guerra Mundial e ainda não identificados.

Os exames antropológicos realizados nos restos humanos encontrados nas buscas do campo foram usados para estabelecer o número mínimo dos indivíduos e a descrição das doenças, do tratamento, das anomalias, ou dos ferimentos dos esqueletos. Os testes de DNA foram executados extraíndo o DNA dos ossos pulverizados e das amostras de sangue dos parentes. As comparações da seqüência do DNA, junto com a evidência circunstancial, foram usadas para conectar os membros da família. Até o presente, os esqueletos remanescentes de aproximadamente mil soldados foram encontrados e repatriados.

Nos exames antropológicos forenses, diversos ferimentos relacionados à morte foram documentados. Das 181 amostras de ossos, as seqüências HVR-1 e HVR-2 do mtDNA foram obtidos com sucesso para 167 (92.3%) e 148 (81.8%) das amostras, respectivamente. Isso sugere que o mtDNA fica preservado por muitos anos.



Fig. 7 – Imagens da II Guerra Mundial

4. DNA de pataxós comprova origem indígena

Os índios podem usar roupas iguais às de outros brasileiros pobres e não falar mais a língua de seus ancestrais, mas os genes dos índios pataxós (Fig. 8) ainda são, em sua maioria, o de um povo que habitou a América milhares de anos antes de Cabral. Essa é a principal conclusão de um estudo feito por geneticistas paulistas e baianos: a tribo pataxó, que ainda habita a região do Nordeste onde ocorreram os primeiros contatos entre europeus e índios brasileiros, continua a ter DNA majoritariamente indígena.



Fig 8 – Índios pataxós

A pesquisa analisou indivíduos da etnia pataxó, distribuídos em seis aldeias da região sul baiana, perto de Porto Seguro. Os pesquisadores estudaram tanto a transmissão de genes pelo lado materno quanto pelo lado paterno dessa população, comparando-a com outros índios brasileiros e com pessoas de origem europeia e africana. Além de alguns elementos específicos espalhados pelas partes mais comuns do genoma, eles também usaram o DNA mitocondrial.

Os resultados revelam um perfil genético não muito diferente de outras tribos do Brasil que estão em contato com os europeus há muito tempo. Em cinco das seis aldeias, cerca de 80% dos pataxós têm DNA tipicamente indígena.

Traçar o perfil genético dos pataxós não é só uma questão de curiosidade científica, mas algumas pessoas chegaram a considerar que os membros da tribo não seriam mais indígenas, por causa dos traços de mistura cultural com a sociedade brasileira.

O trabalho também pode ajudar a apontar uma origem para os pataxós dentro do território brasileiro: seus parentes mais próximos parecem ser tribos do Brasil Central, como os craôs e os caiapós.